

**APPROCCI INNOVATIVI PER L'IDENTIFICAZIONE DI SPECIE DI LATTOBACILLI: STUDIO DEI METABOLITI MEDIANTE SPETTROSCOPIA DI RISONANZA MAGNETICA (1H-RMN)**

C. Foschi<sup>1</sup>, L. Laghi<sup>3</sup>, C. Parolin<sup>2</sup>, B. Giordani<sup>2</sup>, M. Compri<sup>1</sup>, R. Cevenini<sup>1</sup>, B. Vitali<sup>2</sup>, A. Marangoni<sup>1</sup>

<sup>1</sup>DIMES, Università di Bologna, Bologna, Italia

<sup>2</sup>Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie, Università di Bologna, Bologna, Italia

<sup>3</sup>Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Università di Bologna, Bologna, Italia

**INTRODUZIONE**

I lattobacilli rappresentano un ampio genere di microrganismi anaerobi Gram positivi di forma cocco-bacillare. Essi risiedono in differenti regioni anatomiche umane dove svolgono un ruolo chiave nel mantenere l'omeostasi microbica attraverso effetti diretti e capacità immuno-modulanti.

Scopo di questo lavoro è stato quello di utilizzare lo studio dei metaboliti batterici tramite spettroscopia di risonanza magnetica nucleare (1H-RMN), come approccio innovativo per l'identificazione di specie di lattobacilli.

**METODI**

Un totale di 40 ceppi di lattobacilli di diversa origine sono stati inclusi nello studio. L'identificazione di specie, ottenuta mediante sequenziamento del gene 16s rRNA ha permesso di identificare 7 *L. crispatus*, 7 *L. gasseri*, 5 *L. acidophilus*, 5 *L. delbrueckii*, 2 *L. vaginalis*, 2 *L. reuteri*, 6 *L. plantarum*, 1 *L. pentosus*, 2 *L. rhamnosus*, 2 *L. casei/paracasei* e 1 *L. brevis*. L'analisi metabolica in 1H-RMN è stata eseguita con lo spettrometro AVANCE III (Bruker) sia sull'intero set di metaboliti intracellulari, dopo opportuna lisi batterica, sia sul gruppo di metaboliti extracellulari. Partendo dal dendrogramma basato sulle sequenze del gene 16s rRNA, i lattobacilli sono stati suddivisi in 7 gruppi e le differenze nella composizione del metaboloma sono state studiate con opportuni test statistici.

**RISULTATI**

L'analisi in 1H-RMN ha permesso di identificare 30 e 17 molecole nel metaboloma extracellulare e intracellulare, rispettivamente. Tali molecole erano rappresentate prevalentemente da aminoacidi, alcoli, monosaccaridi e acidi organici. I diversi gruppi di lattobacilli hanno mostrato complessivamente lo stesso tipo di metaboliti ma con significative differenze per quanto riguarda la concentrazione di singole molecole. In particolare, 4 molecole nel metaboloma extracellulare (acetoina, acetone, piruvato, glucosio) e 8 in quello intracellulare (AMP, lattato, lisina, NAD<sup>+</sup>, propionato, succinato, uracile e valina) hanno mostrato una differenza statisticamente significativa. Ad esempio, il gruppo dei *L. crispatus* ha mostrato il maggior consumo di glucosio ( $P=1 \times 10^{-3}$ ) mentre la produzione di lattato è apparsa più significativa per le specie *L. casei*-*L. paracasei*-*L. rhamnosus* ( $P=1 \times 10^{-3}$ ).

**CONCLUSIONI**

L'analisi metabolomica ha permesso di identificare metaboliti marker caratteristici di alcuni gruppi di lattobacilli, che potrebbero chiarire i meccanismi che stanno alla base dell'effetto antimicrobico svolto da alcune specie.