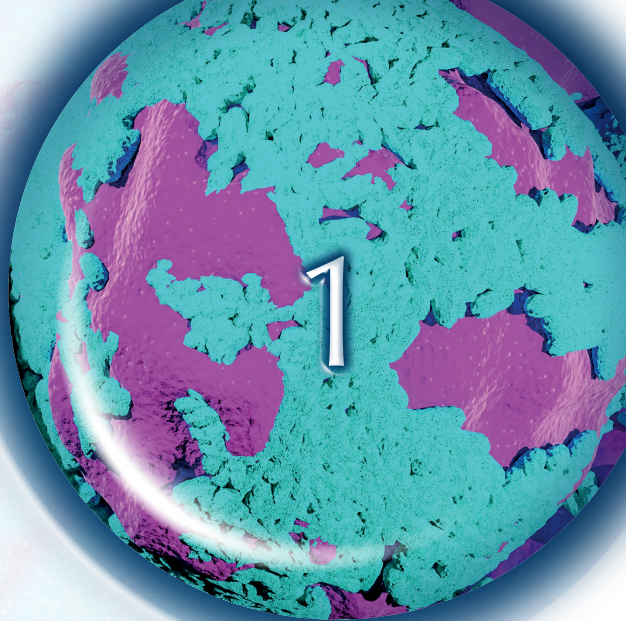


Il microbiota generale e il microbiota vaginale (CST e biodiversità)

Emanuela Gloria Sampugnaro



IL MICROBIOTA

Il microbiota è costituito dai microrganismi (batteri, virus, funghi e parassiti) presenti in un organismo vivente pluricellulare, che vivono in simbiosi con esso non danneggiandolo. Il microbioma rappresenta invece l'intero patrimonio genetico del microbiota. A tale definizione spesso si associa un aggettivo e nel caso dell'uomo, il più corretto è certamente l'attributo "umano", poiché include tutta la popolazione microbica presente all'interno e all'esterno del corpo umano. Il microbiota umano comprende circa un trilione di microrganismi che si trovano in diversi distretti corporei dove svolgono importanti funzioni. Oltre ad essere strettamente correlato a vari aspetti della fisiologia e del metabolismo dell'ospite, il microbiota umano "supporta" l'ospite in alcune attività chiave come l'assorbimento di sostanze nutrienti, la maturazione del sistema immunitario, e tutti i meccanismi di difesa contro germi patogeni. Ciò avviene generalmente quando il microbiota si trova in uno stato di salute e di equilibrio con esso definita eubiosi. In contrasto a questa situazione oggi sappiamo che l'inizio, ma anche la progressione di alcune patologie, fra cui anche quelle oncologiche, scaturisce proprio da una

rottura di quel delicato, ma nello stesso tempo stretto, rapporto fra l'ospite e microbioma definita disbiosi.

Esiste una grande diversità fra le caratteristiche dei principali siti anatomici più studiati del microbiota umano (intestino, cavità orale, pelle e vagina, solo per citare i più noti) sia in termini di composizione che di meccanismi molecolari (produzione di proteine, enzimi, microproteine) attraverso i quali ogni microbiota interagisce con l'ospite, con conseguenze differenti sullo "stato di benessere".

La vasta e complicata natura del microbiota umano (basti pensare che il microbiota umano di due individui diversi può differire anche dell'80-90% a differenza del patrimonio genetico umano che invece fra due individui può avere fino al 99,9% di aspetti comuni) ha portato alla necessità di un approccio multidisciplinare fra gli esperti che lo studiano: microbiologi, genetisti, matematici, statistici, ingegneri, biologi, nutrizionisti, immunologi, e varie figure specialistiche della medicina.¹

Lo *Human Microbiome Project* è stata una grande iniziativa promossa proprio nella direzione di far convergere differenti aree di interesse verso lo studio del microbiota umano, investigandone aspetti differenti come specie,

composizione, effetti metabolici e interazioni esistenti fra diversi microbioti.

