

# Prävention und Bekämpfung von *Campylobacter* Infektionen: Ein “One Health Ansatz”

Aktuelle Ergebnisse des PAC-Campylobacter-Verbundes im Forschungsnetz Zoonosen

Koordination

Thomas Alter/ Stefan Bereswill



ONE HEALTH APPROACH  
**CAMPYLOBACTER**  
Preventing and Combating Infections



Federal Ministry  
of Education  
and Research

Gastrointestinale Mikrobiologie  
Institut für Mikrobiologie und  
Infektionsimmunologie



Bundesinstitut für Risikobewertung

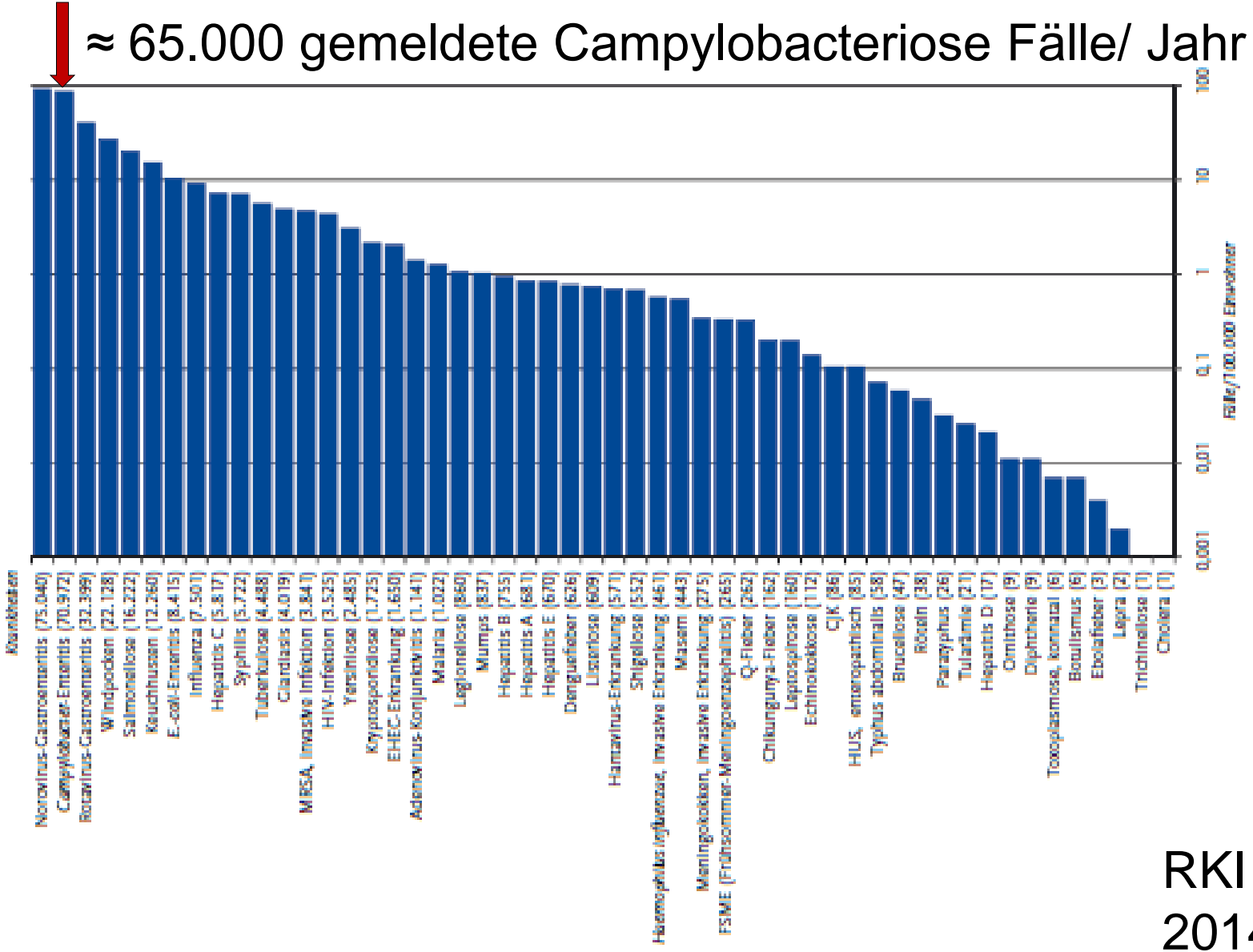
Kerstin Stingl



Tiermodelle für die präklinische  
Analyse von medizinischen  
Interventionen im Gastrointestinaltrakt

# Campylobacteriose - Häufigste meldepflichtige bakterielle Infektion in Industrienationen weltweit

Abb. 4.1.1: Incidenz (logarithmisch) und Anzahl der Fälle aller meldepflichtigen Krankheiten mit mindestens einem Fall, Deutschland, 2014



# Der Forschungsverbund PAC-Campylobacter

## Preventing and combating *Campylobacter* infections

---



ONE HEALTH APPROACH  
**CAMPYLOBACTER**  
Preventing and Combating Infections

Ziele liegen in vier  
Schwerpunktbereichen der  
Campylobacter-Forschung

Entwicklung und Umsetzung von **Interventionsstrategien in der Geflügelhaltung** und entlang der Lebensmittelkette.

**Neue therapeutische Ansätze** zur Vermeidung, Bekämpfung oder Verminderung der Campylobacteriose beim Menschen.

Verbesserung der molekularen **Charakterisierungsmethoden**.

Untersuchung von Mechanismen, die *Campylobacter*-Bakterien das **Überleben außerhalb des Wirtes** ermöglichen und die Übertragung verstärken.

# Der Forschungsverbund PAC-Campylobacter Preventing And Combating Campylobacter infections

## Interventionen Lebensmittelkette



### Z. Toolbox

- In vivo platform**
  - Z1. Chicken model (Rösler-FUB-IAE)
  - Z2. Murine model (Heimesaat / Bereswill-CUB-IMH)
- Technical platform**
  - Z3. NGS/Bioinformatics (Semmler-RKI)
  - Z4. In vitro assays (Bücker-CUB-ICP / Backert-FAU)

### F. Coordination

- IP2. Coordinator (FUB-IFS/CUB-IMH)
- IP10A. Statistics (FUB-IVEB)
- IP1-IP10.

### E. Training / promotion of young scientists

- IP1-IP10.

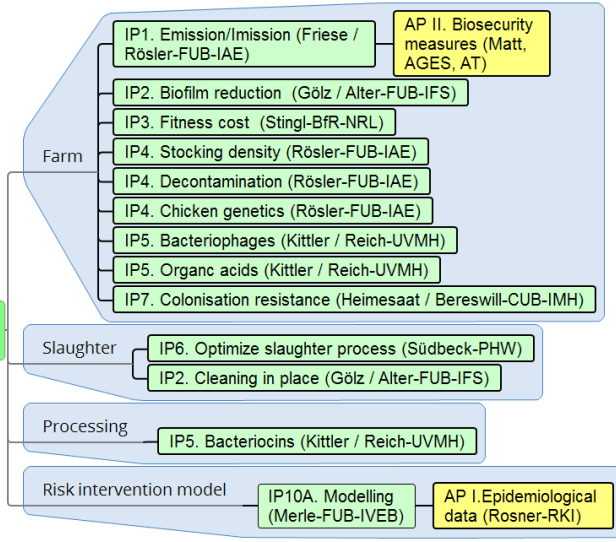
### D. Survival outside host

- IP1. Emission and survival in environment (Friese / Rösler-FUB-IAE)
- AP X. Biofilm characterisation (Lu-UBC, CDN)
- IP2. Biofilm characteristics (Gözl / Alter-FUB-IFS)
- IP3. Genetic variability (Stingl-BfR-NRL)

### C. Diagnostics

- AP XII. Quantification assays (Messelhäuser / Huber-LGL)
- AP VII. Molecular diagnostics (Pietsch-CVUA, Freiburg)
- AP IV-VI. Human isolates (MVZ Labor Limbach Berlin, Labor 28, Synlab Berlin-Brandenburg)
- AP VIII. Phage characteristics (Hertwig-BfR)
- IP5. Phage sensitivity assays (Kittler / Reich-UVMH)
- IP2, IP3, IP10B. Strain set (BfR, RKI, FUB)
- IP10B. Host markers (Semmler-RKI)

### A. Intervention strategies



### B. Therapeutic approaches

- IP7. Colonisation resistance (Heimesaat / Bereswill-CUB-IMH)
- AP XI. Microbiota (Hold-Uni Aberdeen, UK)
- IP8. Strengthen intestinal barrier (Bücker / Schulzke-CUB-ICP)
- IP9. Secreted virulence factors (Backert-FAU)



Colour legend

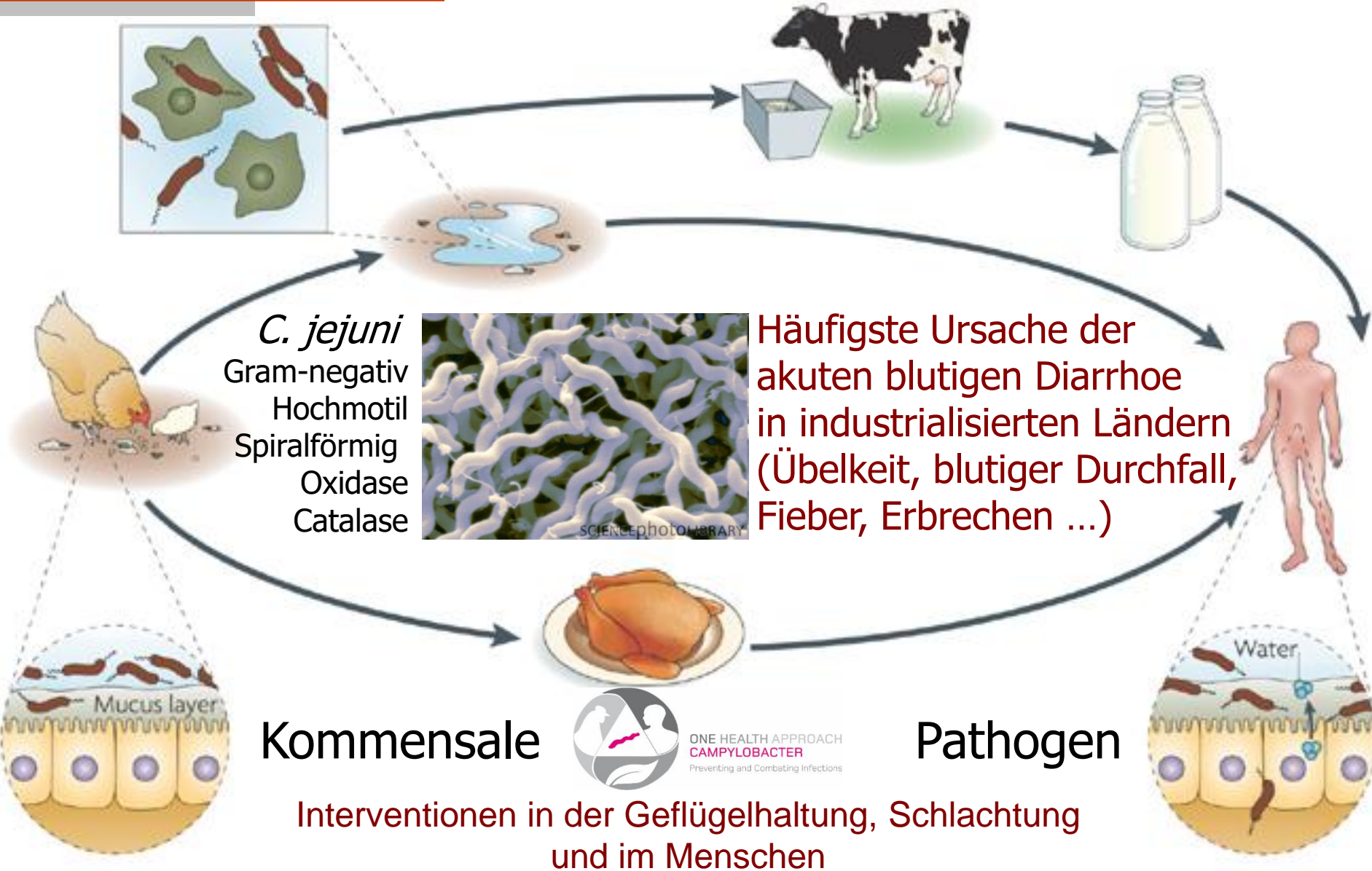
- Research complex
- Tasks of IPs
- Associated partners

Diagnostik  
Epidemiologie

Therapie beim  
Menschen



# *Campylobacter jejuni* – Übertragungswege von Nutztieren (meist Geflügel) zum Menschen



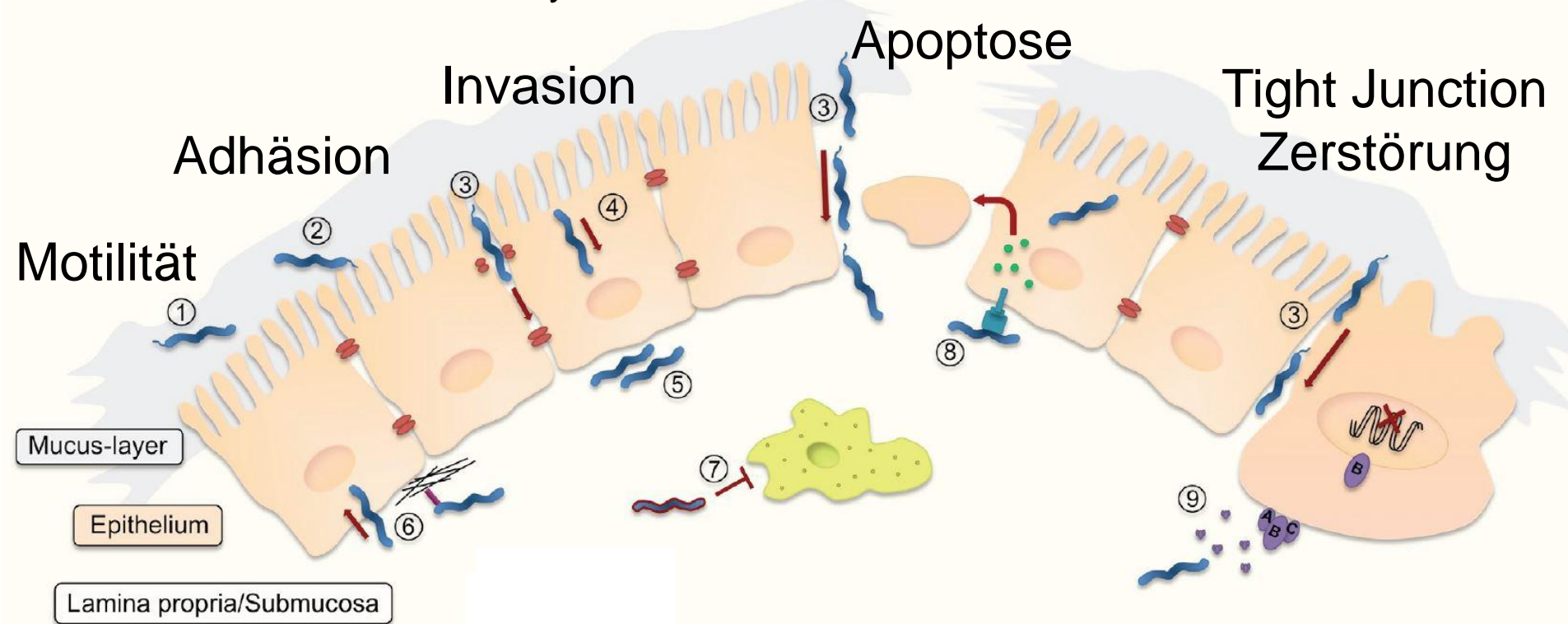
Kathryn T. Young, Lindsay M. Davis & Victor J. DiRita, 2007

Nature Reviews Microbiology 5, 665-679

# Campylobacteriose – Zerstörung der Barriere im Darm

## “Leaky Gut Syndrome“

Motilität führt zu Adhäsion und Invasion. In der Submucosa/ Lamina propria bewirkt das Lipo-Oligosaccharid auf der Oberfläche der Bakterien eine massive Akkumulation von Granulozyten, die die Darmbarriere zerstören.



Die Aktivierung des angeborenen Immunsystems durch Campylobacter LOS induziert eine massive Entzündung mit Apoptose und Gewebszerstörung!

## “Leaky Gut Syndrome“

Zerstörung und Dysfunktion  
der Epithelbarriere

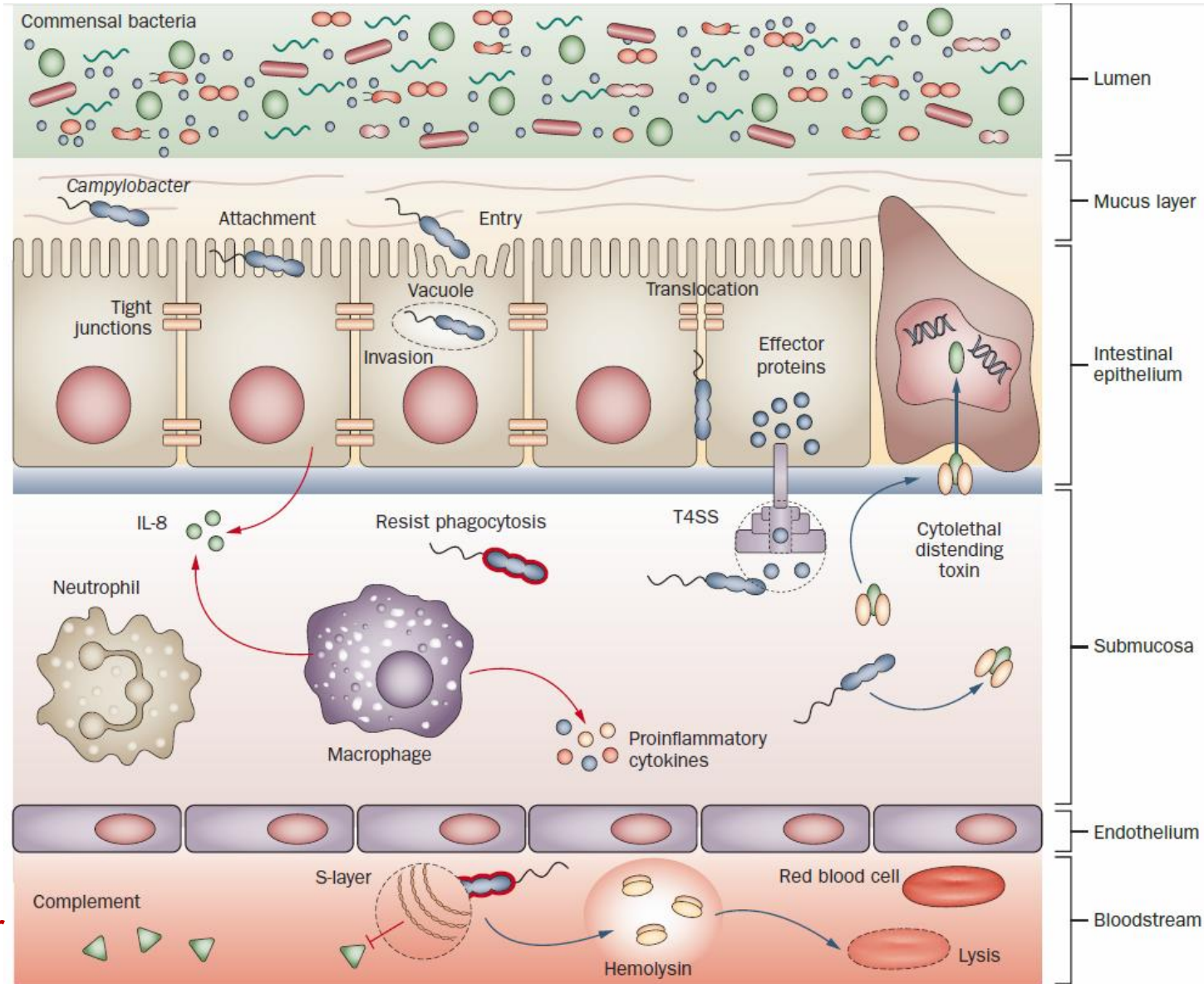
Akute Entzündung  
ausgelöst durch das LOS



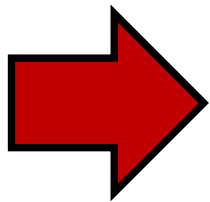
### Schwere Komplikationen

Chronisch-Entzündliche Darmerkrankungen (CD/ UC), Reaktive Arthritis, Reiter Syndrom, Miller-Fischer Syndrom, Guillain-Barré-Syndrom ... u. a. .

