

## Ricerca Corrente IZSVE 21/07 Studio quali-quantitativo della flora batterica intestinale del coniglio mediante PCR Real-Time

**Responsabile scientifico:** dott. Fabrizio Agnoletti

### Abstract

Il microbiota intestinale costituisce un complesso ecosistema di microrganismi che risulta essenziale per il corretto mantenimento delle funzioni fisiologiche dell'ospite; è infatti coinvolto nella modulazione del sistema immunitario, nella degradazione e assorbimento di sostanze nutritive e anche nella prevenzione della proliferazione di batteri patogeni. Alterazioni degli equilibri fra le diverse specie batteriche e la riduzione della biodiversità intestinale sono infatti causa di patologia enterica che rappresenta una delle principali problematiche sanitarie del coniglio allevato intensivamente. Studi semiquantitativi della flora hanno dimostrato che nel tratto gastrointestinale degli animali vi è un numero totale di batteri  $>10^{14}$  cellule; tali microrganismi sono suddivisi in più di 40 generi e qualche centinaio di specie; tuttavia solo il 30-40% di queste ultime risultano coltivabili *in vitro*. Tale limite è dovuto essenzialmente alla necessità di lavorare in condizioni di stretta anaerobiosi, considerato che l'80% dei batteri intestinali del coniglio appartiene a specie anaerobiche obbligate, e/o all'esigenza di terreni di coltura molto complessi.

Tutto ciò ha reso difficoltoso lo studio dell'ecosistema intestinale che risulta ancora in gran parte sconosciuto; è ormai chiaro, tuttavia, che questo studio è necessario per elaborare strategie efficaci per la prevenzione dei disordini intestinali. In campo umano metodi biomolecolari, fra cui la Real-Time PCR, sono stati utilizzati efficacemente a questo scopo; in campo veterinario, ed in particolar modo per il coniglio, tuttavia, le conoscenze sono ancora limitate.

Il presente studio si propone quindi di mettere a punto dei protocolli di biologia molecolare, in particolar modo basati sulla Real-Time PCR, per la definizione quali-quantitativa della flora batterica intestinale del coniglio. Tali protocolli verranno poi utilizzati per la determinazione di parametri di normalità in diverse fasce di età; lo studio delle loro variazioni in corso di patologia enterica verrà impiegato per pervenire quindi ad

una diagnosi rapida e strumentale di patologia. Tali risultati potranno poi essere la base di partenza per indagare l'impatto di terapie farmacologiche sulla flora enterica dell'animale trattato o per lo studio dell'effetto di variazioni della dieta sul microbiota intestinale. Il coniglio, inoltre, rappresenta un modello sul quale mettere a punto aspetti metodologici successivamente applicabili a specie zootecniche diverse.

Gli obiettivi del progetto sono i seguenti:

Sviluppo e validazione di protocolli in Real-Time PCR per l'identificazione di genere o specie e la quantificazione dei principali microrganismi presenti nel contenuto intestinale del coniglio.

Definizione dei parametri di distribuzione normale dei microrganismi in correlazione con l'età dell'animale.

Valutazione della variazione della quantità e del tipo di microrganismo presente in corso di patologia enterica e scelta dei cut off per la definizione delle principali patologie enteriche