Lo studio del microbioma umano è sicuramente una sfida impegnativa, ma le correlazioni esistenti con lo stato di salute e fra ciascuno dei principali microbioti e le più importanti malattie ad esso correlate sono sempre più evidenti: morbo di Crohn con altre patologie infiammatorie intestinali e disordini metabolici in caso di disbiosi del microbiota intestinale; vaginosi batterica, parto pretermine e carcinoma della cervice uterina nella disbiosi del microbiota vaginale; periodontiti in quella del microbiota orale e dermatite atopica per il microbiota della pelle.¹

Uno degli obiettivi dello *Human Microbiome Project*, sin dal suo avvio circa 15 anni fa, è stato quello di conoscere e studiare la composizione del microbiota umano dei vari distretti corporei (intestino, pelle, polmone, cavità orale, e ambiente vaginale) al fine di identificare in ciascuno di essi, quelle condizioni di “disbiosi” (di alterazione cioè della condizione di benessere) che possano rappresentare dei veri e propri fattori di rischio per le patologie, potendo in questo modo agire di anticipo, identificando così dei nuovi target terapeutici prima che si inneschi la patologia.

Lo *Human Microbiome Project* (HMP) era un’iniziativa di ricerca del *National Institutes of Health* (NIH) degli Stati Uniti per migliorare la comprensione della flora microbica coinvolta nella salute e nelle malattie umane. La prima fase (HMP1) iniziata nel 2007, si è concentrata sull’identificazione e la caratterizzazione della flora microbica umana. La seconda fase, nota come *Integrative Human Microbiome Project* (iHMP), iniziata nel 2014 e conclusa nel 2016, ha avuto l’obiettivo di generare risorse per caratterizzare il microbioma e chiarire il ruolo dei microbi negli stati di salute e malattia.

Un ruolo fondamentale in questi delicati processi è stato quello della metagenomica,

cioè quella branca della genomica che studia simultaneamente e nel loro ambiente naturale una comunità complessa di microorganismi presenti in un campione, evitando la crescita su terreni selettivi ed eventuali anomalie conseguenti.

Infatti, la crescita su terreni di coltura permette di identificare solo l’1-3% dei microorganismi realmente presenti in campioni naturali, perdendo il 97-99% dell’informazione a causa delle loro particolari condizioni di crescita, come nutrienti specifici e condizioni di anaerobiosi. Il superamento delle tecniche di microbiologia classica per identificare i microorganismi prevede l’uso del DNA genomico totale estratto da una matrice di varia natura e il sequenziamento del 16S rDNA. In questo modo è possibile studiare le comunità batteriche residenti in habitat differenti. L’analisi metagenomica che permette l’analisi simultanea di una comunità di microorganismi, ha reso possibile identificare ogni singolo microorganismo facente parte della comunità, ma soprattutto, ha permesso di studiare come i vari microorganismi interagiscono tra loro e con l’ambiente (ecologia microbica) e, non in ultimo, studiare le funzioni specifiche di quella comunità.

Un grande contributo è stato fornito da Carl Woese, che già nel 1967 identificò il dominio degli Archea che sono stati così separati dai Bacteria. Woese utilizzò tecniche di filogenesi molecolare applicata all’RNA 16S ribosomiale. Parte da qui l’era dell’analisi molecolare attraverso lo studio della sequenza del gene che codifica la subunità ribosomiale minore (16S) oggi considerata la sequenza principe per la classificazione di batteri e Archea. Solo una decina di anni dopo grazie alle tecniche di amplificazione (PCR), è stata possibile una rapida accelerazione nello studio dei microorganismi, mediante tecniche molecolari. La svolta è avvenuta grazie alla messa a punto della prima reazione di sequenziamen-

to da parte di Frederick Sanger nel 1977, nonché all'applicazione delle tecniche di PCR al sequenziamento del DNA.