# Campylobacteriosis – Die angeborene Immunantwort bestimmt die Pathogenese



Zellen des angeborenen Immunsystems!



Schlüssel zur Pathogenese und Symptomatik der *Campylobacter* Infektion!



# *C. jejuni* LOS ist ein Mediator der Campylobacteriose im Menschen – Ergebnisse aus klinischen Studien

---

## **Teilprojekt 8: Intestinale Barriere-Protektion bei *Campylobacter*-Infektion**

Priv.-Doz. Dr. Roland Bücker, Prof. Dr. Jörg-Dieter Schulzke

Charité – Universitätsmedizin Berlin, Medizinische Klinik- Gastroenterologie,  
Infektiologie und Rheumatologie, Bereich Ernährungsmedizin / Institut für  
Klinische Physiologie

**Roland Bücker**

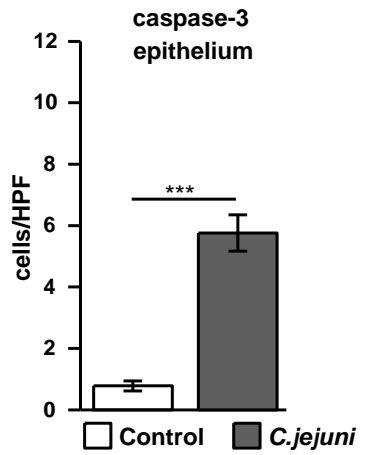
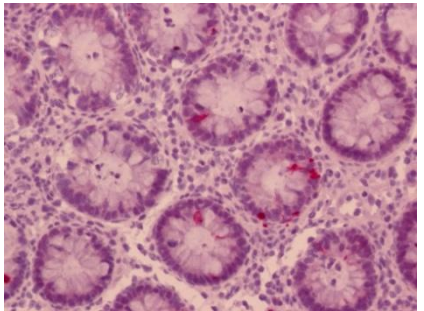
Institut für Klinische Physiologie



# C. jejuni LOS ist ein Mediator der Campylobacteriose im Menschen – Ergebnisse aus klinischen Studien

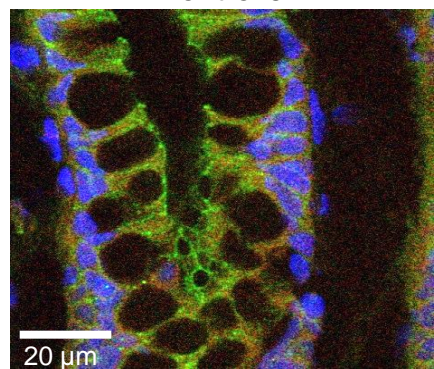
Biopsien aus Colonoskopien von *C. jejuni*-infizierten Patienten Tage 4-7 n. I. (n=4-6)

*C. jejuni*-infiziertes Colon

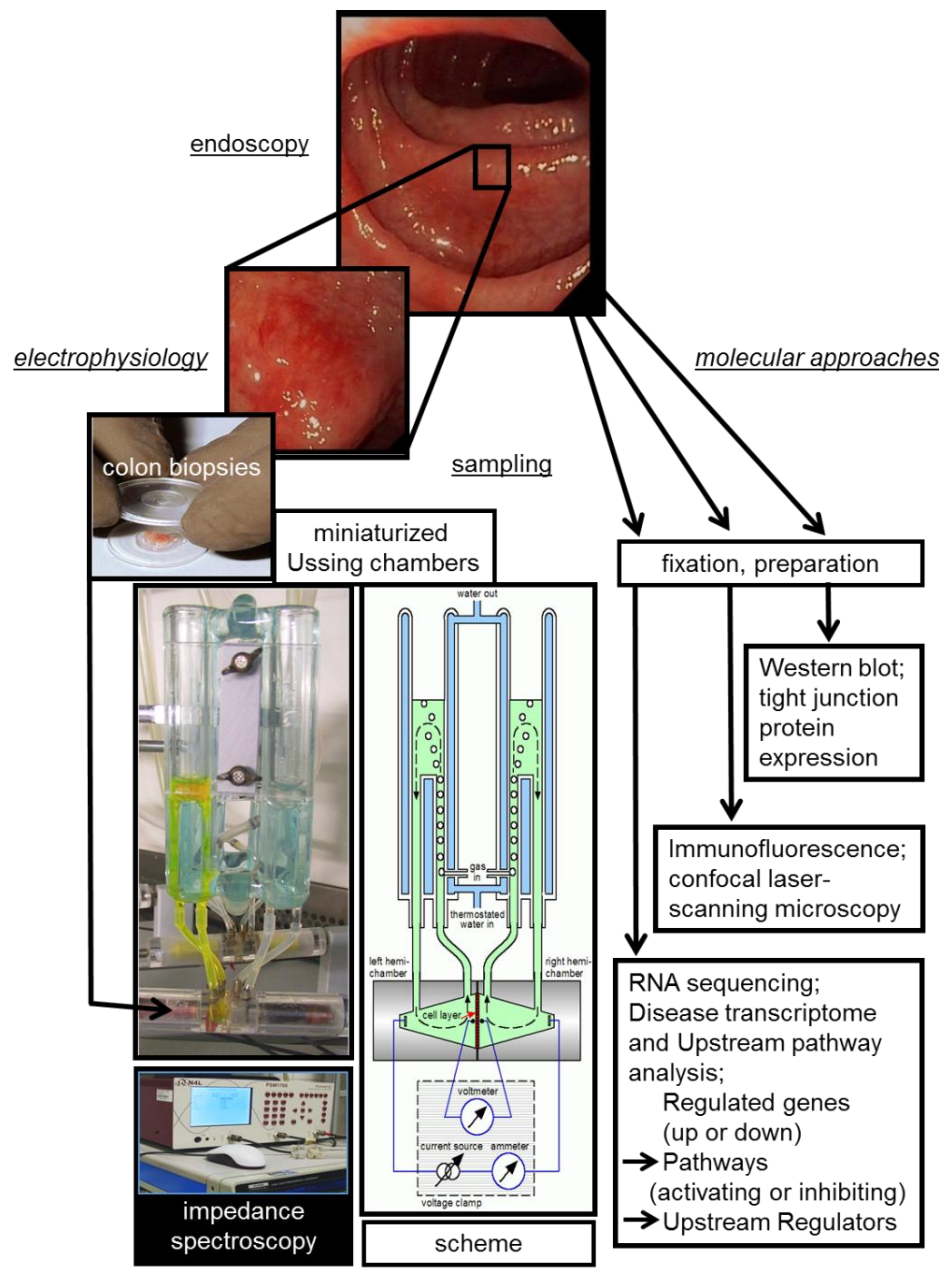
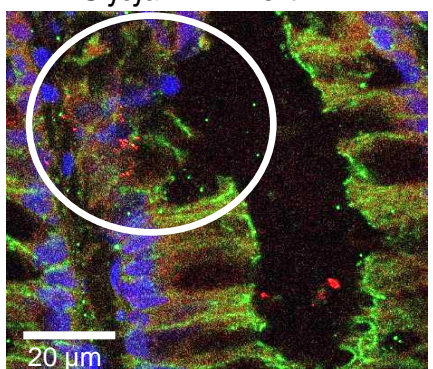


*C. jejuni*-Transmigration in der CLS-Mikroskopie

Kontrolle



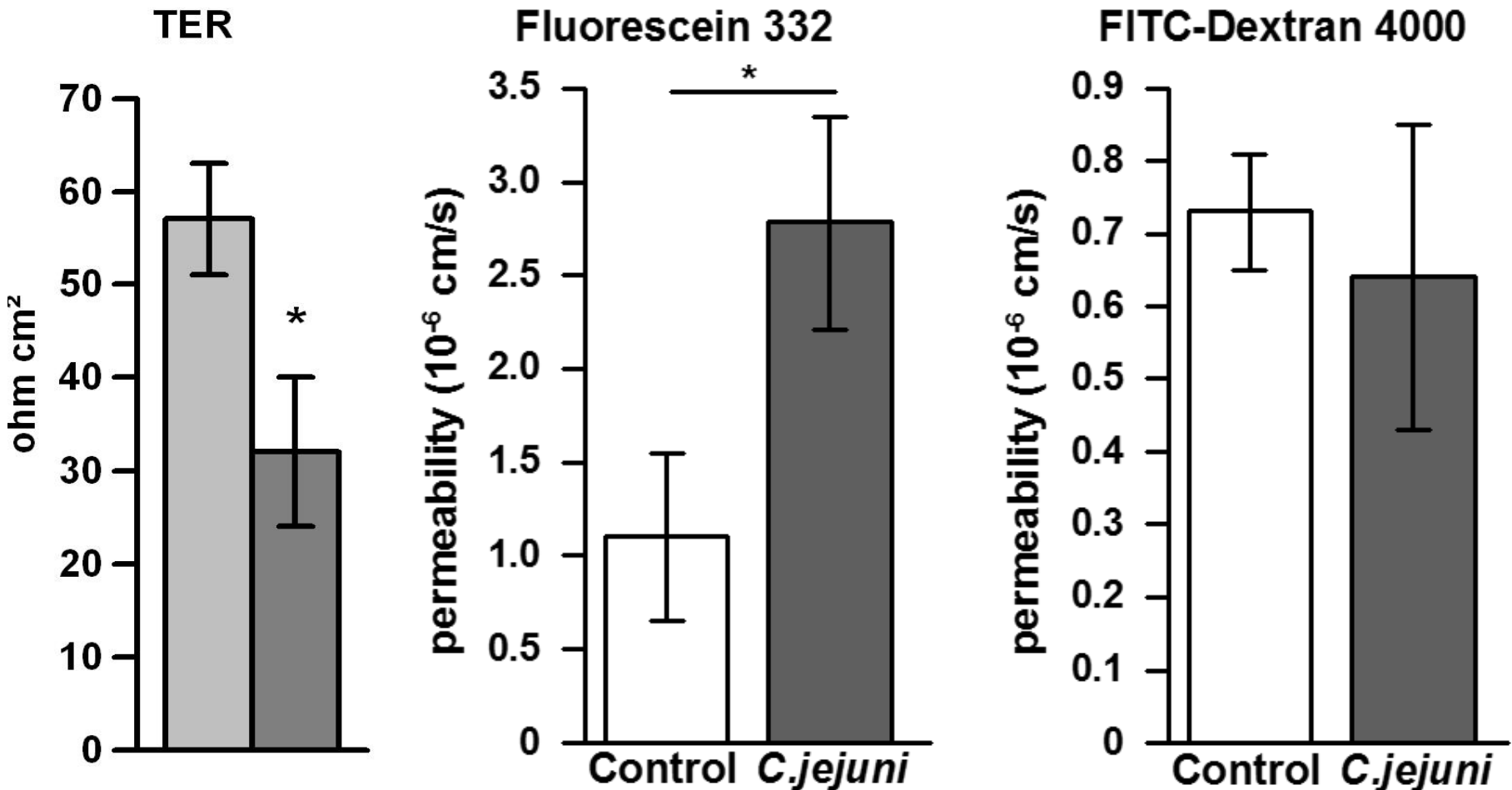
*C. jejuni*-infiziert



# *C. jejuni* LOS ist ein Mediator der Campylobacteriose im Menschen – Ergebnisse aus klinischen Studien

## Leaky Gut Disease

CTRL  
*C. jejuni*-infected

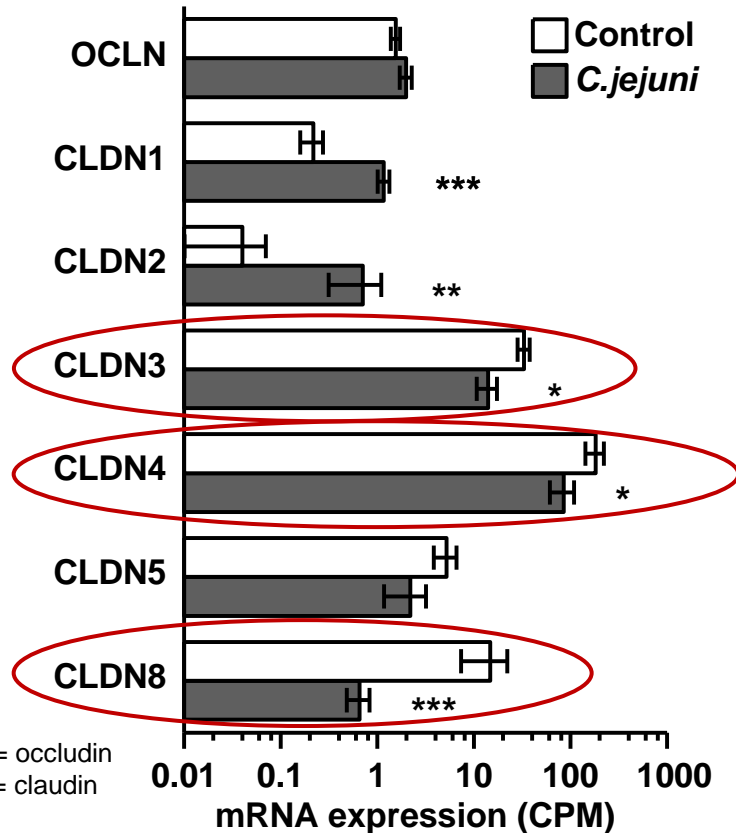


TER = Transepithelial Resistance

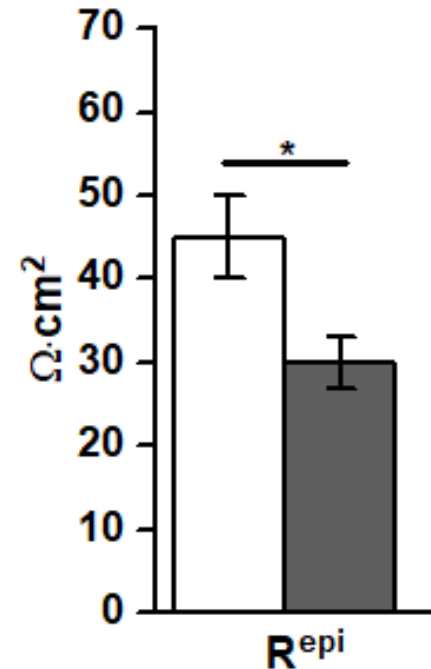
Fluorescein (332 Da)/ Dextran (4 kDa)

# *C. jejuni* LOS ist ein Mediator der Campylobacteriose im Menschen – Ergebnisse aus klinischen Studien

RNA-Seq data



Epithelial resistance



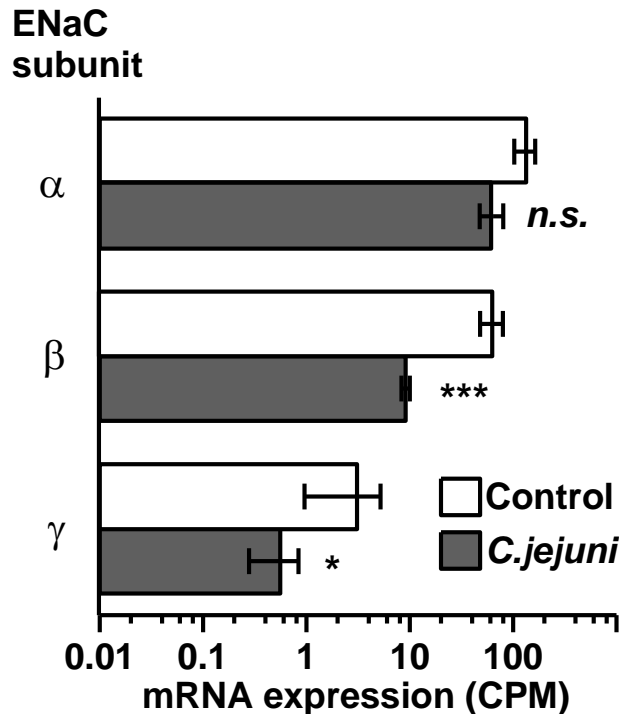
Ussing chamber (impedance spectroscopy)

**Epithelbarriere - Dysfunktion**

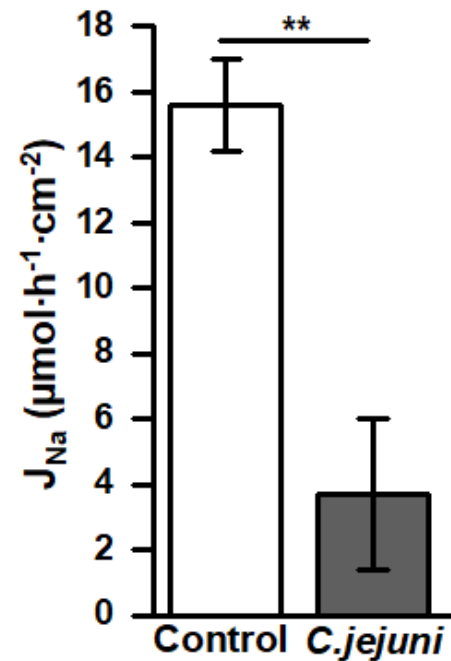
# Natrium Malabsorption in Patienten während der Campylobacteriose

Colon Biopsien von *C. jejuni* infizierten Patienten im Vergleich zu Kontrollen (n = 4-6)

## Sodium channel (Enac) expression



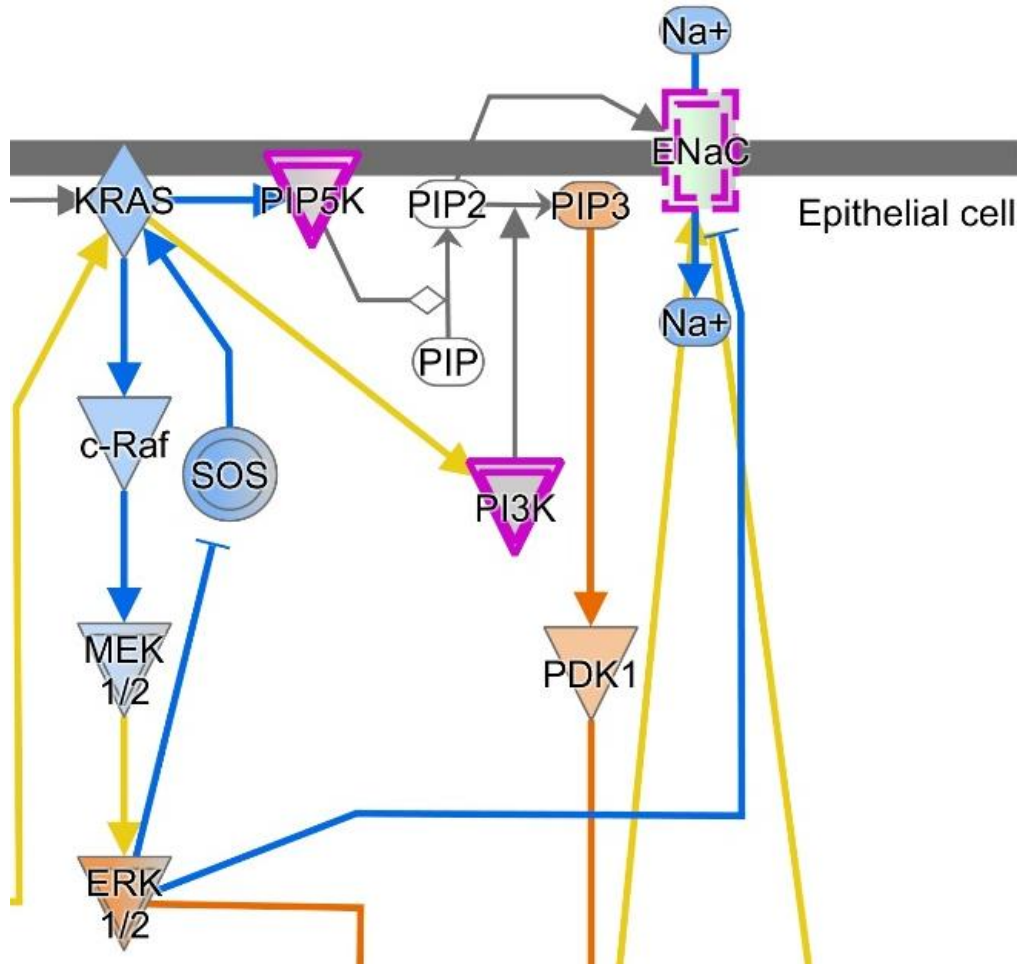
## Sodium channel (Enac) activity



Ussing chamber (electrogenic  $\text{Na}^+$  transport)

