

P060

Batteriologia

COLTUROMICA: ISOLAMENTO DI BATTERI DA CAMPIONI FECALI OTTENUTI DA DONATORI PER INFUSIONE DI MICROBIOTA INTESTINALE

G. Quaranta¹, D. Nagel¹, R. Graffeo¹, F. Paroni Sterbini¹, S. Paoletti¹, G. Spinelli¹, S. Primus², M. Sanguinetti¹, L. Masucci¹

¹ISTITUTO DI MICROBIOLOGIA, FONDAZIONE POLICLINICO "A. GEMELLI", UCSC, ROMA

²SCUOLA PROVINCIALE SUPERIORE DI SANITA', UCSC, BOLZANO

INTRODUZIONE

Il microbiota intestinale umano è composto da circa 10^{13} - 10^{14} microrganismi. Data la sua complessità, viene considerato un vero e proprio organo con funzioni quali la fermentazione di residui alimentari non digeribili, regolazione dell'omeostasi del sistema immunitario e protezione contro i patogeni. In questo studio è stato valutato il microbiota intestinale di due donatori di feci candidati a procedure di Trapianto di Microbiota Fecale (FMT) in pazienti con infezione da *C. difficile* (CDI), mediante colturomica.

METODI

Sono stati selezionati due soggetti per la donazione a due pazienti affetti da episodi recidivanti di CDI. Per l'analisi colturomica è stato utilizzato un quantitativo di 30g di campione fecale sciolto e risospeso in 30 ml di soluzione fisiologica. Si è proceduto con la fase di filtrazione e suddivisione in tre aliquote poi centrifugate. I tre pellet sono stati risospesi in 10 ml di BHI, 5ml di Brucella Broth e 5 ml di Rumén. 5ml di BHI sono stati inoculati in quattro flaconi di emocolture pediatriche (2,5ml ciascuno), 5ml di Brucella Broth e di Rumén in quattro flaconi di emocolture anaerobie (2,5ml ciascuno). I flaconi sono stati incubati a 37°C per due settimane. Le condizioni di crescita adottate sono state: aerobiosi, anaerobiosi, microaerofilia. Dopo 7 e 15 giorni i campioni sono stati seminati su: TSA Agar, McConkey Agar, CNA Agar, Schaedler Agar. Trascorsi i periodi di incubazione, le colture sono state analizzate e ogni differente colonia è stata isolata sui medesimi terreni. Successivamente si è passato all'identificazione delle specie microbiche mediante spettrometria di massa MALDI-TOF.

RISULTATI

L'approccio colturale ha permesso di isolare nei donatori un gran numero di specie batteriche, quali: *Acidaminococcus* intestini, *Alistipes onderdonkii*, *Alistipes finegoldii*, *Bacteroides uniformis*, *Bifidobacterium longum*, *Clostridium scindens*, *Clostridium hathewayi*, *Flavonifractor plautii*, *Gordonia rubripertincta*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus parabuchneri*, *Parabacteroides distasonis*, *Ruminococcus gnavus*.

CONCLUSIONI

Per la valutazione del microbiota intestinale l'analisi metagenomica rappresenta l'approccio dotato di maggiore sensibilità. Nonostante ciò la caratterizzazione dei singoli ceppi, in termini di sensibilità agli antibiotici, può essere eseguita soltanto dopo l'isolamento del microrganismo. Ciò rende la colturomica un approccio di grande rilevanza da affiancare a quello molecolare. Inoltre, nel protocollo FMT la sospensione da infondere non è caratterizzata dal punto di vista delle specie batteriche presenti in essa. La colturomica consentirebbe di ottimizzare il fattore sicurezza permettendo di infondere batteri precedentemente coltivati e caratterizzati.