Il gene ribosomiale 16S rRNA è stato scelto per l'identificazione delle comunità microbiche, poiché si tratta di un gene presente in tutti i batteri con un basso tasso di evoluzione, ed è costituito da 10 regioni conservate e 9 regioni ipervariabili. Ed è proprio sull'identificazione delle sequenze ipervariabili che si basa la moderna tassonomia batterica. Il tasso di variazione delle sequenze dei geni che codificano per l'rRNA è di gran lunga inferiore a quello degli altri geni, di conseguenza è possibile determinare le relazioni filogenetiche su ampie distanze evolutive. Questo tipo di RNA funziona, quindi, come un orologio molecolare e consente accurate determinazioni delle distanze filogenetiche. Da quando Lane *et al.* per primi hanno descritto l'uso del gene 16S rRNA per l'identificazione e la classificazione dei microorganismi non coltivabili dell'ambiente, l'amplificazione mediante PCR, il clonaggio e il sequenziamento sono state le tecnologie primarie usate per identificare i procarioti provenienti da vari ecosistemi. Ad oggi sono state depositate in un database 3 milioni di sequenze batteriche e 54 mila sequenze di Archea della regione 16S. (RDP Release 11, Update 3, settembre 2014 <http://rdp.cme.msu.edu/index.jsp>).

In filogenesi una “Operational Taxonomic Unit” (OTU) consiste in una definizione operativa tassonomica di una specie o di un gruppo di specie, spesso usata quando sono disponibili solo dati di sequenza del DNA, basandosi sulla similarità di sequenza. L'assegnazione tassonomica si basa sulla sequenza delle 9 regioni ipervariabili del gene 16S rRNA. Specie, genere, famiglia e phylum sono convenzionalmente definiti con un valore di distanza filogenetica di 0.03, 0.05, 0.10 e 0.20 rispettivamente, basandosi sulla lunghezza intera (circa 1540 bp) della sequenza del gene

16S rRNA. Sempre più spesso per l'analisi globale dell'abbondanza e della diversità presente in microbiomi complessi sono utilizzate le piattaforme NGS (*next-generation sequencing*). Le singole regioni ipervariabili così sequenziate, sono raggruppate in OTUs, calcolando lo stesso valore di distanza convenzionale che si usa per la sequenza integrale del gene 16S. Pertanto, c'è una cruciale necessità di identificare le regioni ipervariabili più adatte, a seconda della matrice da analizzare, che possono fornire analisi affidabili del microbiota. Quindi, è ormai provato che le diverse regioni ipervariabili non forniscono sempre gli stessi risultati se applicate a campioni biologici differenti. In ogni matrice, a seconda della comunità batterica vanno identificate le regioni ipervariabili più informative.²

Microbiota vaginale

Fra i vari microbioti umani, sicuramente quello vaginale rappresenta uno dei più studiati proprio per l'importanza che l'ambiente vaginale riveste nel garantire lo stato di salute e benessere genitale e perché esso rappresenterebbe una porta di ingresso per patogeni (virus, batteri, funghi) coinvolti in importanti meccanismi sia infiammatori che carcinogenetici, che riguardano l'apparato genitale. Attualmente si ritiene che circa 100-200 specie batteriche siano state trovate associate al microbiota vaginale. Fra tutti il genere *Lactobacillus* come vedremo dettagliatamente in seguito, rappresenta quello dominante ed è associato alla condizione di “benessere vaginale”.

L'epitelio vaginale, sensibile all'azione degli estrogeni durante l'età fertile, è costituito da un epitelio pluristratificato non cheratinizzato ricoperto da uno strato di fluido cervico-vaginale, che in condizioni di benessere è ricco di batteri capaci di degradare il glicogeno prodotto dell'epitelio vaginale e trasformarlo in acido lattico, contribuendo a man-

tenere il pH vaginale a valori di acidità. È proprio con produzione di acido lattico che questi batteri svolgono il loro ruolo protettivo nei confronti di altri patogeni opportunisti e infezioni vaginali. L'acidità del pH vaginale è già di per se un fattore che riduce la capacità di proliferazione di altre specie batteriche diverse dai lattobacilli, non in grado di sopravvivere in condizioni di acidità.