**Natrium - Malabsorption**

# Natrium Malabsorption in Patienten während der Campylobacteriose

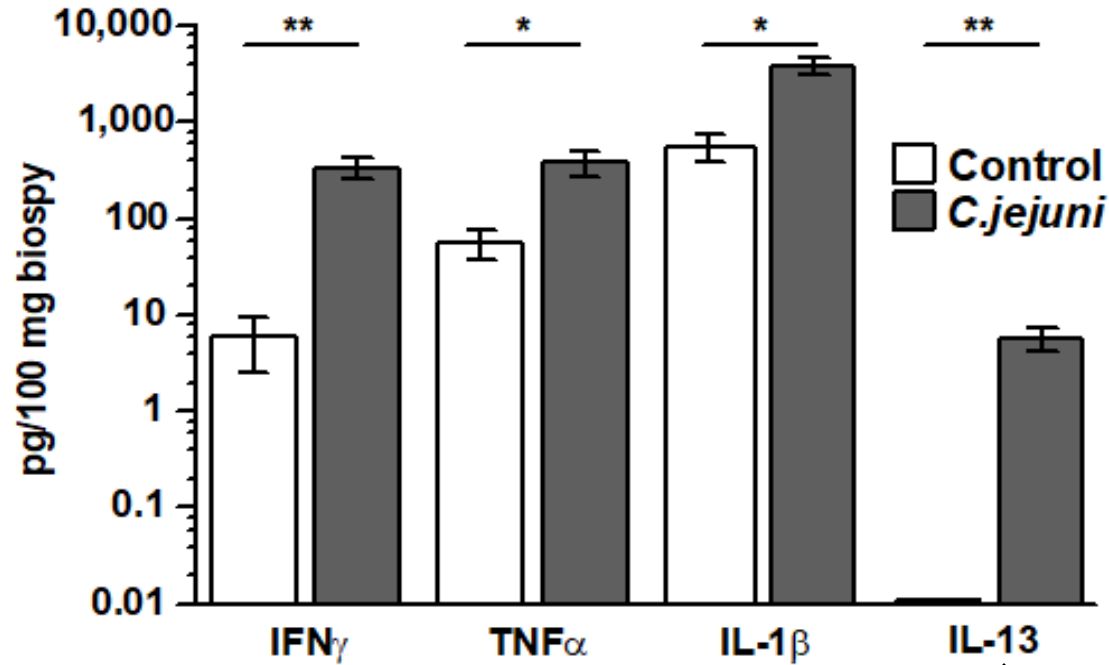


**Der ENaC Natriumkanal wird durch die *C. jejuni* Infektion über IL13 gehemmt!**

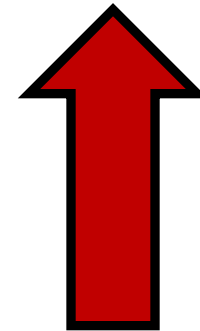
Barmeyer *et al.* (2016) ENaC dysregulation through activation of MEK1/2 contributes to impaired Na<sup>+</sup> absorption in lymphocytic colitis. *Inflamm. Bowel Dis.*

Dames *et al.* (2015) Interleukin-13 affects the intestinal epithelial sodium channel (ENaC) by coordinated modulation of STAT6 and p38 MAPK activity. *J. Physiol. (Lond.)*

## Cytokinfreisetzung in Biopsatüberständen von Patienten mit Campylobacteriose (CBA-Messung)

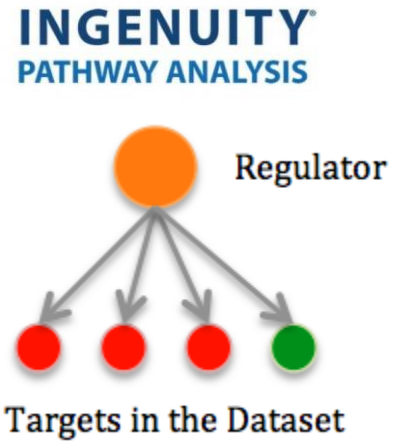


Induktion der IL13 Produktion  
in Patienten mit  
Campylobacteriose



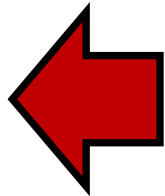
# C. jejuni LOS als Hauptregulator der Campylobacteriose – Ergebnisse von Signaltransduktions-Analysen

Entzündungsaktivierende Signalwege und Moleküle bei C. jejuni Infektion im Menschen



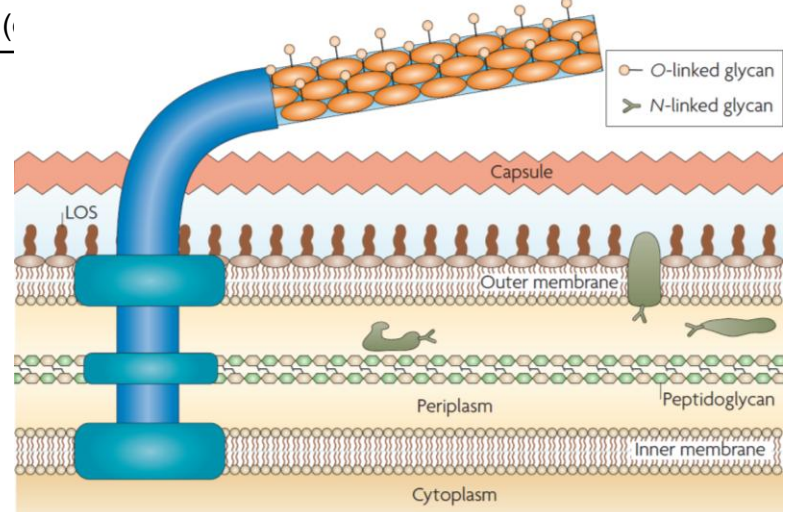
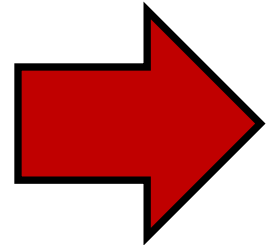
Upstream regulator	Overlap P-value	Activation z-score	Number of genes that have expression direction consistent with activation of the regulator
LPS	3.22E-66	11.94	343 (of 501 affected downstream targets)
IFN $\gamma$	3.95E-44	9.62	253 (of 370 affected downstream targets)
CSF2	2.58E-42	10.15	144 (of 182 affected downstream targets)
TNF $\alpha$	3.23E-41	9.00	279 (of 462 affected downstream targets)
IL6	1.18E-38	7.25	134 (of 236 affected downstream targets)
IL13	1.39E-12	2.12	87 (of 45 affected downstream targets)
IL1 $\beta$	1.54E-24	8.57	165 (of 212 affected downstream targets)

The activation z-score determines that an upstream transcription regulator has significantly more "activated" predictions (z>0) than "inhibited" predictions (z<0).



**C. jejuni**  
**LOS!**

**C. jejuni LOS – Hauptregulator der Campylobacteriose im Menschen**





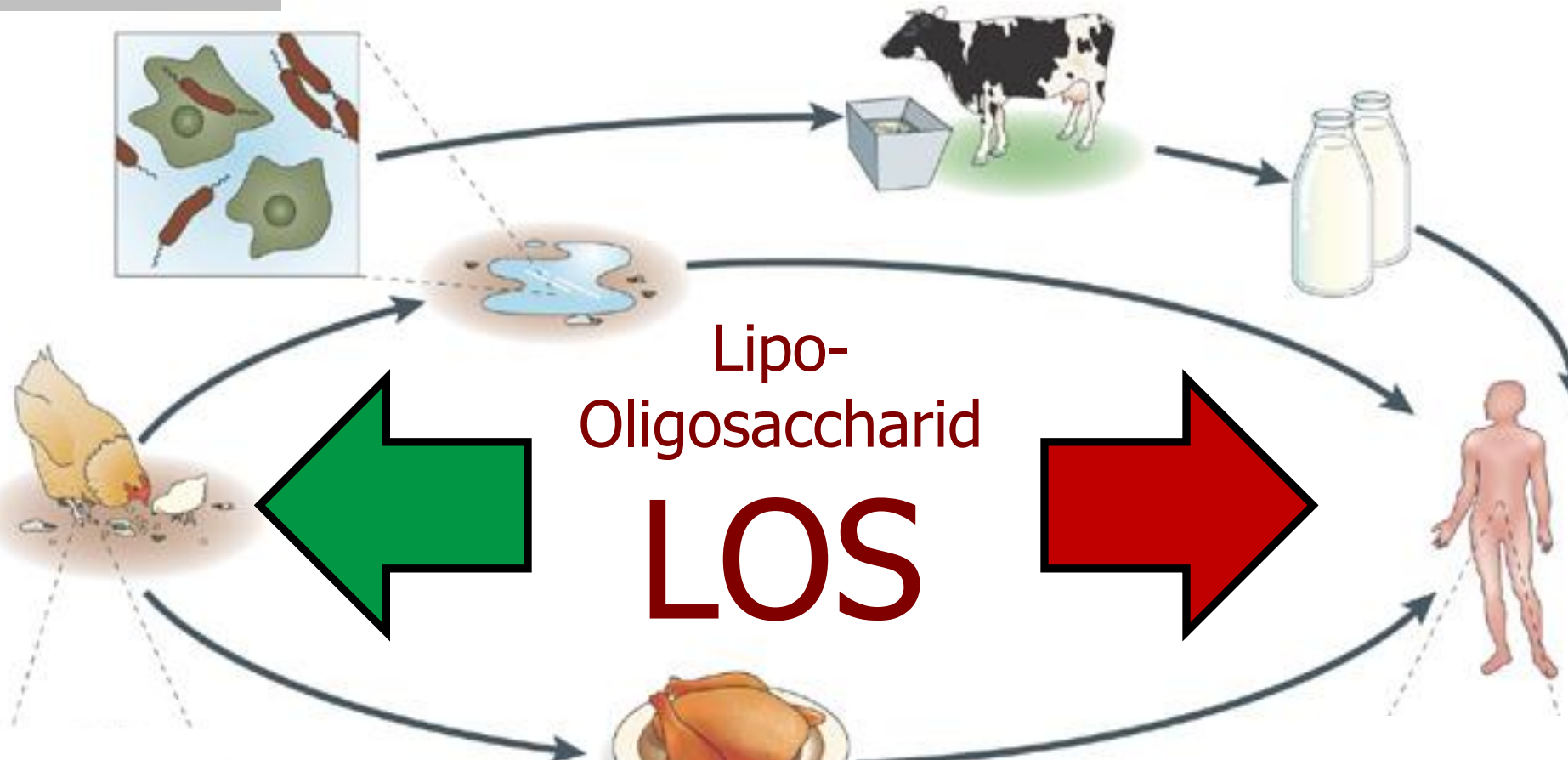
# Campylobacteriose-Suszeptibilität: LOS macht den Unterschied



Kathryn T. Young, Lindsay M. Davis & Victor J. DiRita, 2007

Nature Reviews Microbiology 5, 665-679

# Campylobacter – Kolonisation versus Infektion



Lipo-  
Oligosaccharid  
**LOS**

Hühner sind 1.000.000  
fach resistenter gegen  
LOS/ LPS als der  
Mensch!

**Toxicity of Endotoxin to Chicks**

H. E. Adler and A. J. DaMassa  
Department of Epidemiology and Preventive Medicine  
School of Veterinary Medicine  
University of California, Davis 95616  
Received 6 September 1978

**SUMMARY**

Large doses of purified lipopolysaccharide (LPS) purified from *Escherichia coli* induced clinical signs but no mortality in chicks. Five chicks survived a mean dose of 517 mg/kg. One individual that received LPS at 577 mg/kg recovered from clinical manifestations within two days. Attempts failed to produce a generalized Shwartzman-like reaction with two intravenous inoculations of LPS at about 24-hour intervals. Prior injection of uric acid did not protect chicks from LPS by intravenous exposure.

**BRIEF REPORT: SHOCK AND MULTIPLE-ORGAN DYSFUNCTION AFTER SELF-ADMINISTRATION OF SALMONELLA ENDOTOXIN**

ANGELO M. TAVEIRA DA SILVA, M.D., Ph.D.,  
HELEN C. KAULBACH, M.D.,  
FRANCIS S. CHUIDIAN, M.D.,  
DAVID R. LAMBERT, M.D.,  
ANTHONY F. SUFFREDINI, M.D.,  
AND ROBERT L. DANNER, M.D.

**E**NDOTOXIN, a lipopolysaccharide component of the outer membrane of gram-negative bacteria, is involved in the pathogenesis of septic shock, but it is unclear whether endotoxin alone is capable of causing all the manifestations of the septic shock syndrome. In animals, endotoxin causes many of the clinical features but produces a low-cardiac-output form of shock that is unlike the hyperdynamic cardiovascular profile of septic shock in humans.<sup>2,3</sup> In humans, the administration of endotoxin (4 ng per kilogram of body weight) triggers the release of cytokines,<sup>4</sup> activates the coagulation and fibrinolytic systems,<sup>5,6</sup> and causes a decrease in systemic vascular resistance and an increase in cardiac output.<sup>7</sup> At these low doses, however, endotoxin does not cause shock, disseminat-

ion, or multiple organ dysfunction. In a patient with multiple organ dysfunction, right ventricular catheterization revealed a form of shock in which there was low systemic vascular resistance (Table 1). Eleven hours after admission, it was discovered that 2.5 hours before arriving at the emergency department, the patient had administered 1 mg of *Salmonella minnesota* endotoxin (Sigma, St. Louis), dissolved in sterile water, intravenously in an attempt to treat a recently diagnosed tumor. Consequently, a 100-mg dose of HA-1A antibody (Centocor, Centocor, Malvern, Pa.) was administered 23 hours after the injection of endotoxin.

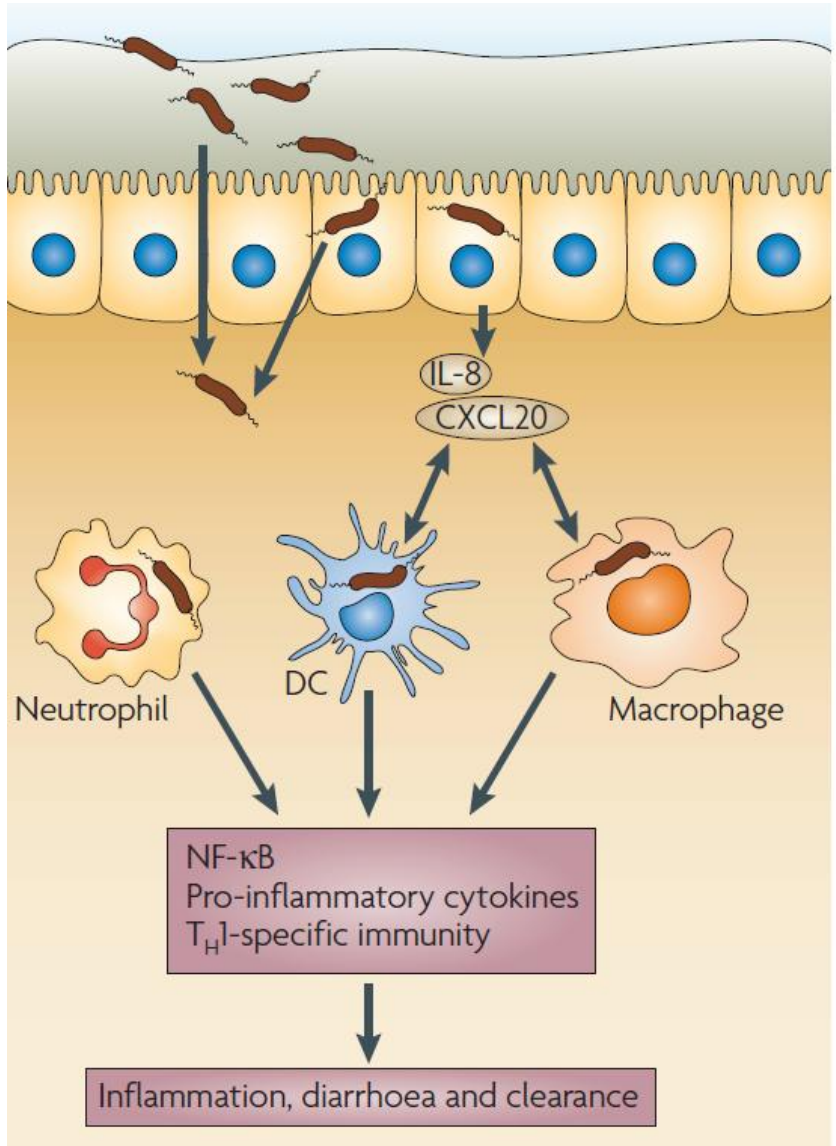
Forty-four hours after the injection of endotoxin, the patient was alert, oriented, and afebrile. The respiratory rate was 30 per minute, and rales were audible bilaterally. A chest roentgenogram showed bilateral interstitial infiltrates consistent with the presence of pulmonary edema. Furosemide was administered, and a brisk diuresis followed. The norepinephrine infusion was discontinued 50 hours after the injection of endotoxin. All cultures (blood, urine, and stool) were negative for pathogens. The patient was sent home on the eighth hospital day.

**METHODS**

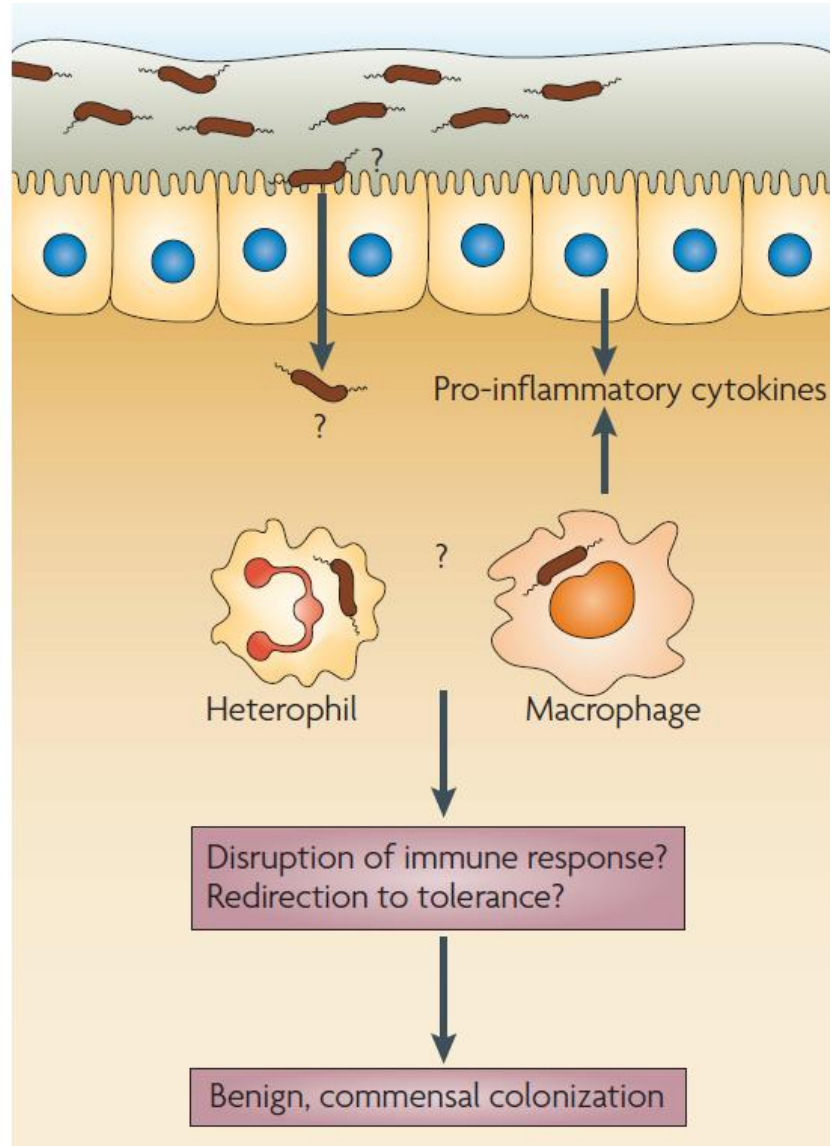
Informed consent was obtained from the patient to transcribe relevant clinical data and draw blood specimens. Serum specimens were frozen at -20°C until assayed. Before the specimens arrived at the research laboratory, no special precautions were taken to keep them free of pyrogens, with the exception of the use of sterile techniques. The specimens were thawed and kept at 4°C before testing was conducted. Aliquots were assayed for endotoxin with a chromogenic Limulus amoebocyte lysate method (Whittaker M.A. Biological Products, Walkersville, Md.) as previously described,<sup>11</sup> but with the kinetic modification recommended by the manufacturer.<sup>12</sup> This assay was sensitive to a concentration of 0.05 endotoxin units (EU) per milliliter. Tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) was measured at Centocor

