

**STUDIO IN VITRO DELL'ATTIVITA'ANTIMICROBICA DI LATTOBACILLI VAGINALI NEI CONFRONTI DI CHLAMYDIA TRACHOMATIS**

P. Nardini<sup>1</sup>, A. Marangoni<sup>1</sup>, C. Foschi<sup>1</sup>, R.A. Nahoui Palomino<sup>2</sup>, B. Giordani<sup>2</sup>, B. Vitali<sup>2</sup>, R. Cevenini<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

**INTRODUZIONE**

E' noto che un'alterazione del microbioma vaginale con riduzione del numero e della varietà di lattobacilli è associata a maggior rischio di infezioni genitali sessualmente trasmesse. Tra queste l'infezione da Chlamydia trachomatis si distingue non solo per l'elevata incidenza, ma anche per la frequenza e la severità delle sequele. Pochissimi sono ad oggi gli studi mirati a indagare i meccanismi di interazione tra lattobacilli e Chlamydia.

Il nostro studio in vitro si propone di analizzare l'interazione diretta tra diversi ceppi di lattobacilli o loro insieme di metaboliti e i corpi elementari di C. trachomatis prima del loro ingresso nelle cellule (killing extracellulare).

**METODI**

Diciassette ceppi di lattobacilli sono stati isolati da tamponi vaginali di donne sane in età fertile e coltivati in brodo MRS over-night. Dopo determinazione turbidimetrica della concentrazione di lattobacilli, le colture sono state centrifugate per separare il pellet batterico dal surnatante. Abbiamo quindi messo a contatto i pellet e i corrispettivi surnatanti alle diverse concentrazioni di  $5 \times 10^7$ ,  $5 \times 10^6$  e  $5 \times 10^5$  con corpi elementari (CE) di Chlamydia, sierotipo D ( $5 \times 10^3$  CFU). Sono stati valutati 3 diversi tempi di contatto (7, 15 e 60 minuti) a 37°C. Al termine di ogni incubazione abbiamo centrifugato la sospensione per eliminare le cellule batteriche e inoculato il surnatante contenente i CE in tubini contenenti un vetrino sterile su cui erano state coltivate cellule HeLa a confluenza del 100% circa. Dopo 48 ore di incubazione i vetrini sono stati fissati e colorati con anticorpo monoclonale diretto contro LPS di Chlamydia coniugato con fluoresceina (Meridian, Cincinnati, OH, USA). Abbiamo contato il numero di inclusioni al microscopio a fluorescenza in 30 campi (ingrandimento 200x) e confrontato i valori medi con quelli di colture cellulari infettate con la stessa quantità di CE in assenza di contatto con lattobacilli. I risultati sono stati analizzati con test ANOVA. Un valore di  $p < 0.05$  è stato considerato statisticamente significativo.

**RISULTATI**

Abbiamo isolato 8 ceppi di Lactobacillus crispatus (BC1-BC8), 6 di Lactobacillus gasseri (BC9-BC14) e 3 di Lactobacillus vaginalis (BC15-BC17). Tutti i surnatanti eccetto BC10 e BC17 hanno mostrato una riduzione statisticamente significativa di inclusioni alla concentrazione più alta, maggiormente evidente dopo un tempo di contatto di 60 minuti. Tale riduzione non si mantiene per le concentrazioni inferiori. Tra i pellet di lattobacilli vivi nessuno è stato in grado di ridurre significativamente l'infettività di CT ai tre tempi.

**CONCLUSIONI**

I nostri risultati suggeriscono che i lattobacilli giochino un ruolo protettivo nei confronti dell'infettività di CT attraverso la produzione di sostanze rilasciate nell'ambiente circostante piuttosto che attraverso dirette interazioni meccaniche. Tale effetto è probabilmente ceppo-specifico ed evidente solo ad elevate concentrazioni. Ulteriori studi sono in corso per valutare quali siano i metaboliti dei lattobacilli maggiormente implicati nell'azione diretta nei confronti di Chlamydia.