Diversi autori nel corso degli anni, dal 1960 hanno cercato di dimostrare con i loro studi il fondamentale ruolo sia in termini qualitativi (protettivi) svolto dai lattobacilli per il benessere vaginale che quantitativi chiedendosi se veramente i Lactobacilli fossero il principale gruppo di popolazione batterica presente in vagina, e su questo punto pur con pareri non sempre unanimi, si è convenuto che nelle secrezioni vaginali in genere è possibile riscontare una popolazione batterica compresa fra 10^7 - 10^8 CFU/ml.

Se nel corso degli anni più volte è cambiata la classificazione dei lattobacilli, ciò che ha veramente fatto la differenza nell'ampliare le conoscenze sul microbiota vaginale è stata l'introduzione di tecniche colture indipendenti, di identificazione di tipo genetico e più tardi biomolecolare che hanno permesso di riconoscere di specie e ceppi batterici, sicuramente non identificabili continuando ad utilizzare metodi coltura-dipendenti.³

La prima classificazione dei lattobacilli è stata quella che si basava sul tipo di fermentazione glucidica e sulla composizione dei metaboliti prodotti. In base a questa classificazione i lactobacilli erano distinti in *omofermentativi*, produttori quasi esclusivamente acido lattico (oltre il 90% dei prodotti di fermentazione), oppure *eterofermentativi*, responsabili in questo caso della fermentazione eterolattica, con secrezioni composte con rapporto 1:1:1 di acido lattico, anidride carbonica ed etanolo. Durante la fermentazione, la competizione tra questi diversi ceppi di lactobacilli deter-

mina in sostanza il contenuto prevalente in acido lattico. In relazione al metabolismo, le specie di *Lactobacillus* possono essere divise in tre gruppi:

- Omofermentativi obbligati (Gruppo I).
 - *L. acidophilus*, *L. delbrueckii*, *L. helveticus*, *L. salivarius*.
- Eterofermentativi facoltativi (Gruppo II).
 - *L. casei*, *L. curvatus*, *L. plantarum*, *L. sakei*.
- Eterofermentativi obbligati (Gruppo III).
 - *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. fermentum*, *L. reuteri*.

Fra i primi a interessarsi di Lattobacilli vaginali fu nel 1892, un ginecologo tedesco Albert Doderlein, il quale descrisse per primo nella vagina batteri gram positivi che presero appunto il nome di "bacilli di Doderlein" classificati più tardi nel 1928 come genere *Lactobacillus acidophilus*. In questi 128 anni che ci separano da lui, tante cose sono cambiate.

L'introduzione negli anni '70 delle nuove tecniche genotipiche di identificazione batterica ha permesso di introdurre nuove classificazioni dei lactobacilli, in cui non solo sono state identificate le specie batteriche ma ancor di più i diversi ceppi, grazie all'impegno delle tecniche di sequenziamento di nuova generazione come il sequenziamento del gene 16S rRNA precedentemente esposte.

Nei primi lavori il concetto comune che emerge sin da subito è quello che il microbiota vaginale è costituito da complesse comunità microbiche con centinaia di differenti specie batteriche in cui i lattobacilli tendono a predominare. La prevalenza quantitativa (dominanza) di una specie batterica rispetto alle altre è garanzia di eubiosi.

Nel 1999 Antonio, Hiller parlano per primi di *L. crispatus* e *L. jensenii*, mentre dobbiamo aspettare il 2003 per sentire cominciare a parlare di *L. iners*. Gli studi portati avanti da vari autori in questi ultimi 20 anni hanno

permesso di identificare dei “vaginotipi” che permettono di classificare il microbiota vaginale delle donne tenendo conto della specie batterica dominante.