# *Campylobacter* – Kolonisation versus Infektion

## Mensch (LOS/LPS Sensitiv)



## Huhn (LOS/LPS Resistent)



# Der Forschungsverbund PAC-Campylobacter

## Preventing and combating *Campylobacter* infections



Federal Ministry of Education and Research

## Interventionen Lebensmittelkette



Freie Universität Berlin



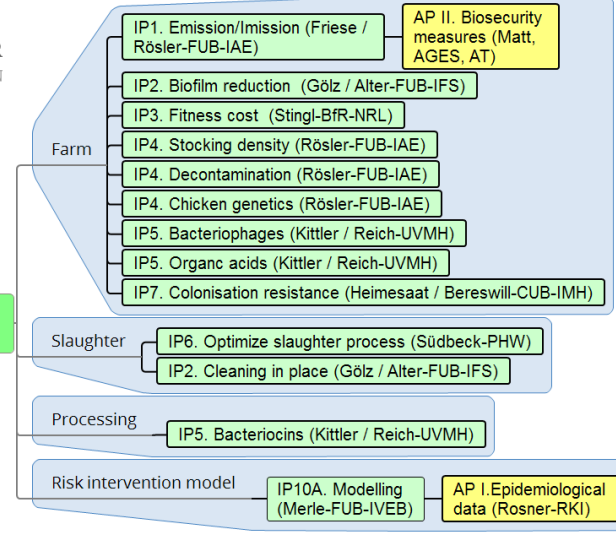
STIFTUNG TIERÄRZTLICHE HOCHSCHULE HANNOVER  
UNIVERSITY OF VETERINARY MEDICINE HANNOVER, FOUNDATION



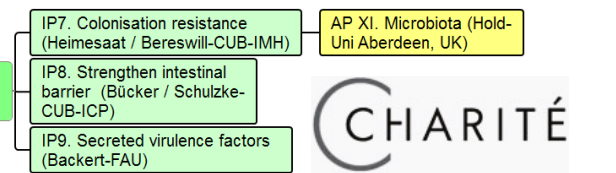
Bundesinstitut für Risikobewertung



### A. Intervention strategies



### B. Therapeutic approaches



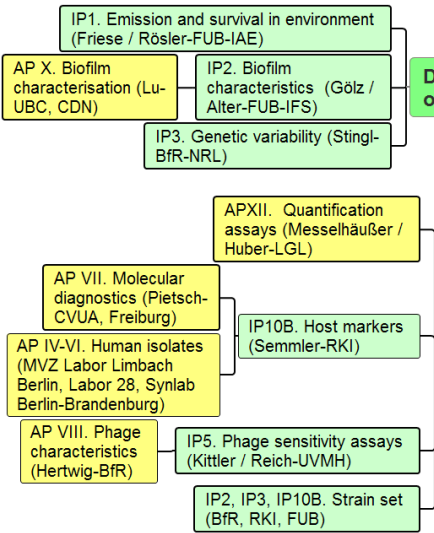
Colour legend

- Research complex
- Tasks of IPs
- Associated partners

## Diagnostik Epidemiologie

## Therapie beim Menschen

### C. Diagnostics



ROBERT KOCH INSTITUT



STIFTUNG TIERÄRZTLICHE HOCHSCHULE HANNOVER  
UNIVERSITY OF VETERINARY MEDICINE HANNOVER, FOUNDATION



# Campylobacteriose/ Ziele im PAC-Campylobacter Konsortium

Geflügelgerichte



Schwere intestinale Erkrankung



Keine Antibiotika/ Keine Therapie!



Dringlicher  
Bedarf für  
Alternative  
Therapien!

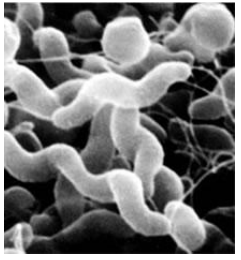
Wir analysieren nichttoxische Phytotherapeutika, deren Wirkungen gegen Darmerkrankungen aus der traditionellen Medizin bekannt sind im Tiermodell Maus.

Diese sollen die Prophylaxe und Therapie der Campylobacteriose unterstützen und schwere Komplikationen wie CED, reaktive Arthritis oder Guillain-Barré-Syndrom vermeiden helfen!

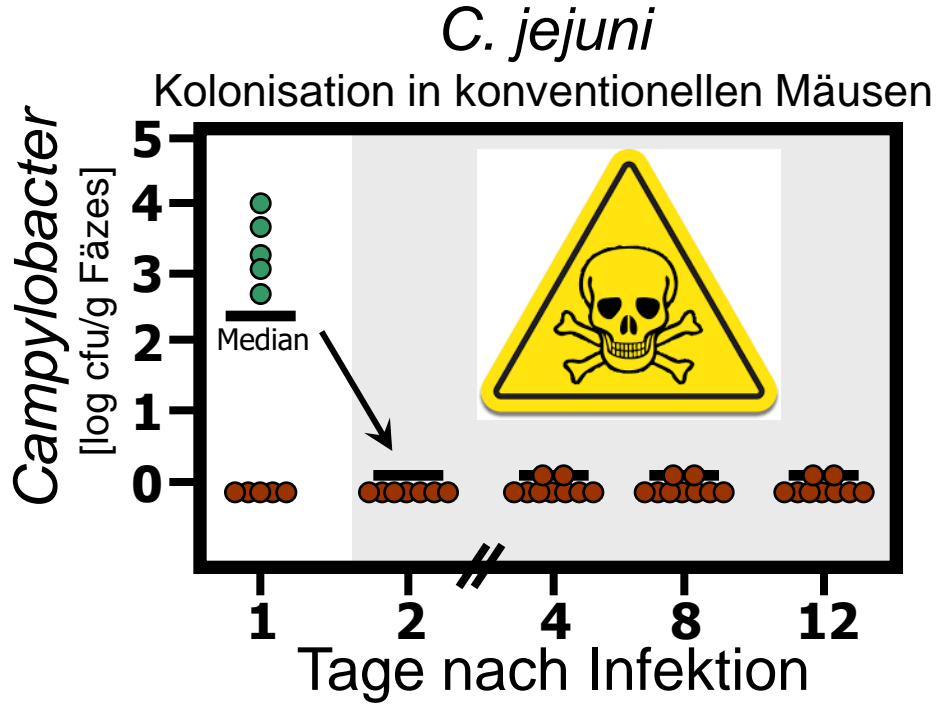
# Mäuse mit normaler Darmmikrobiota weisen eine extreme Kolonisationsresistenz gegen *Campylobacter jejuni* auf

*C. jejuni*

ATCC43431  
81-176  
B2



Kolonisationsresistenz



Hypothese:

Die molekulare Basis der Kolonisationsresistenz gegen *Campylobacter jejuni* in der Maus kann genutzt werden, um neue Wirkstoffe für die Prophylaxe und Therapie der Campylobacteriose zu entwickeln.

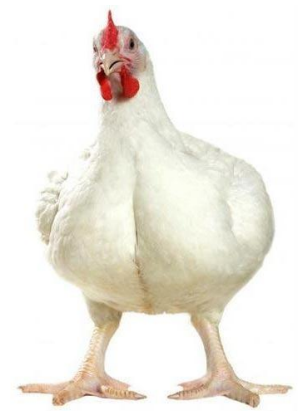
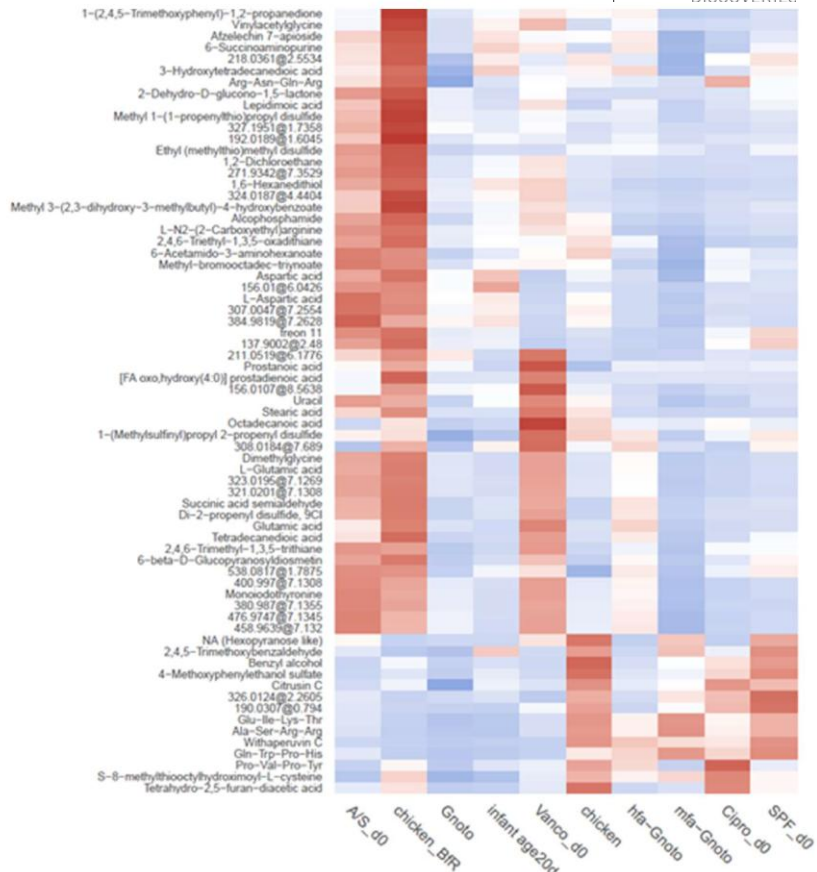
# Metabolomanalysen für die Identifikation von intestinalen Metaboliten als Medikamente gegen die Campylobacteriose



Bundesinstitut für Risikobewertung

Kerstin Stingl

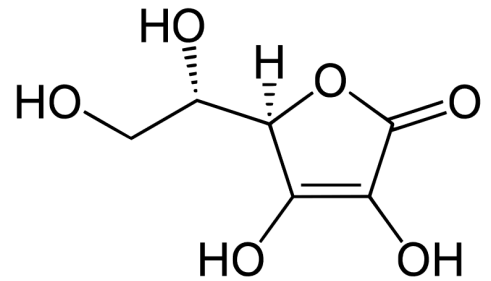
Metabolitzusammensetzung



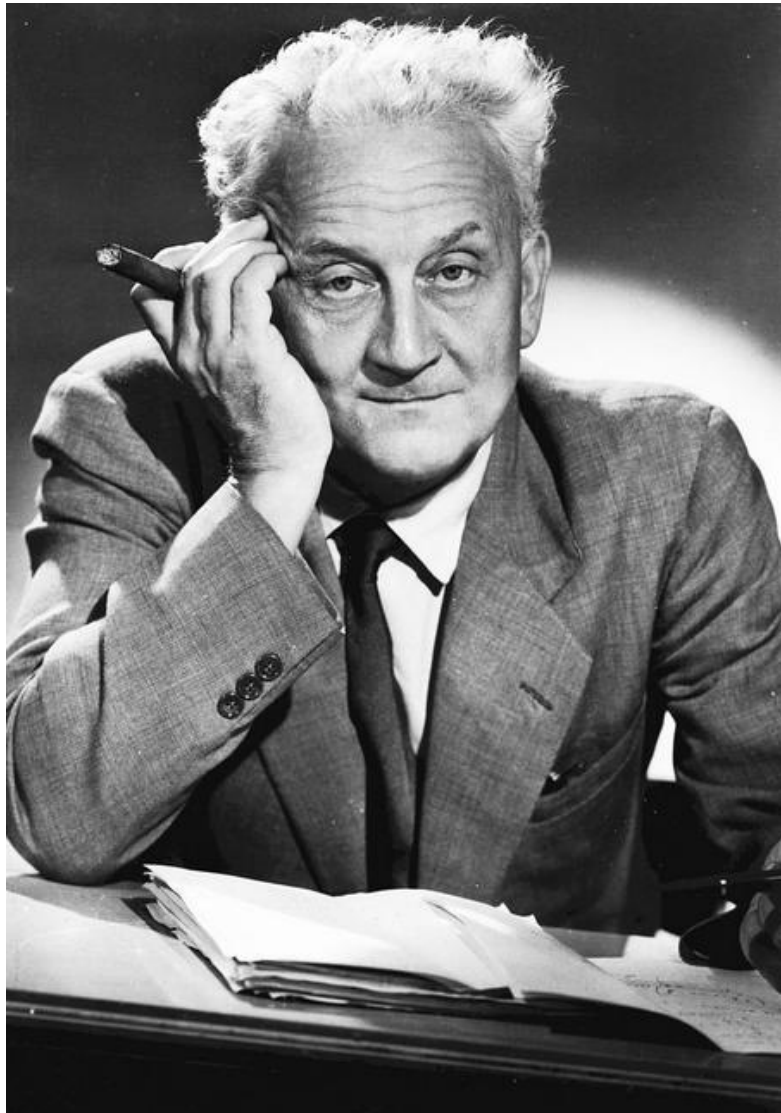
Hoch

Niedrig

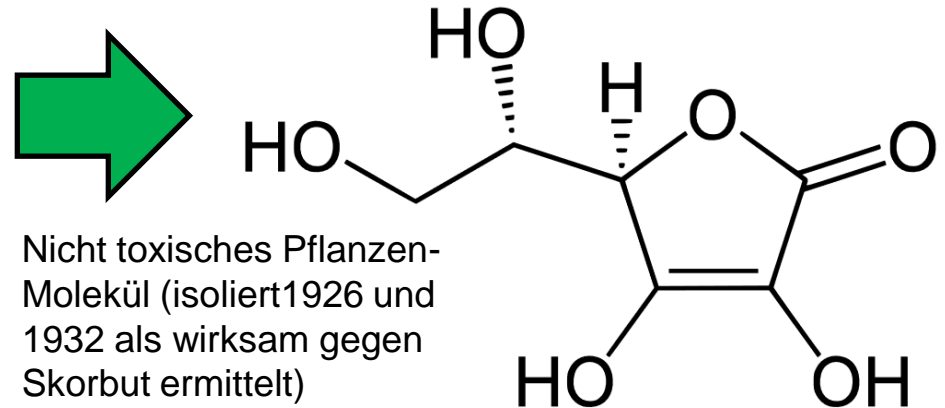
Ascorbat (Vitamin C)



# Intestinale Metabolite, die an der Kolonisationsresistenz gegen *Campylobacter jejuni* in der Maus beteiligt sind



Albert Szent-Györgyi/ 1948  
(1893-1986)



Nicht toxisches Pflanzen-Molekül (isoliert 1926 und 1932 als wirksam gegen Skorbut ermittelt)

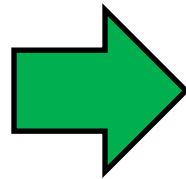
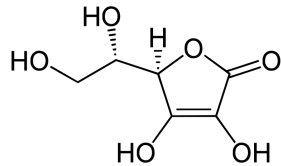
- Gesundheitsfördernde Wirkungen und immunomodulatorische/entzündungshemmende Wirkungen von Vitamin C sind gut belegt!
- Ascorbat hat auch antimikrobielle Aktivität gegen *Campylobacter*, Mycobakterien, *Helicobacter pylori*, *Salmonella*, *Staphylococci* ... u. a.) Der niedrige pH - aber auch oxidative Prozesse - werden als Wirkungsmechanismen diskutiert.



# Analyse der neuen Interventionsstrategien gegen die Campylobacteriose in präklinischen Behandlungsstudien



Fünffach Antibiose  
(8 Wochen)



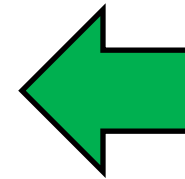
Sterile Käfige



Fütterung und Haltung  
unter strikt sterilen Bedingungen



Sekundär abiotsche Mäuse  
(ohne Mikrobiota)



Behandlung mit  
nichttoxischen  
intestinalen  
Metaboliten, die  
Kolonisationsresistenz  
vermitteln

Rekolonisation/ Infektion



Human  
Flora



Murine  
Flora



Defined  
Commensals



*C. jejuni*



# Analyse der *C. jejuni* vermittelten Immunpathologie in Sekundär abiotischen IL-10 defizienten Mäusen

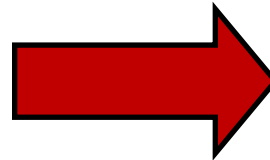
Mäuse sind 10.000 fach resistenter gegen  
LPS/ LOS als der Mensch!

IL-10 Defizienz stellt die LPS/ LOS Sensitivität der Maus wieder her.  
Antibiose direkt nach dem Absetzen von der Mutter verhindert die  
Kolonisationsresistenz und die Colitis,  
die durch die Darmflora vermittelt wird.

*C. jejuni* induziert akute intestinale Entzündung!

*C. jejuni*

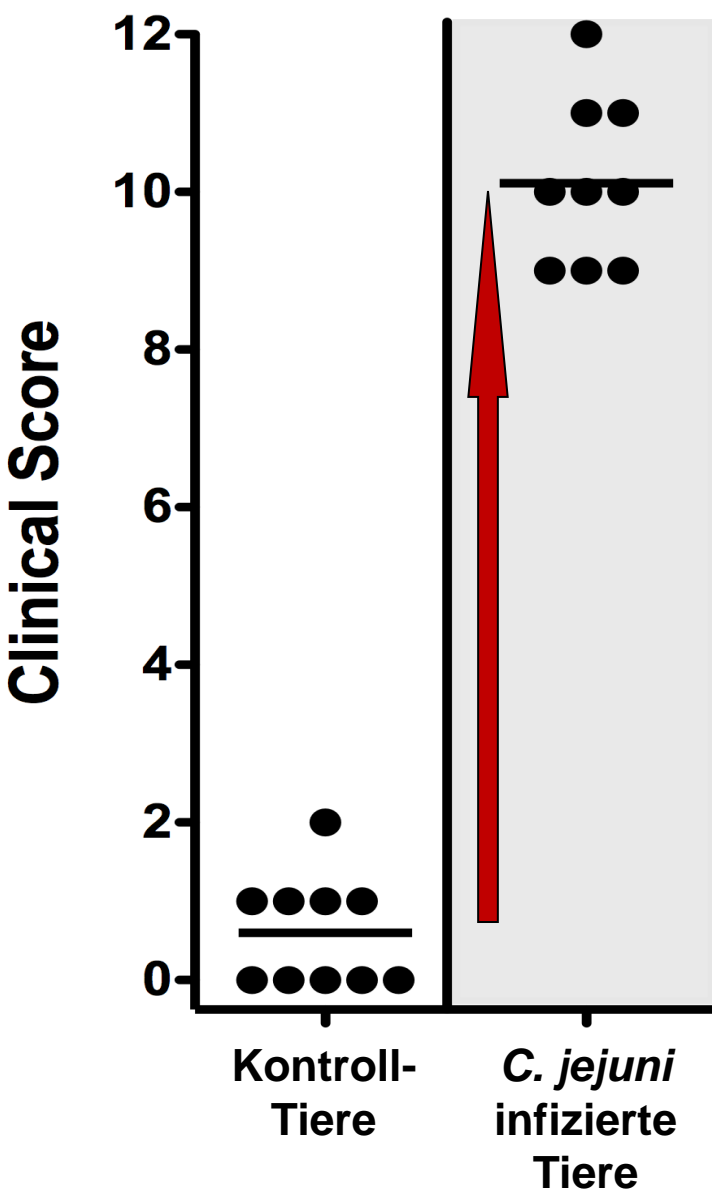
81-176  
NCTC11168  
ATCC43431  
B2



Haag *et al.*, PLoS One 2012;7(7):e40761.

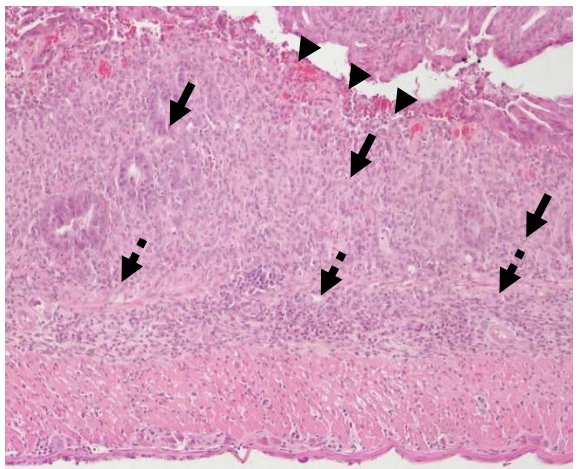
Sekundär abiotische Mäuse  
IL-10<sup>-/-</sup>  
TLR4<sup>-/-</sup> TLR2<sup>-/-</sup>

# Sekundär abiotische IL-10 defiziente Mäuse als Modell für die Campylobacteriose/ Symptome und Verlauf wie im Menschen



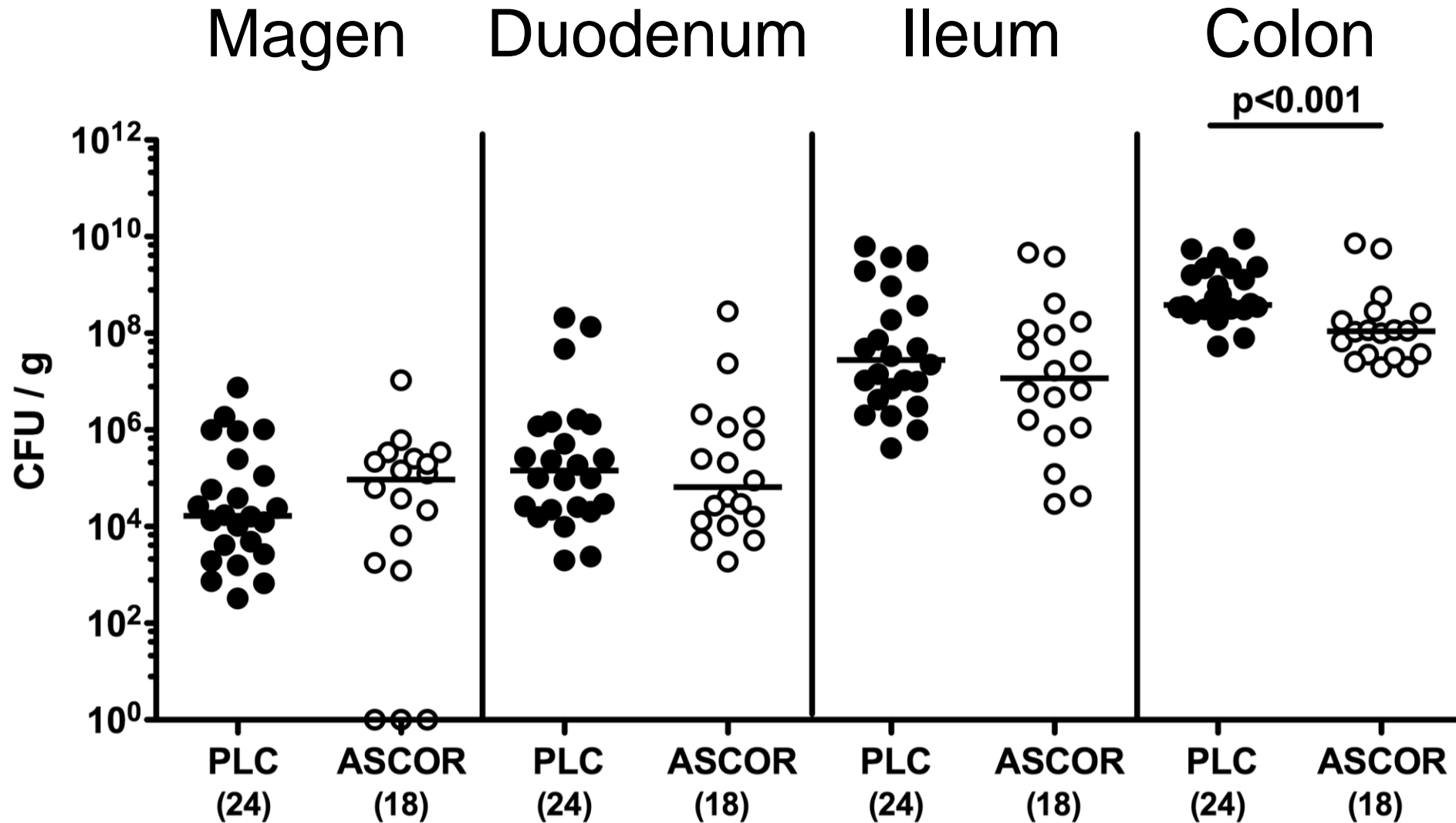
## Sekundär abiotische IL10<sup>-/-</sup> Mäuse

Diarrhoe  
Blutige Fäzes  
Symptomatik der Campylobacteriose wie beim Mensch!



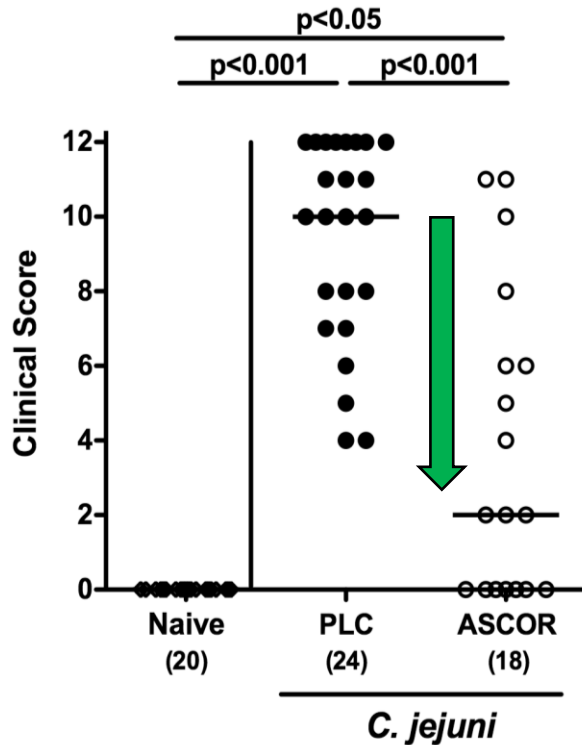
*C. jejuni* infizierte abiotische IL10<sup>-/-</sup> Mäuse entwickeln schwere ulzerative gastrointestinale Entzündung, die alle Aspekte der Campylobacteriose beim Menschen präsentiert!

# Ascorbat hat keinen Einfluß auf die gastrointestinalen *C. jejuni* Konzentrationen

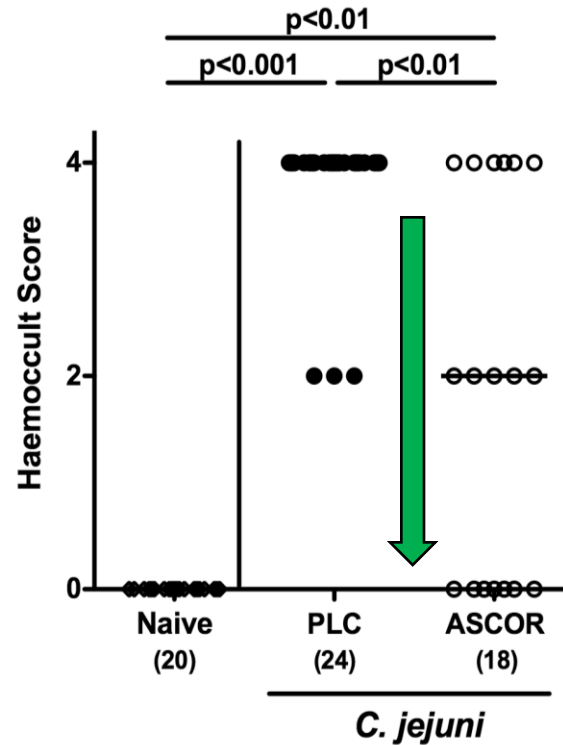


# Ascorbat verbessert die klinischen Zeichen der Campylobacteriose

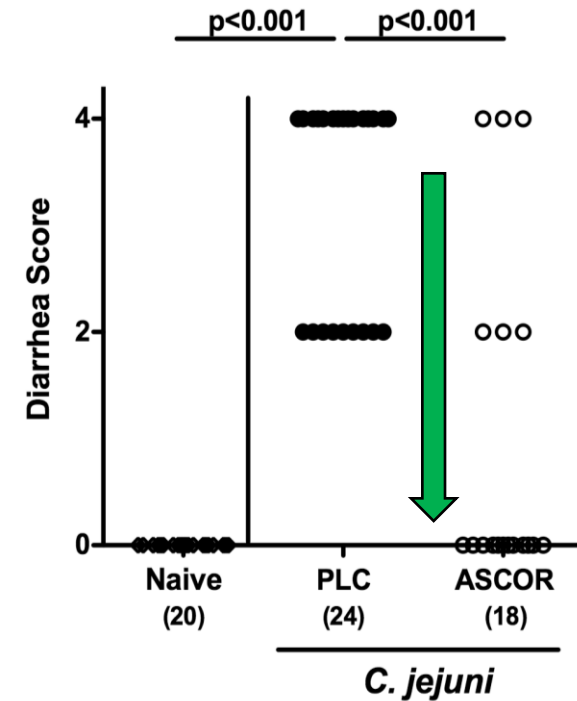
## Symptomatik



## Hämoccult

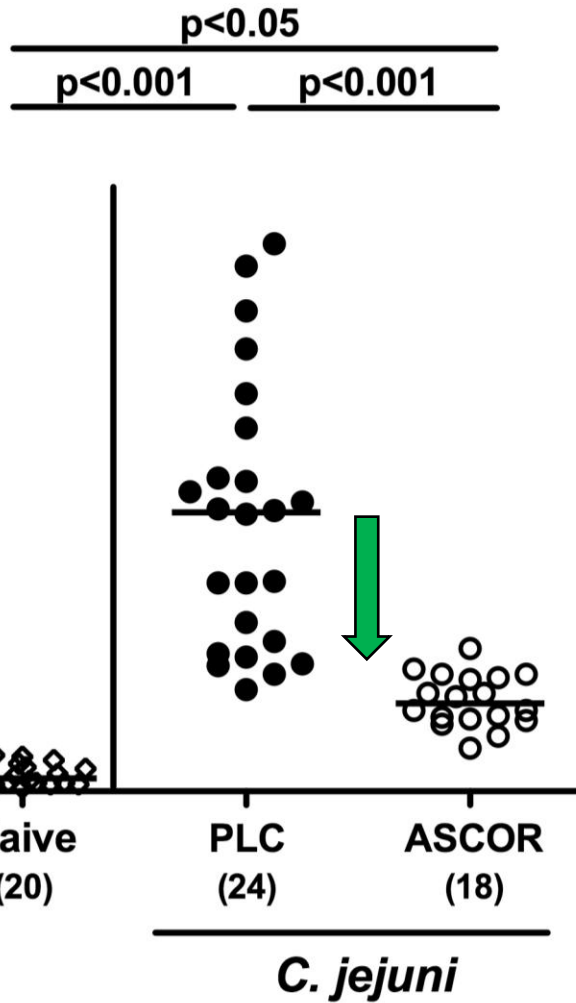


## Diarrhoe

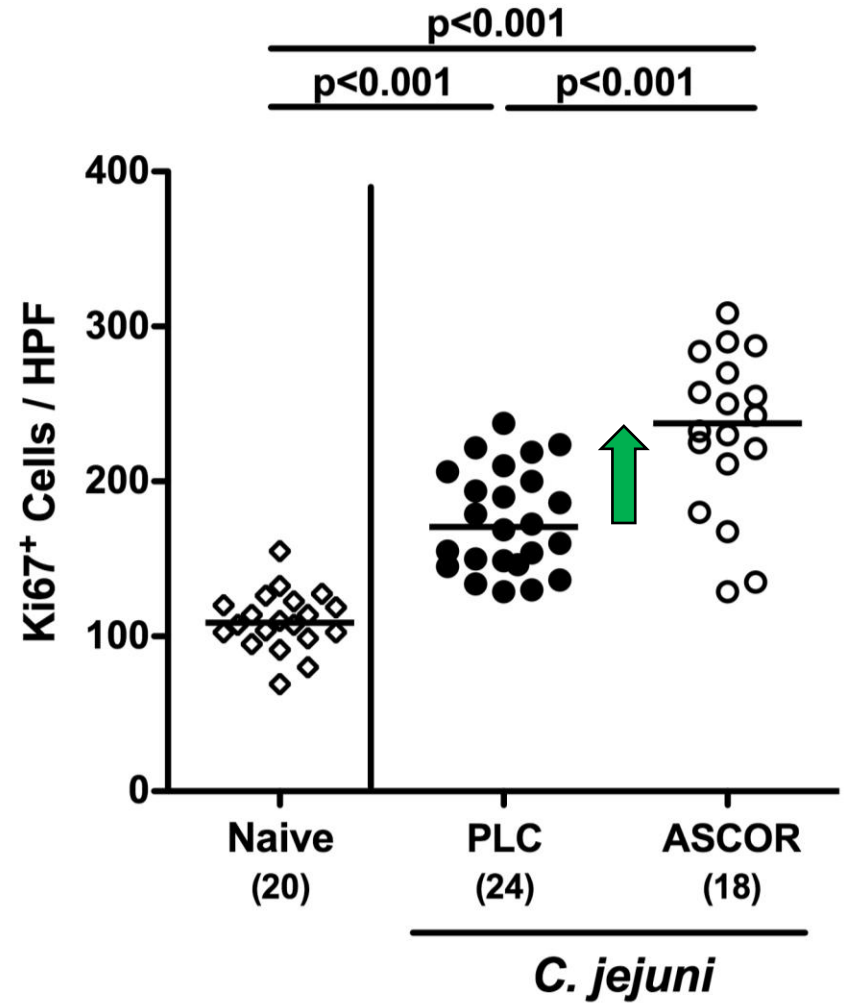


# Ascorbat reduziert die intestinale Apoptose

## Apoptose Colon



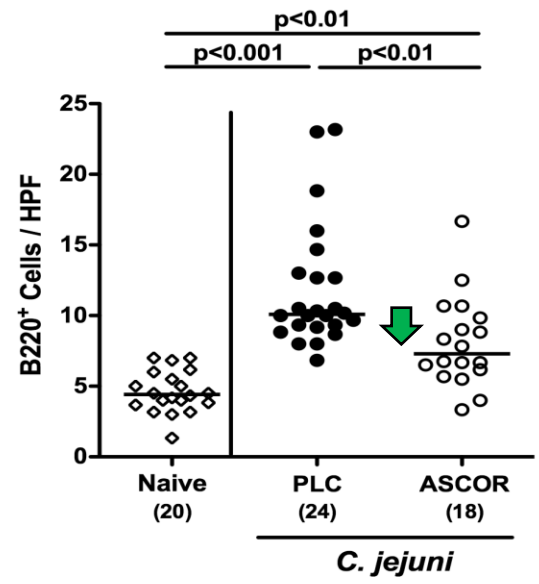
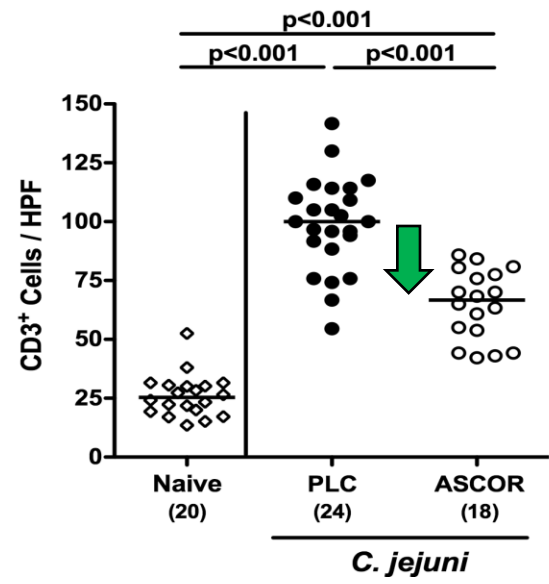
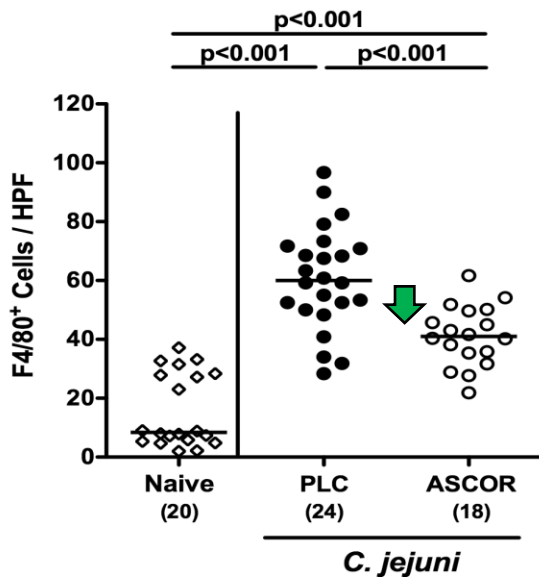
## Proliferation Colon



# Ascorbat hemmt die intestinale Entzündung im Colon

Macrophagen/ Monocyten T-Lymphozyten

B-Lymphozyten



*C. jejuni*

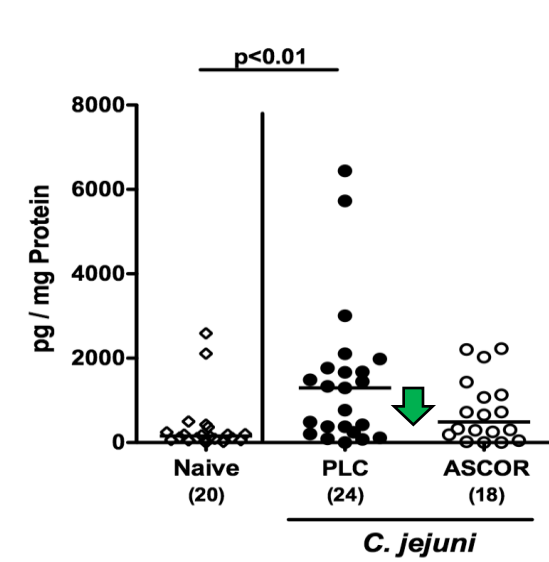
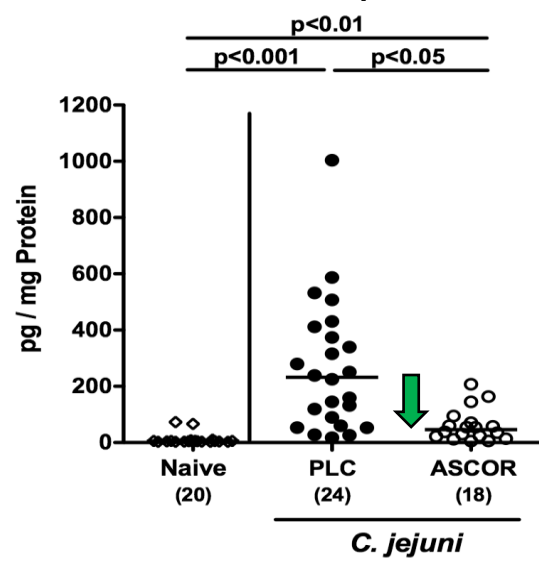
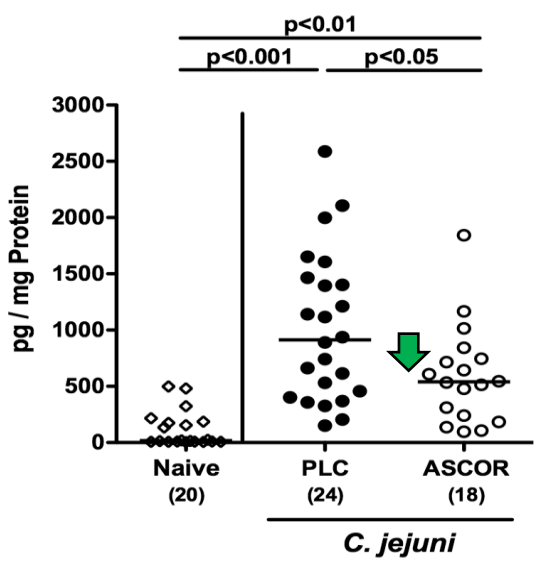
*C. jejuni*