Ravel nel 2011 identifica per primo i cinque principali gruppi di popolazioni vaginali a cui viene assegnato il nome di *Community States Types* (CSTs). Di queste CST la I, II, III e V hanno una composizione prevalentemente lattobacillare e sono caratterizzate da valori di pH e *Nugent Score* bassi. La composizione delle CST è rispettivamente caratterizzata dal prevalere di *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. iners* e *L. jensenii*. Mentre la CST IV è costituita prevalentemente da batteri anaerobi come *Gardnerella*, *Prevotella*, *Dialister*, *Atopobium*, *Megasphaera*, *Sneathia*, *Aerococcus*, *Fingoldia*, e *Mobiluncus* e bassa concentrazione (o addirittura

assenza) di lattobacilli.⁴ Oggi è piuttosto unanime il parere della maggior parte dei lavori scientifici, nel considerare *L. crispatus* come il più protettivo fra i lattobacilli vaginali e quello maggiormente presente nella vagina di donne sane. La comprensione di tale aspetto risulterà maggiore quando vedremo nel dettaglio le proprietà dei lattobacilli (produzione di acido lattico nelle due forme destrogira e levogira, produzione di batteriocine, produzione di perossido di idrogeno, ecc.) che *L. crispatus* comprende e che lo differenziano da tutti gli altri e soprattutto da *L. iners* che pur essendo quello più geneticamente vicino al *crispatus*, svolge un ruolo fortemente dubbio nel mantenimento del benessere vaginale.³

Un altro concetto chiave introdotto da Ravel nel suo lavoro è quello di dominanza bat-