*C. jejuni*

Stickstoffmonoxid

TNFalpha

Interleukin-6

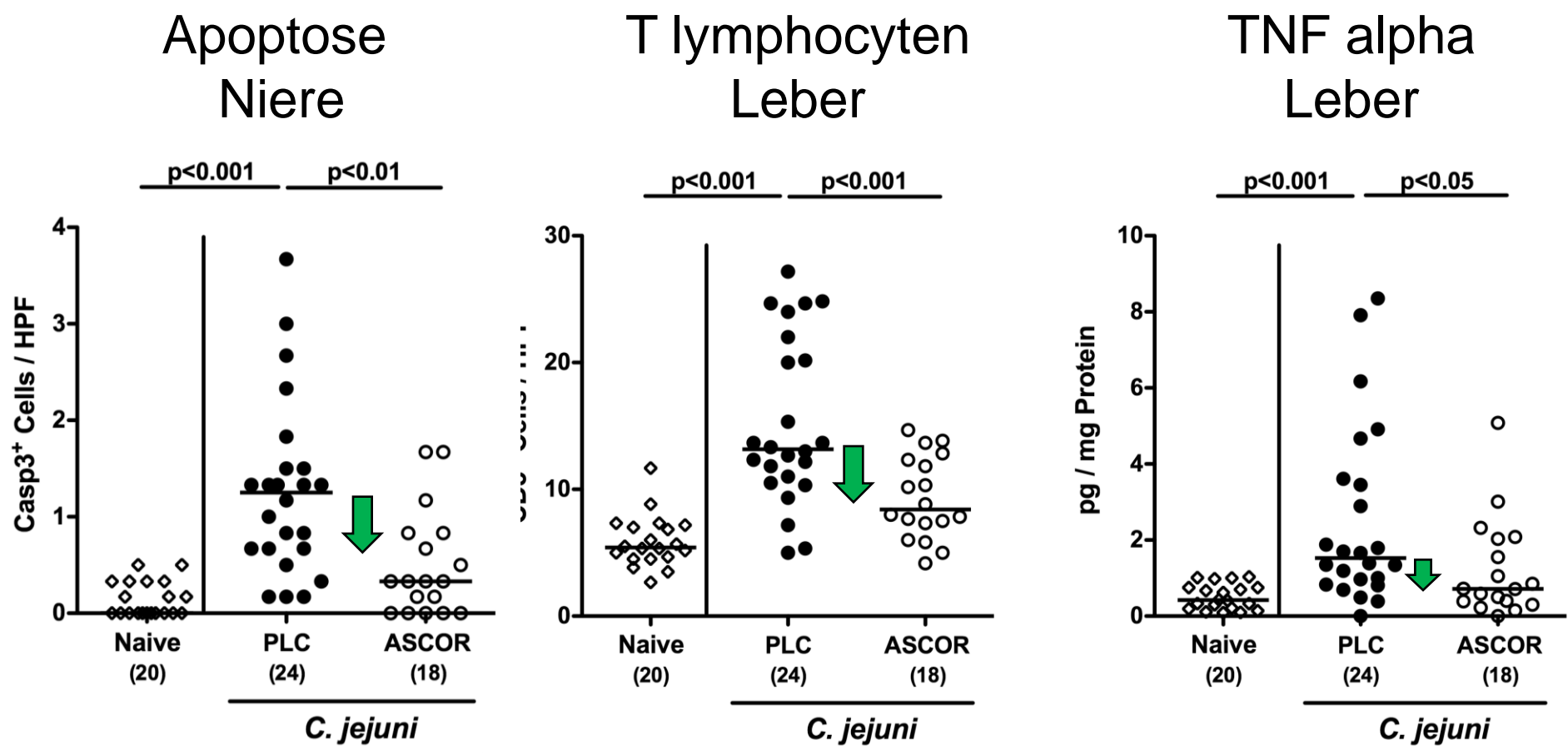


*C. jejuni*

*C. jejuni*

*C. jejuni*

# Ascorbate reduziert Apoptose und Entzündung im ganzen Organismus

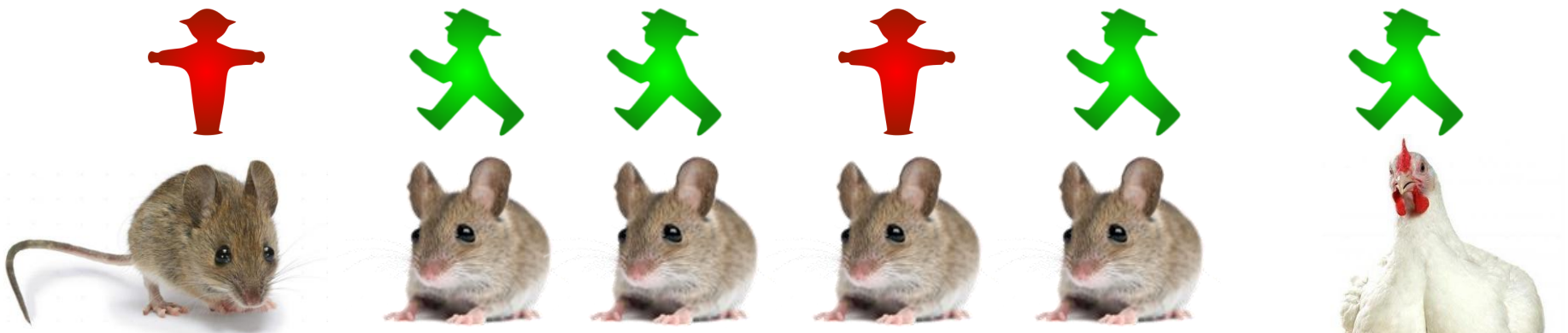




# Metabolomanalysen für die Identifikation von intestinalen Metaboliten als Medikamente gegen die Campylobacteriose



Kerstin Stingl  
Metabolitzusammensetzung



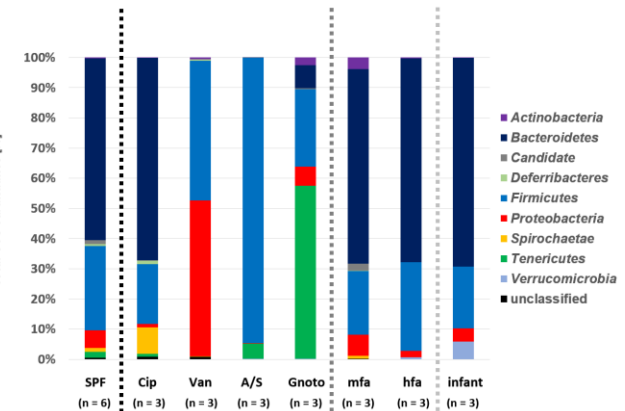
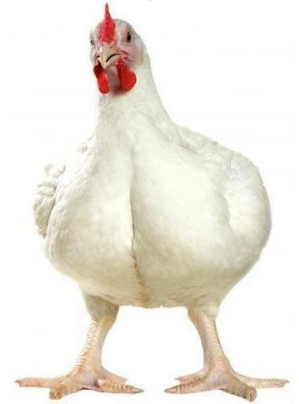
SPF

Infant

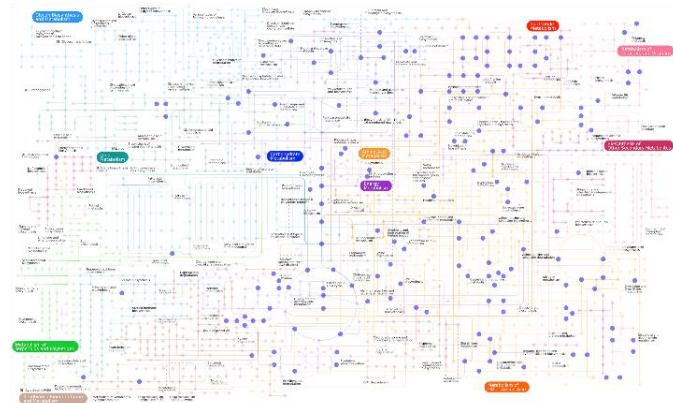
ABx

Abx  
Darmflora  
Maus

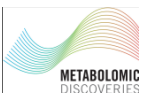
Abx  
Darmflora  
Mensch



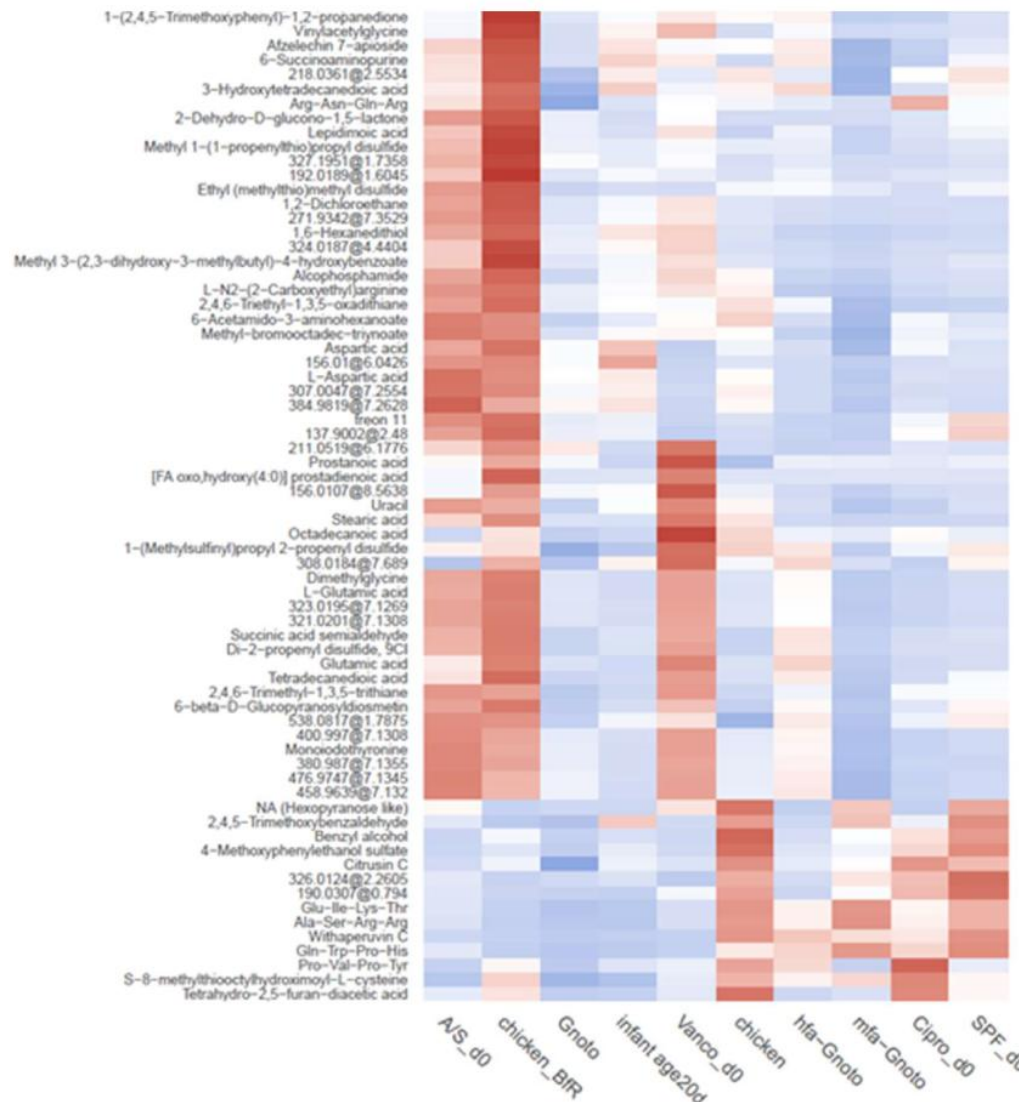
## Mikrobiom- & Metabolom-Analysen



# Metabolomanalysen für die Identifikation von intestinalen Metaboliten als Medikamente gegen die Campylobacteriose



## Metabolite Heatmap



Abx  
Murine  
Flora

Abx  
Human  
Flora

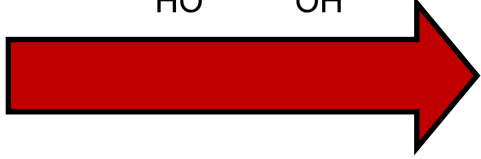
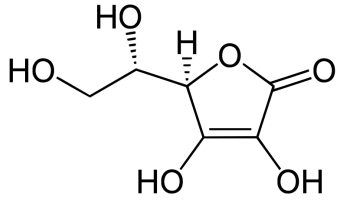
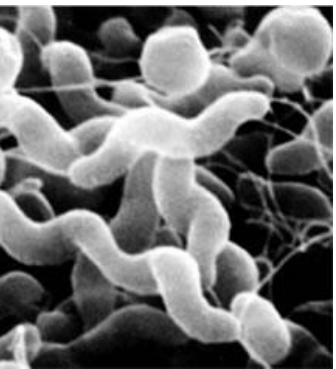
Hoch

Niedrig

Gallensäuren  
Kurzkettenige Fettsäuren  
Bicoumarine  
Phenolische Pflanzenstoffe  
Curcumin, Carvacrol, Resveratrol

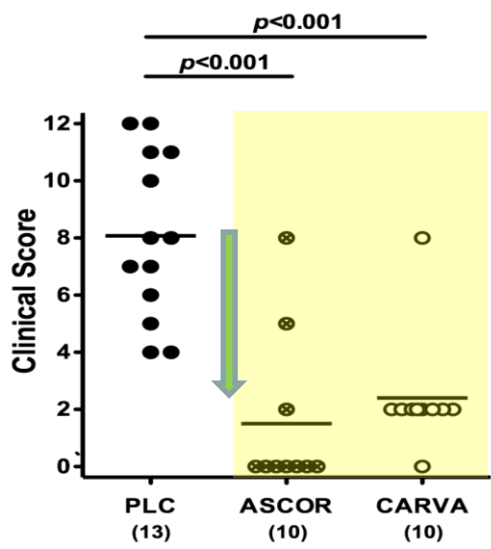
# Treatment of campylobacteriosis in mice with nontoxic gut metabolite derivatives mediating colonization resistance against *Campylobacter jejuni*

*C. jejuni*  
81-176



Secondary abiotic IL-10<sup>-/-</sup> mice

Clinical Score - d6 p.i.



Signifikante Reduktion der *Campylobacter* Kolonisation und der Symptomatik der *Campylobacteriose* nach der Behandlung!

Behandlung mit  
Carvacrol, Resveratrol,  
Curcumin und  
Vitamin D  
...

Polyphenolic plant compounds including Curcumin, Carvacrol, Resveratrol and Vitamin D alleviate *Campylobacter jejuni* induced acute enterocolitis in secondary abiotic IL10<sup>-/-</sup> mice

# Der Forschungsverbund PAC-Campylobacter

## Preventing and combating *Campylobacter* infections



Federal Ministry of Education and Research

## Interventionen Lebensmittelkette



Freie Universität Berlin



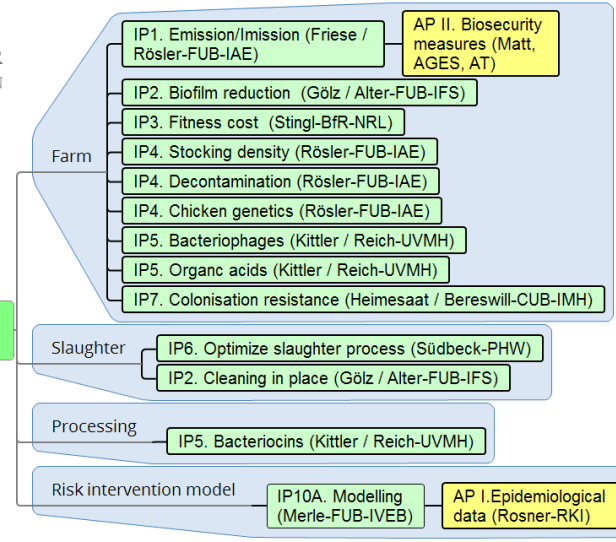
STIFTUNG TIERÄRZTLICHE HOCHSCHULE HANNOVER  
UNIVERSITY OF VETERINARY MEDICINE HANNOVER, FOUNDATION



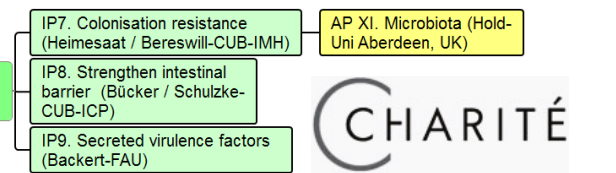
Bundesinstitut für Risikobewertung



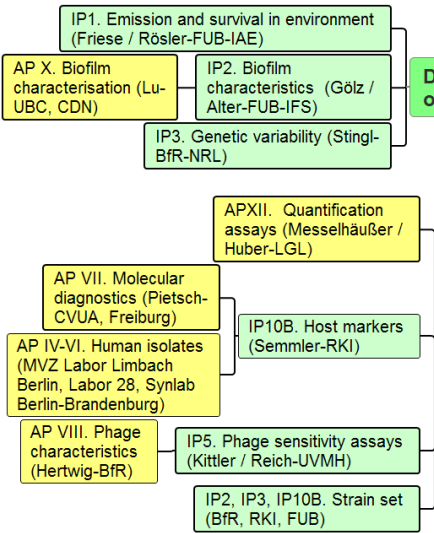
### A. Intervention strategies



### B. Therapeutic approaches



### C. Diagnostics



ROBERT KOCH INSTITUT

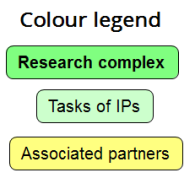


## Diagnostik Epidemiologie

## Therapie beim Menschen



STIFTUNG TIERÄRZTLICHE HOCHSCHULE HANNOVER  
UNIVERSITY OF VETERINARY MEDICINE HANNOVER, FOUNDATION



# Der Forschungsverbund PAC-Campylobacter

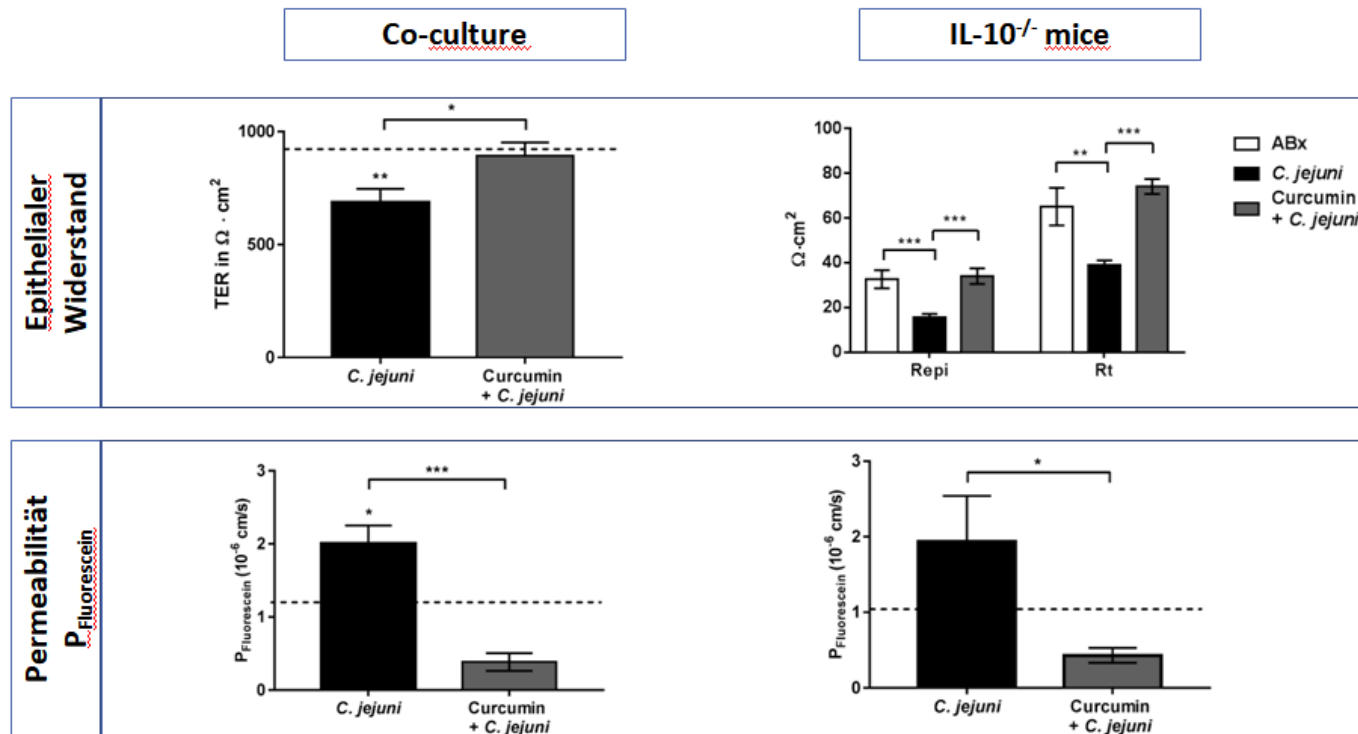
## Preventing and combating *Campylobacter* infections

### Teilprojekt 8: Intestinale Barriere-Protektion bei *Campylobacter*-Infektion

Priv.-Doz. Dr. Roland Buecker, Prof. Dr. Jörg-Dieter Schulzke

Charité – Universitätsmedizin Berlin, Medizinische Klinik- Gastroenterologie, Infektiologie und Rheumatologie, Bereich Ernährungsmedizin / Institut für Klinische Physiologie

#### Curcumin mitigates barrier dysfunction *in vitro* and *in vivo*



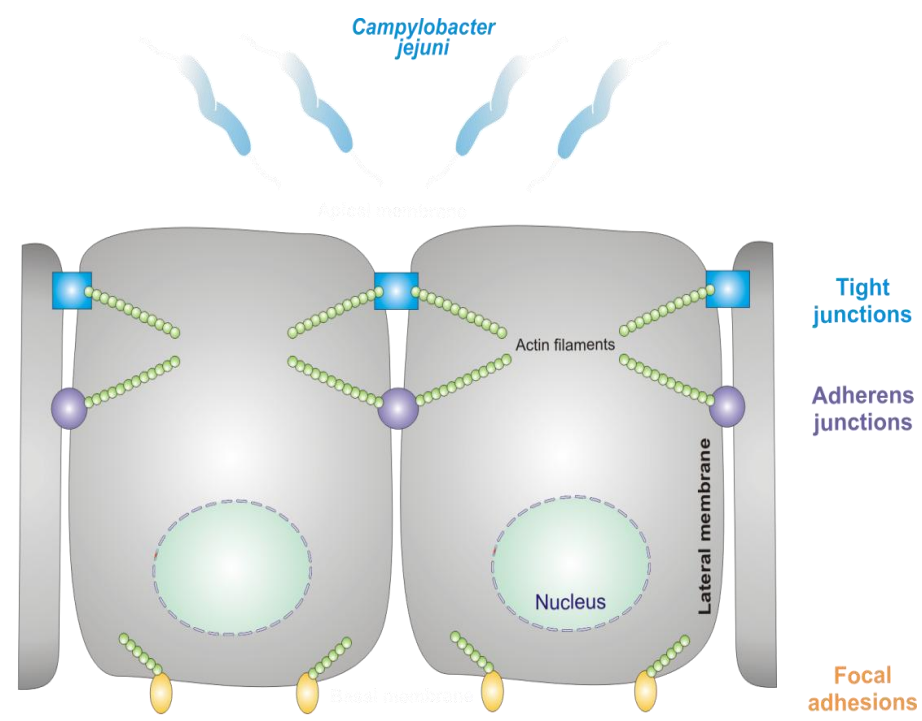
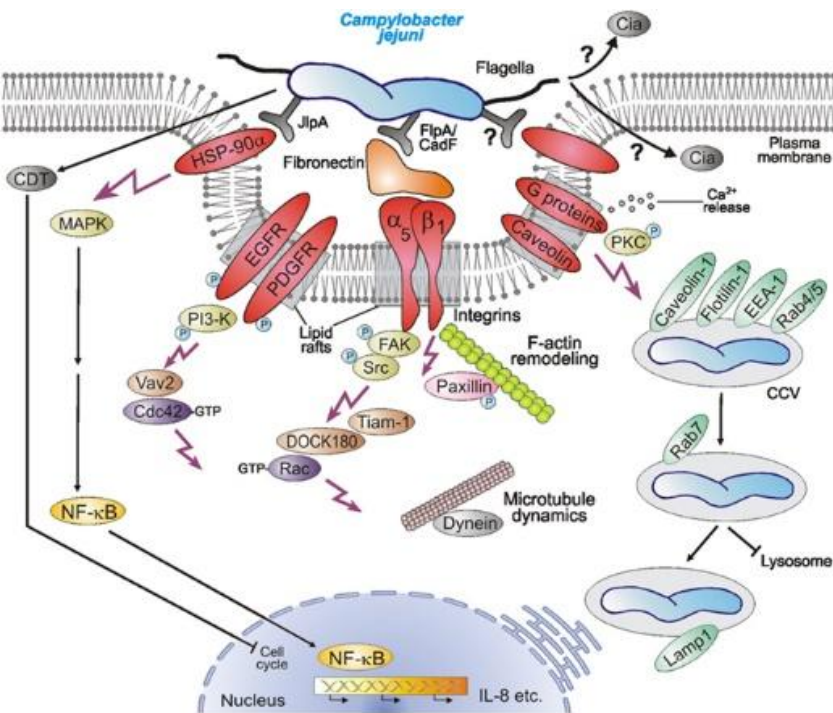
# Der Forschungsverbund PAC-Campylobacter

## Preventing and combating *Campylobacter* infections

Teilprojekt 9: Identifizierung und Charakterisierung neuer sekretierter Virulenzfaktoren von *C. jejuni* und *C. coli* anhand von kultivierten Zellen und in vivo Infektionsmodellen

Prof. Dr. Steffen Backert

Friedrich Alexander Universität Erlangen, Lehrstuhl für Mikrobiologie



Bacterial factors	Kinases	F-actin	Transcription factors
Receptors	Scaffold proteins	Tubulins	GTPases
ECM proteins	Endocytic markers	Motor proteins	GEFs

# Der Forschungsverbund PAC-Campylobacter Preventing and combating *Campylobacter* infections

## Teilprojekt 3: Horizontaler Gentransfer als Faktor einer erhöhten Fitness

Dr. Kerstin Stingl

Bundesinstitut für Risikobewertung, Nationales Referenzlabor für  
*Campylobacter*



Anzucht in einer Schüttelkultur  
mikroaerob

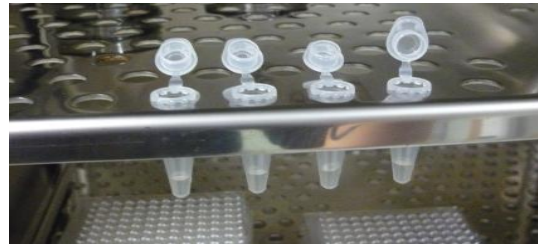
**Whole genome sequencing reveals extended natural transformation in  
*Campylobacter* impacting diagnostics and the pathogens adaptive potential**

Running title: WGS analysis of *Campylobacter* hybrid strains

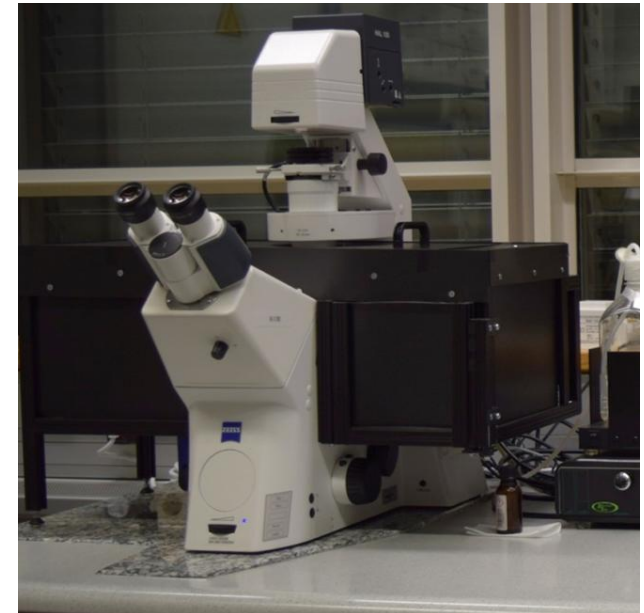
Julia C. Golz<sup>1a</sup>, Lennard Epping<sup>2#</sup>, Marie-Theres Knüver<sup>1a</sup>, Maria Borowiak<sup>1b</sup>, Felix Hartkopf<sup>2</sup>,  
Carlus Deneke<sup>1b</sup>, Burkhard Malorny<sup>1b</sup>, Torsten Semmler<sup>2</sup>, Kerstin Stingl<sup>1a\*</sup>

<sup>1</sup>German Federal Institute for Risk Assessment, Department of Biological Safety, <sup>a</sup> National Reference Laboratory for *Campylobacter*, <sup>b</sup> Study Centre for Genome Sequencing and Analysis, Berlin, Germany

<sup>2</sup>Robert Koch Institute, Microbial Genomics, Berlin, Germany



DNA Aufnahme,  
mikroaerob, anschließend  
DNase-Verdau zur  
Entfernung freier DNA



Analyse im Fluoreszenzmikroskop

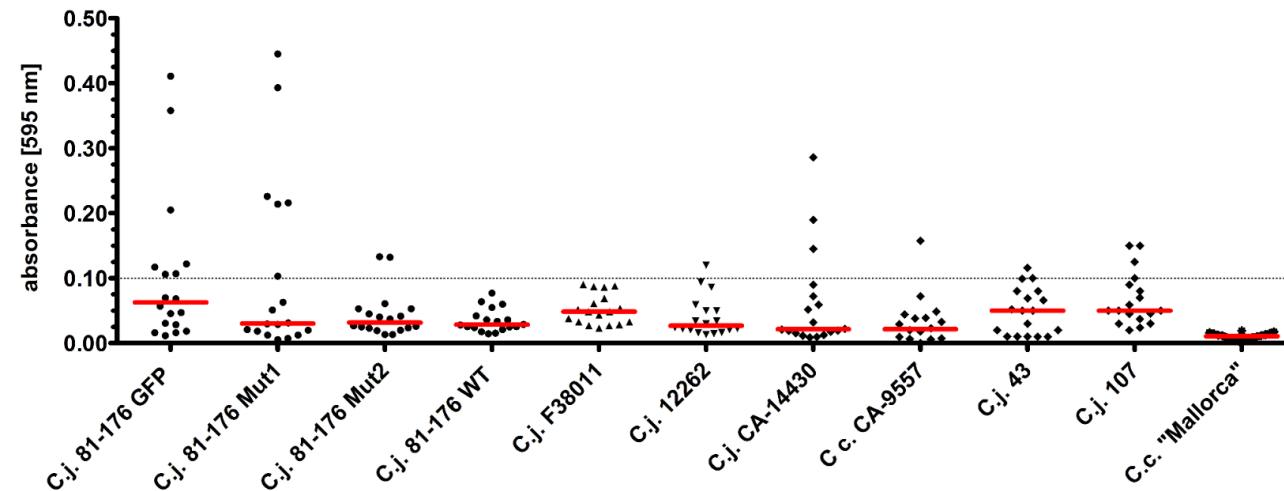
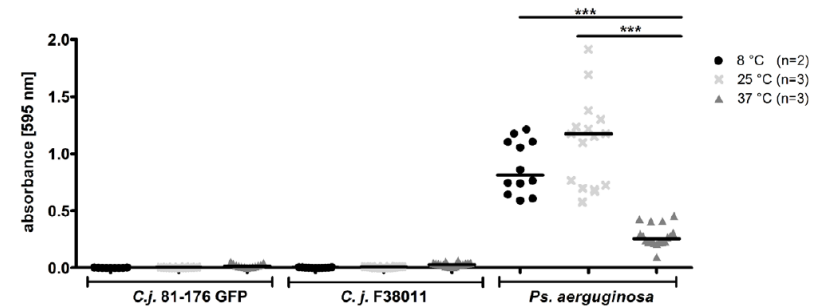
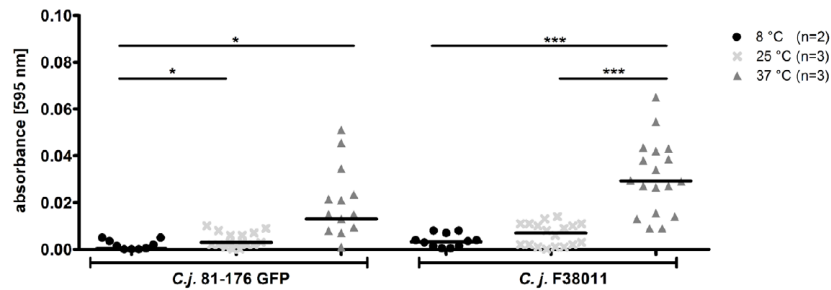
# Der Forschungsverbund PAC-Campylobacter

## Preventing and combating *Campylobacter* infections

### Teilprojekt 2: Biofilme und Strategien zu deren Reduktion

Dr. Greta Götz / Prof. Dr. Thomas Alter

Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene, FU Berlin



**Reduktion von  
*Campylobacter*-  
Biofilmen durch  
Dnase  
Behandlung!**



# Campylobacteriose/ Mission erfüllt!

## Gute Nachrichten!

Basierend auf den potenten anti-inflammatorischen Wirkungen gegen die *C. jejuni* Infektion in der Maus

...

können wir Patienten Vitamin C, Curcumin, Resveratrol, Vitamin D und Carvacrol für die Besserung der akuten Campylobacteriose und für die Vermeidung von Komplikationen wie Reaktive Arthritis, Reiter-Syndrom, Miller-Fisher-Syndrom oder sogar Guillain-Barré-Syndrome empfehlen!

...

Und klinische Studien im Mensch auf den weg bringen

## Geflügel



## Schwere Enteritis

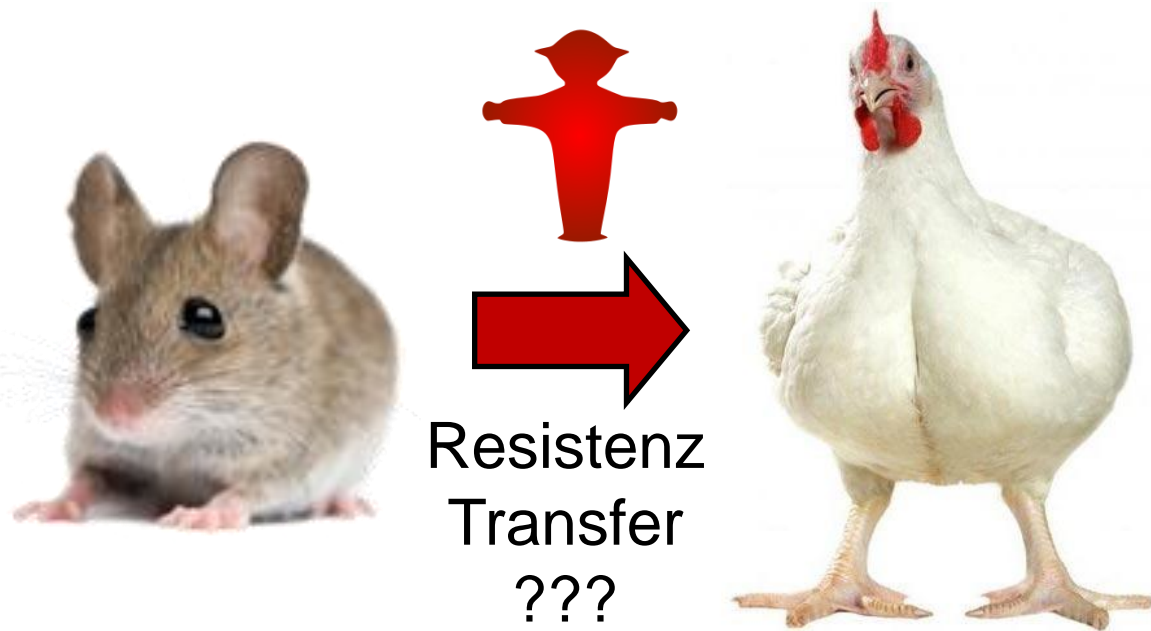


## Alternativen zu Antibiotika!



Ascorbate  
Carvacrol  
Vitamin D  
Curcumin  
Resveratrol

## Gretchenfrage – Transfer der Kolonisationsresistenz von der Maus zum Huhn?



Die Behandlung von Hühnern wird aktuell von Partnern im PAC-Campylobacter Konsortium durchgeführt!



ONE HEALTH APPROACH  
CAMPYLOBACTER  
Preventing and Combating Infections

Die Metabolomanalyse der Kolonisationsresistenz gegen *C. jejuni* in der Maus ist für die Entwicklung neuer Strategien gegen die Campylobacteriose sehr hilfreich!

# Der Forschungsverbund PAC-Campylobacter

## Preventing and combating *Campylobacter* infections

---

### **Teilprojekt 1: Ein- und Austrag von *Campylobacter* in und aus Masthähnchenbetrieben sowie deren Tenazität in der Umwelt**

Dr. Anika Friese / Prof. Dr. Uwe Rösler

Institut für Tier- und Umwelthygiene, FU Berlin

### **Teilprojekt 4: Nicht-biosicherheitsbasierte Interventionsmaßnahmen**

Prof. Uwe Rösler / Dr. Anika Friese

Institut für Tier- und Umwelthygiene, FU Berlin

### **Teilprojekt 5: Spezifische Minimierungsstrategien zur Reduktion von *Campylobacter* entlang der Lebensmittelkette**

Prof. Dr. Madeleine Plötz / Dr. Sophie Kittler

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Institut für Lebensmittelqualität und -sicherheit

### **Teilprojekt 6: Optimierung des Schlachtprozesses und Implementierung von Interventionsmaßnahmen unter Praxisbedingungen**

Dr. Michael Südbeck

Lohmann & Co. AG

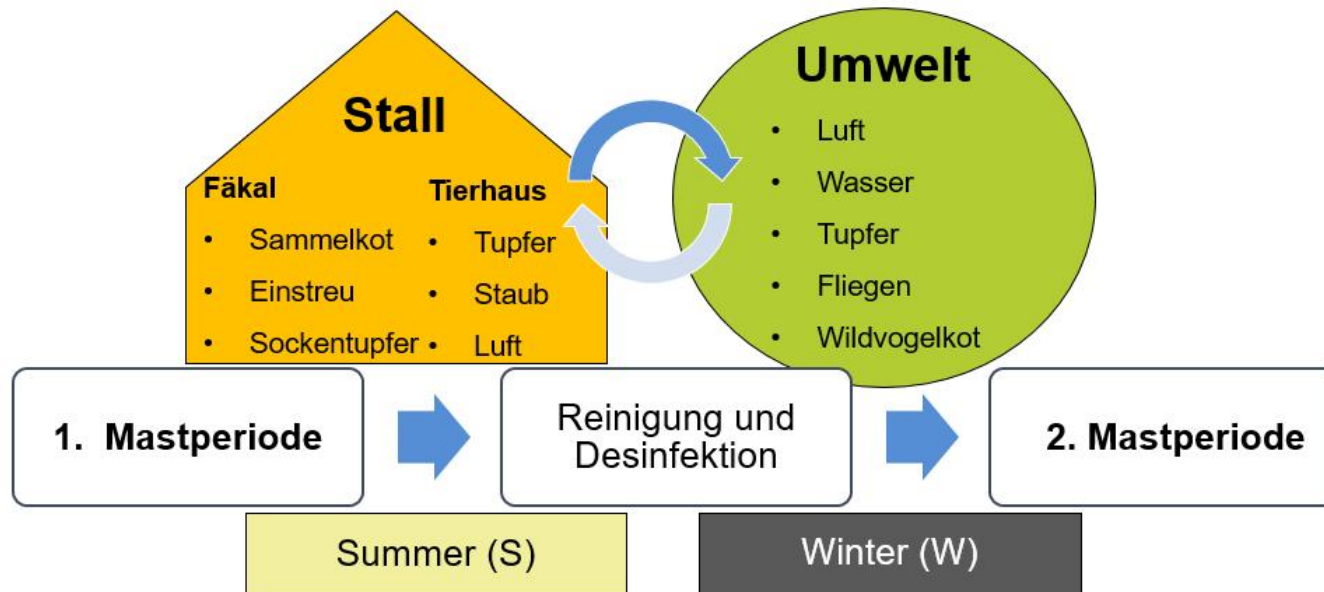
# Der Forschungsverbund PAC-Campylobacter

## Preventing and combating *Campylobacter* infections

### Teilprojekt 1: Ein- und Austrag von *Campylobacter* in und aus Masthähnchenbetrieben sowie deren Tenazität in der Umwelt

Dr. Anika Friese / Prof. Dr. Uwe Rösler

Institut für Tier- und Umwelthygiene, FU Berlin



# Der Forschungsverbund PAC-Campylobacter

## Preventing and combating *Campylobacter* infections

---

### Nachweise

#### **Sommer**

- Hohe *Campylobacter* Prävalenz in den Ställen von Betrieb 1 und 2
- ein kultivierbarer *Campylobacter* in der Umwelt (Stallwasser von Betrieb 1) isoliert

#### **Winter**

- Niedrigere Prävalenz im Stall (Saisonalität von *Campylobacter*)
- Aber: kultivierbare *Campylobacter* in der Stallumgebung nachgewiesen von Betrieb 1 und 2 (Farmequipment, Sockentupfer und Wasserproben)

# Der Forschungsverbund PAC-Campylobacter

## Preventing and combating *Campylobacter* infections

---

### Genotypisierung

#### *flaA*-Typisierung

- **Betrieb 1**

Veränderung des *Campylobacter flaA*-Typs zwischen zwei Durchgängen

→ Reinigung und Desinfektion kann kultivierbare *Campylobacter* erfolgreich reduzieren