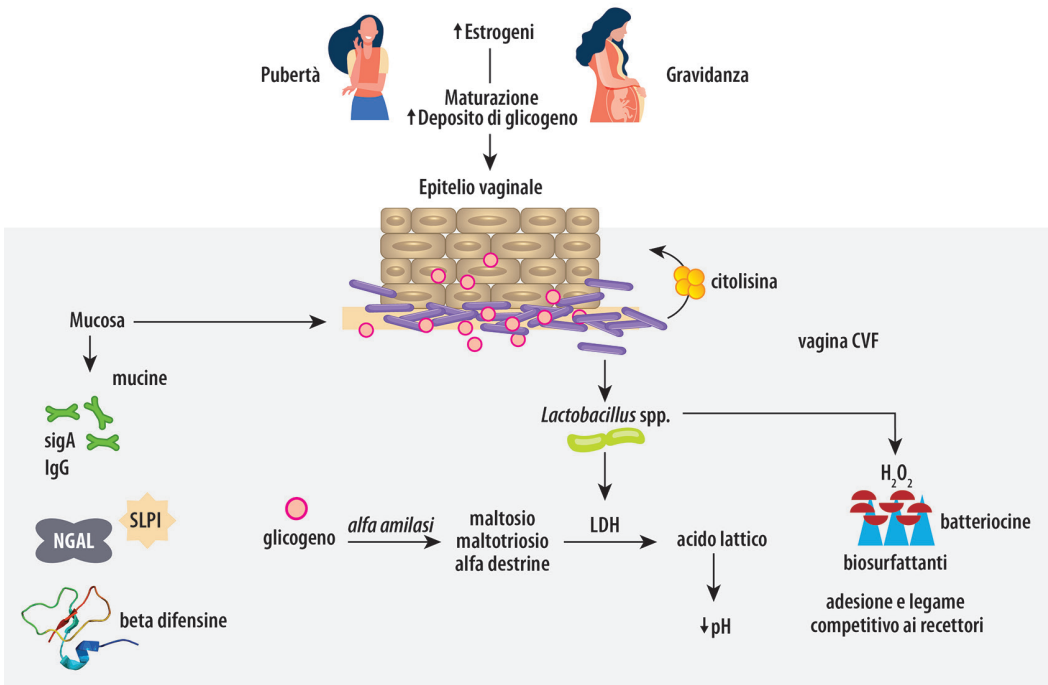


FIG. 1.1 – Alla pubertà e durante la gravidanza, gli elevati livelli di estrogeni favoriscono la produzione e l’accumulo di glicogeno sulla superficie delle cellule epiteliali vaginali. Ciò a sua volta favorisce la sintesi di acido lattico da parte dei lattobacilli con conseguente riduzione dei livelli di pH e sintesi di perossido di idrogeno, batteriocine e biosurfattante.

terica all'interno di una CST. La dominanza di Lattobacilli, a prescindere dalla specie (che ha dimostrato variare nelle diverse razze) determina infatti valori di pH e Nugent score bassi tali da garantire stabilità e benessere alla donna.⁴

Dopo Ravel altri autori hanno apportato delle modifiche alla classificazione dei 5 CST vaginali, distinguendo alcuni fra due sottogruppi di CST IV (A e B) e altri addirittura tre (A, B, C) sottolineando in un gruppo a parte il ruolo di *Gardnerella* come induttore di risposte infiammatorie e citolisi grazie alla produzione di vaginolisina.

La vagina è caratterizzata però da un ecosistema dinamico dove la "dominanza" di lattobacilli è minacciata mensilmente dall'instabilità creata dalle cicliche variazioni ormonali del ciclo mestruale, dalla gravidanza e dai cambiamenti ormonali che si susseguono dalla pubertà alla menopausa⁵ (Fig. 1.1).

Le variazioni ormonali di estrogeni e progesterone influenzano i livelli di pH, la viscosità del muco cervicale, i livelli di glicogeno vaginale.

Sappiamo ormai che la produzione di glicogeno è strettamente correlata ai livelli degli estrogeni nella donna, che hanno un effetto diretto sullo spessore dell'epitelio vaginale. Se dalla pubertà all'età fertile la produzione di glicogeno aumenta in risposta all'incremento della produzione di estrogeni e alle loro fluttuazioni cicliche del ciclo mestruale, facendo così abbassare i livelli di pH, in menopausa la situazione si capovolge, l'epitelio vaginale si assottiglia e al crollo dei livelli di estrogeni circolanti ne consegue un aumento dei valori di pH.

Ai fattori endogeni in grado di influenzare ulteriormente la diversità del microbiota vaginale, si uniscono poi fattori esogeni come abitudini igieniche e attività sessuale. A differenza di quanto accade nell'intestino in cui una aumentata biodiversità è sinonimo di benessere, nel microambiente vaginale invece

l'elevata biodiversità è sinonimo di disbiosi e di potenzialità patologica. Se l'inizio della fase prepuberale è caratterizzata da elevata diversità delle specie batteriche presenti nel microambiente vaginale, la situazione cambia progressivamente al termine della pubertà, quando aumentano i livelli di estrogeni circolanti, aumenta la produzione di glicogeno epiteliale e ciò determina le basi per la prevalenza di lattobacilli e scarsa biodiversità vaginale.⁶ Con l'arrivo del ciclo mestruale la stabilità è nuovamente minacciata, ma l'incremento degli estrogeni nella fase follicolare creerà nuovamente la condizione favorevole della dominanza lattobacillare, differentemente da quanto accade in fase luteinica, in cui il calo estrogenico (pre-mestruale o da gravidanza, qualora sia avvenuta la fecondazione) anticipa l'elevata biodiversità che ritroveremo o durante il ciclo o nella primissima fase della gravidanza (caratterizzata da un potente ruolo antiinfiammatorio del sistema immunitario materno).

In menopausa la variazione di diversità del microbiota vaginale è la seguente: in fase pre e perimenopausale si ha una bassa diversità con prevalente popolazione lattobacillare, mentre in fase post menopausale, il crollo degli estrogeni ristabilisce nuovamente una situazione di elevata diversità. La somministrazione di TOS è in grado di modificare questa situazione, ristabilendo una condizione di stabilità in grado di proteggere la donna in menopausa dalle infezioni vaginali. Questi dati sono stati pubblicati in un recente lavoro pubblicato a marzo 2020 "*Crosstalk Between Female Gonadal Hormones and Vaginal Microbiota Across Various Phases of Women's Gynecological Lifecycle*",⁶ e sottolineano in maniera chiara la stretta correlazione esistente fra i livelli di ormoni circolanti nella donna e la diversità del microbiota vaginale.

La condizione di disbiosi è espressione della presenza sia qualitativa che quantitativa di

specie batteriche anaerobiche diverse dai lattobacilli (*Corynebacterium*, *Gardnerella*, *Prevotella*, *Dialister*, *Atopobium*, *Megasphaera*, *Sneathia*, *Aerococcus*, *Finexgoldia*, e *Mobiluncus*) ed è associata ad una maggiore suscettibilità alle infezioni e outcome riproduttivi negativi.^{5,7}

Già nel 2001 in diversi lavori si comincia a delineare il concetto che nel tratto urogenitale e gastrointestinale i lattobacilli vivono come commensali della flora batterica dove esercitano un ruolo protettivo grazie alla produzione di batteriocine, H₂O₂ e acidi organici.

Se questi concetti valgono per tutte le donne di qualunque specie e razza, lo stesso non possiamo dire della diversa tipologia di batteri che caratterizzano il microbiota vaginale nelle donne di razze ed etnie differenti. Ravel nel 2011, ma ancor prima di lui diversi autori giapponesi fra il 2007 e il 2010, sottolineano come la vagina di donne asiatiche o di donne ispaniche abbia una composizione con prevalenza di lattobacilli differenti rispetto alle donne di razza nera (Fig. 1.2). Nel lavoro di Ravel vengono prese infatti in considerazione gruppi piuttosto simili di donne appartenenti a quattro diverse etnie (bianche, asiatiche, nere e ispaniche). Dai risultati emerge che nelle donne di razza bianca e asiatiche la composizione del microbiota vaginale è costituito prevalentemente da lattobacilli (89,7% e 80,2% rispettivamente) mentre nelle donne di razza nera o ispaniche questa percentuale si riduce (59,6% e 61,9% rispettivamente). Viceversa in questi ultimi due gruppi di pazienti la percentuale microbica maggiore risulta essere costituita da una popolazione non lattobacillare costituita in prevalenza da batteri anaerobi (34% donne ispaniche, 38,9% donne nere, 17,6% donne asiatiche e 9,3% donne bianche) (Fig. 1.2). Que-

sto dato risulta estremamente importante se correlato al concetto che una popolazione microbica prevalentemente lattobacillare è quella in grado di assicurare benessere alla donna, rappresentando un presupposto fondamentale per il concetto di stabilità e difesa da patogeni opportunistici in grado di minacciare il concetto di *healthy* (assenza di sintomi, assenza di infezioni, buon outcome della gravidanza).³ Quale siano le cause di questa differente composizione microbiologica dell'ambiente vaginale non è ben chiaro, ma trattandosi di fattori legati alla razza è facile speculare che possa trattarsi di differenti aspetti genetici in grado a loro volta di poter influenzare il sistema immunitario, e di fattori legati a differenti abitudini in ambito sessuale, igienico-sanitario, e anche alimentare probabilmente.