#### **Betrieb 2**

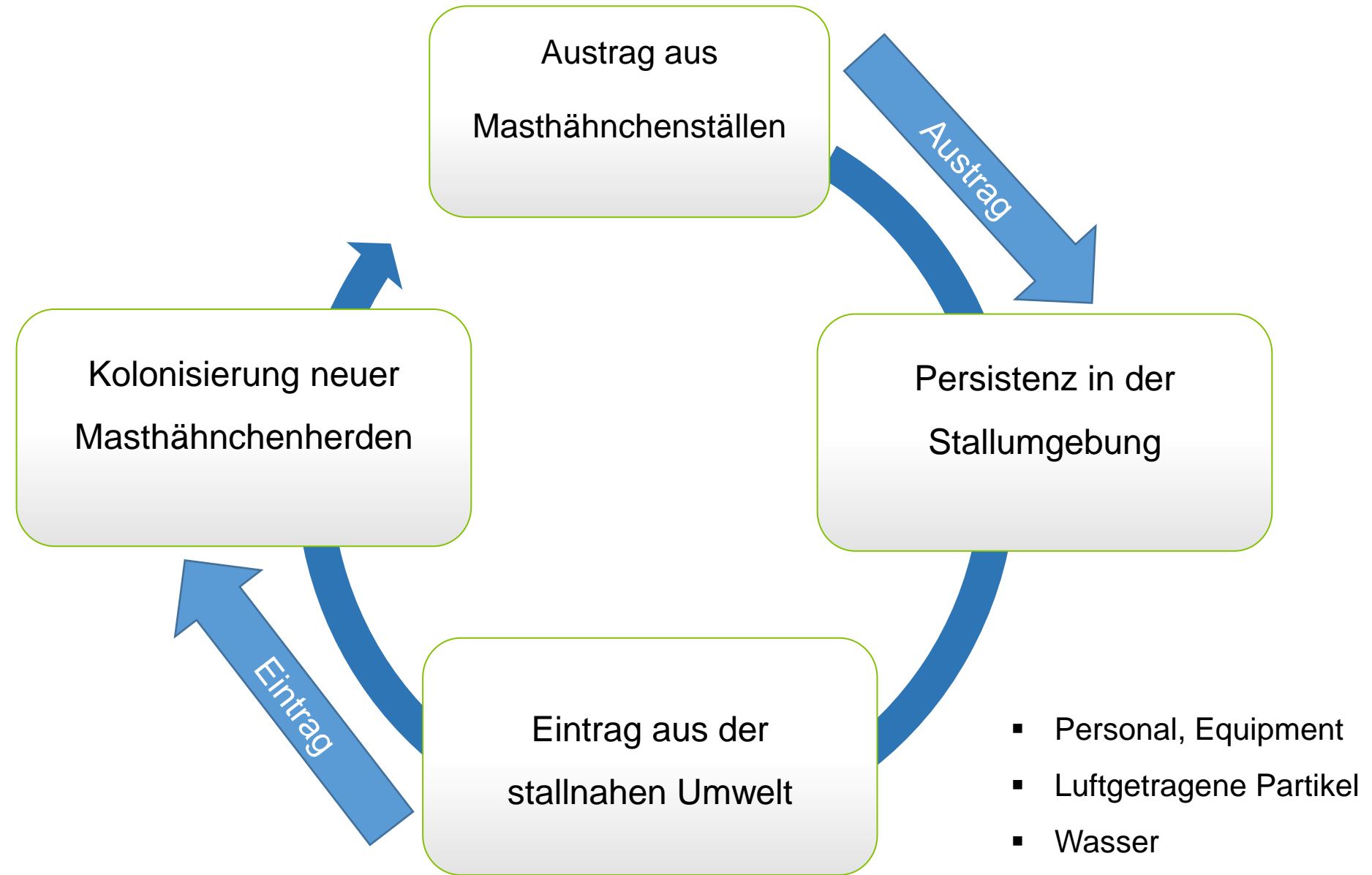
Wiederkehrender FlaA Typen (67) Sommer und Winter, Stall und Umwelt, und nach R&D

→ Persistenz in der Stallnahen Umwelt nach Austrag möglich → VBNC ???

→ VBNC im Stall nach R&D

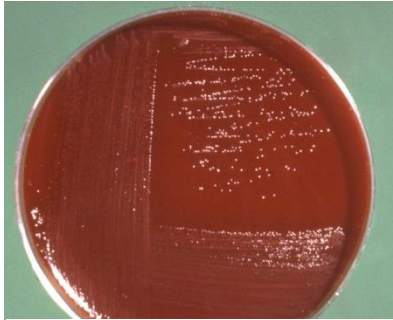
# Der Forschungsverbund PAC-Campylobacter

## Preventing and combating *Campylobacter* infections



# Der Forschungsverbund PAC-Campylobacter

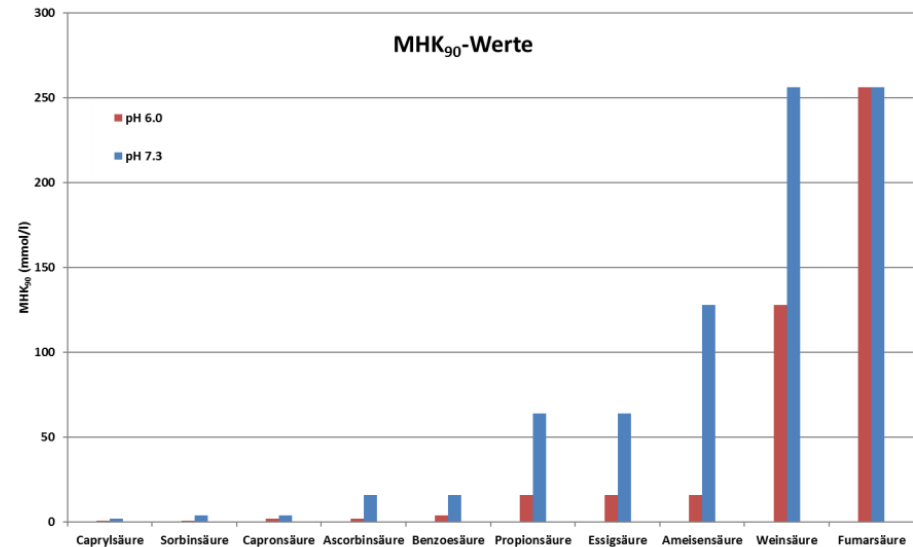
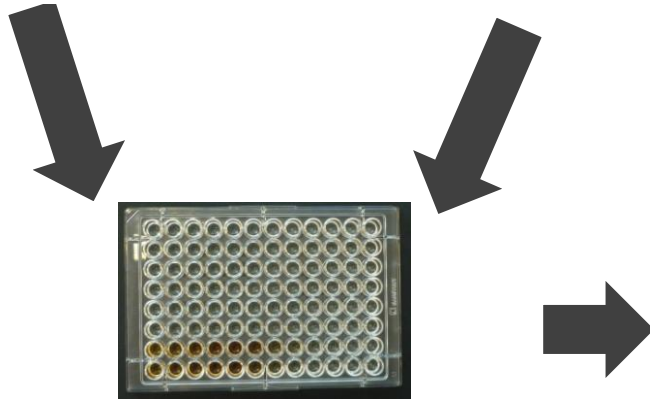
## Preventing and combating *Campylobacter* infections



30 *Campylobacter* spp.



10 organische Säuren



**Teilprojekt 5: Spezifische Minimierungsstrategien zur Reduktion von *Campylobacter* entlang der Lebensmittelkette**

Prof. Dr. Madeleine Plötz / Dr. Sophie Kittler

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Institut für Lebensmittelqualität und -sicherheit



# Der Forschungsverbund PAC-Campylobacter Preventing and combating *Campylobacter* infections

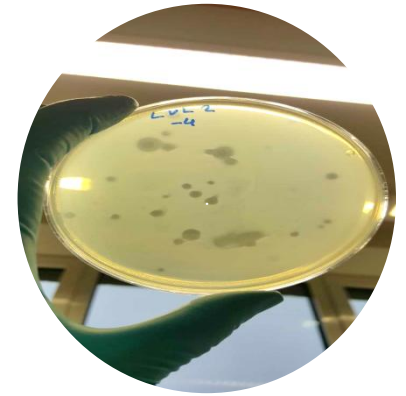
## Isolierung neuer Bakteriophagen



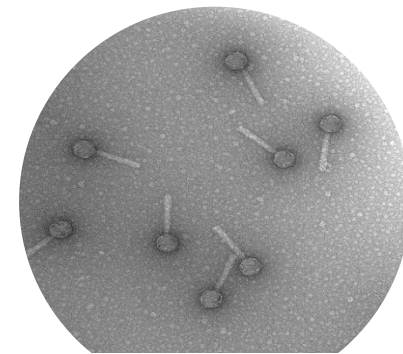
288 Kot-, Haut- und  
Blinddarmproben aus  
dem Huhn



Phagen-Isolierung



Phagencocktail



35 neue Phagen

Teilprojekt 5: Spezifische  
Minimierungsstrategien zur  
Reduktion von *Campylobacter*  
entlang der Lebensmittelkette

Prof. Dr. Madeleine Plötz / Dr.  
Sophie Kittler

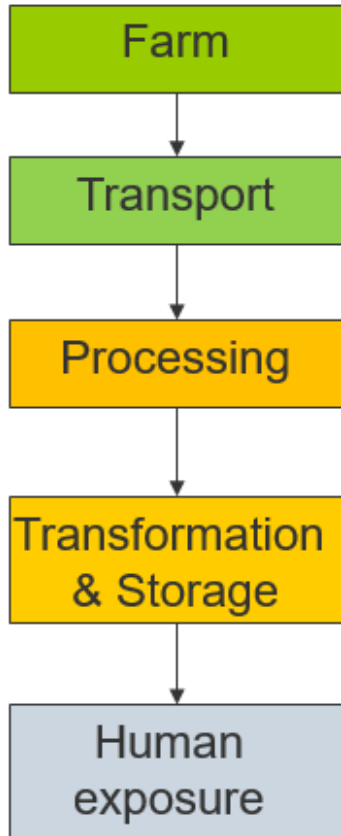
Stiftung Tierärztliche Hochschule  
Hannover, Institut für  
Lebensmittelqualität und -sicherheit

# Der Forschungsverbund PAC-Campylobacter

## Preventing and combating *Campylobacter* infections

### Teilprojekt 10A: Epidemiologische Untersuchungen, Risikointerventionsmodell

PD Dr. Roswitha Merle, Institut für Veterinär-Epidemiologie und Biometrie, FU Berlin

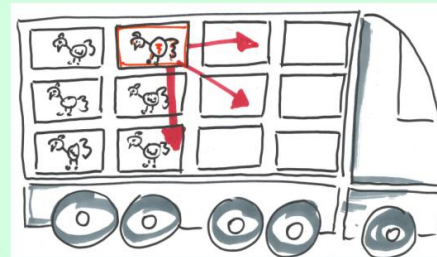


- Entwicklung eines quantitativen Risikobewertungsmodells für *Campylobacter* in Geflügelfleisch für Deutschland
- Bewertung der Effektivität von Nicht-Biosicherheitsmaßnahmen für die Reduktion von humanen *Campylobacter*-Infektionen, die mit Geflügelfleisch assoziiert sind.

#### Transport model

##### Previous models

- FAO/WHO model: vertical and horizontal cross contamination between crates



##### Chosen approach

- Adaptation of the FAO/WHO model
- Field study in progress

# Der Forschungsverbund PAC-Campylobacter

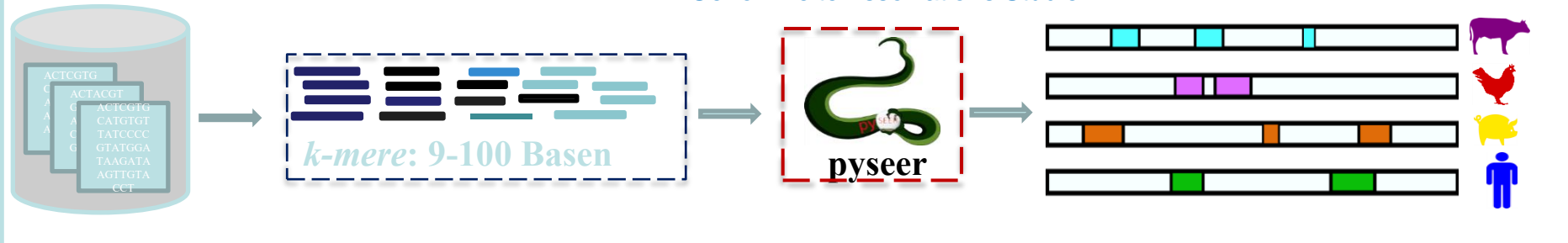
## Preventing and combating *Campylobacter* infections

### Teilprojekt 10B: Epidemiologische Aspekte: Risikointervention und Wirtsspezifität (Identifikation Wirtsassoziiierter *Campylobacter*-Varianten)

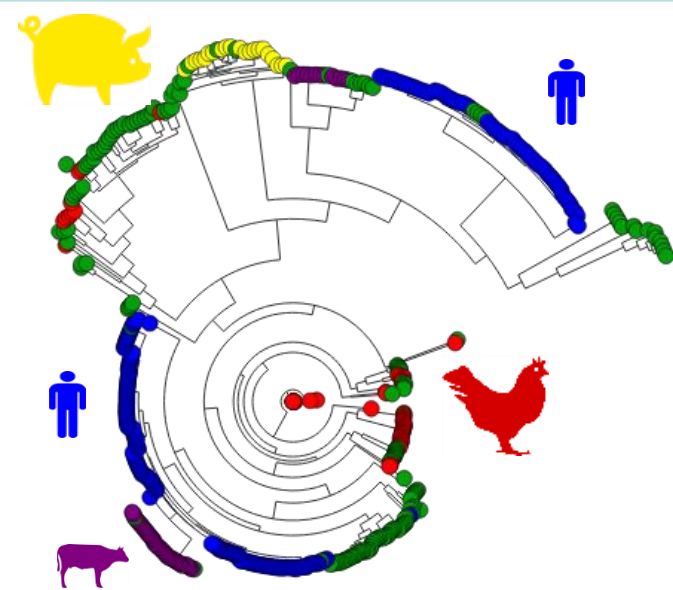
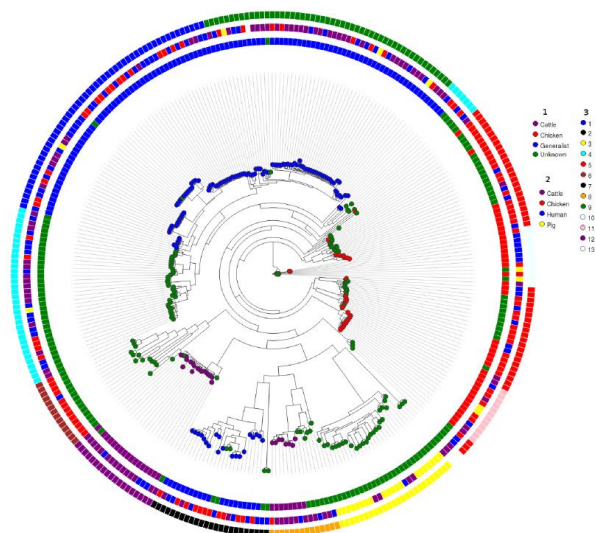
Dr. Torsten Semmler

## Identifikation Wirtsspezifischer Genomabschnitte

Genomweite Assoziations Studien



Core Genome Phylogeny



## Assoziation

- Rind
- Huhn
- Generalist
- Schwein
- Unbekannt

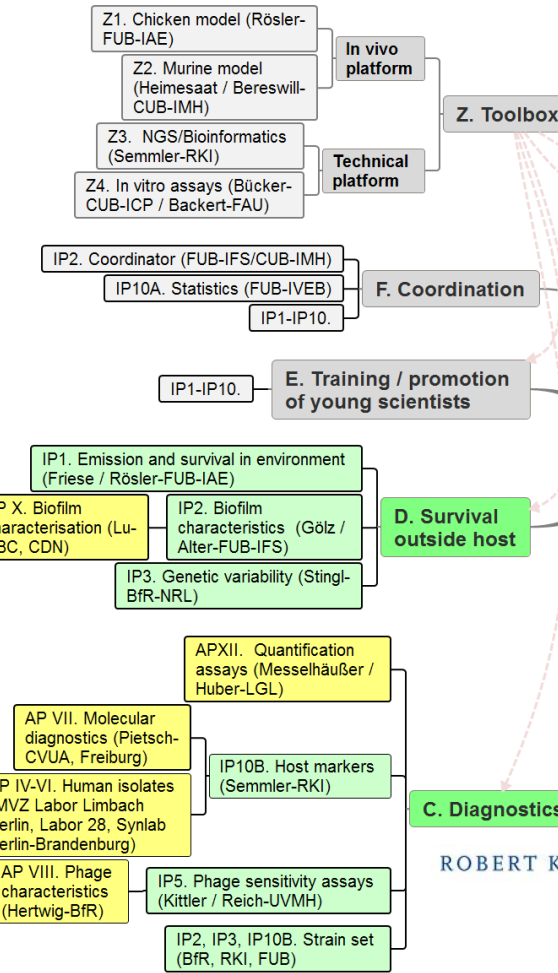


# Der Forschungsverbund PAC-Campylobacter Preventing and combating *Campylobacter* infections

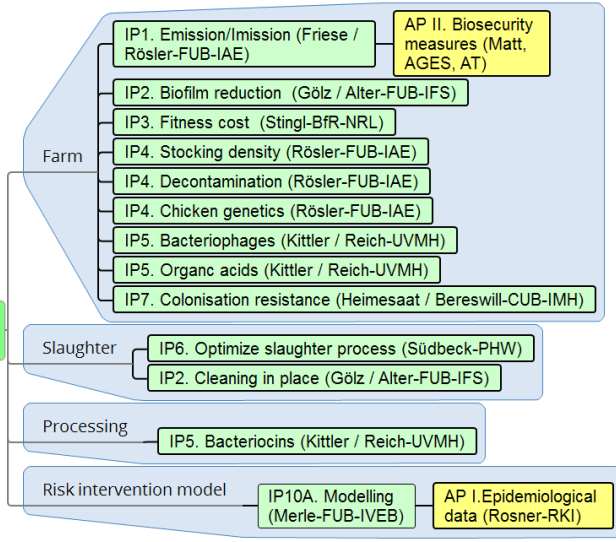
## Interventionen Lebensmittelkette



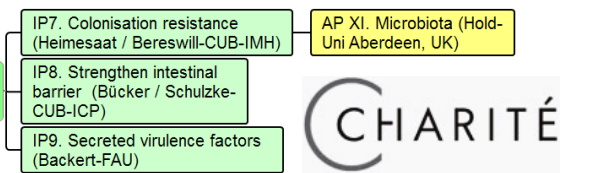
Freie Universität Berlin



### A. Intervention strategies



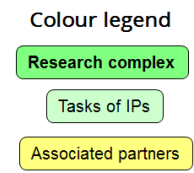
### B. Therapeutic approaches



ROBERT KOCH INSTITUT



> 30 Originalarbeiten publiziert



## Therapie beim Menschen



STIFTUNG TIERÄRZTLICHE HOCHSCHULE HANNOVER  
UNIVERSITY OF VETERINARY MEDICINE HANNOVER, FOUNDATION

# Und wer hat das letzte Wort?

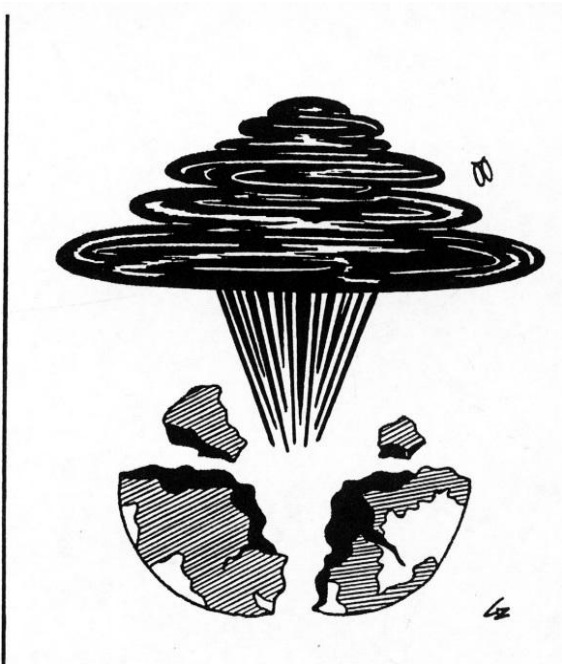


Louis Pasteur  
[1822-1895]

L. Pasteur



ONE HEALTH APPROACH  
**CAMPYLOBACTER**  
Preventing and Combating Infections



**\*Die Mikroben werden das letzte Wort haben!**