Ritornando sul concetto di "stabilità" del microbiota vaginale come sinonimo di "benessere vaginale", secondo Ravel le teorie possibili che permetterebbero di spiegare come un CST possa rimanere stabile pur nel dinamismo continuo a cui è sottoposto l'ecosistema vaginale, sono diverse. La più plausibile sembrerebbe quella "di resilienza del CST". Le CST sarebbero in uno stato di *equilibrio dinamico* poiché diversi sono i fattori in grado di influenzare la prevalenza di una popolazione microbica rispetto ad un'altra. Primo fra tutti questi fattori come già precedentemente esposto, sono le variazioni ormonali nel corso

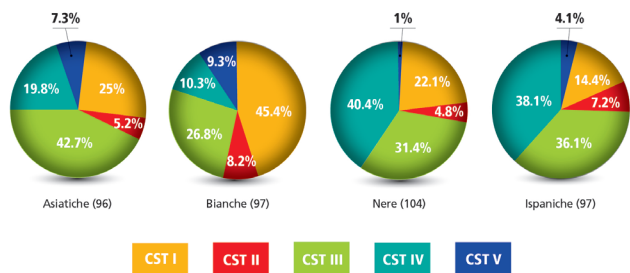


FIG. 1.2 – Composizione del microbiota vaginale, raggruppato nei principali 5 veginotipi, nelle donne di razze differenti.

della vita di una donna sia legate all'età (pubertà, vita fertile, menopausa) sia legate alle fluttuazioni cicliche del ciclo mestruale e della gravidanza.

Gli ormoni sono in grado di svolgere un ruolo chiave sia influenzando direttamente la composizione del microbiota vaginale, sia interferendo nella risposta immunitaria sia innata che adattativa del sistema immunitario dell'ospite.⁶

Kaur *et al.*, in un recentissimo lavoro del 2020, mediante uno studio di metanalisi su 1000 campioni di donne in età riproduttiva, in pubertà, fase mestruale, gravidanza e menopausa, hanno osservato che la struttura e composizione del microbiota vaginale subisce delle notevoli variazioni a partire dal tipo di *phyla* (*Proteobacteria*, *Bacteroides*, *Actinobacteria*, *Firmicutes* e *Fusobacteria*) fino ad arrivare alle variazioni di classe, ordine, famiglia e genere.⁶ In gravidanza, e nelle donne in fase follicolare ad esempio si è riscontrato un aumento sostanziale della presenza di batteri del *phylum Firmicutes*, che invece diminuiscono nelle donne con stati di VB o in quelle in postmenopausa, dove c'è invece una prevalenza di batteri del *phylum Proteobacteria*, *Bacteroides* e *Actinobacteria*.

Durante la fase pre-puberale, il microbiota vaginale è dominato da anaerobi, *E. coli*, e Stafilococchi, e contiene meno glicogeno. Alla pubertà l'aumento dei livelli di estrogeni promuove la maturazione, proliferazione e accumulo di glicogeno a livello delle cellule epiteliali e si assiste al prevalere di batteri del genere *Lactobacillus*. Il glicogeno è catabolizzato, dall'alfa amilasi a maltosio, a maltotriosio e alfa destrine che sono poi metabolizzati ad acido lattico dai *Lattobacilli*. Ciò fa sì che si crei un pH acido (3,5-4,5) indispensabile a sua volta per la crescita di altri *Lattobacilli* a spese di specie batteriche anaerobiche. Con la menopausa la dominanza batterica dei *Lattobacilli* diminuisce ma può essere ancora in

grado di aumentare con l'utilizzo della terapia ormonale sostitutiva.⁵ In gravidanza la stabilità del microbiota vaginale è maggiore, probabilmente per effetto anche degli alti livelli di estrogeni circolanti, e ha il ruolo importantissimo di proteggere l'unità fetoplacentare dall'effetto negativo di patogeni opportunisti. In gravidanza i lattobacilli aumentano soprattutto nel II-III trimestre.

Durante il ciclo mestruale invece, si creano delle condizioni molto simili a quelle della prima fase della pubertà e alla vaginosi batterica. La presenza del sangue mestruale comporta una variazione del pH vaginale che tende ad aumentare, favorendo così la proliferazione di batteri anerobi, normali commensali vaginali, che si adattano a vivere meglio in queste condizioni, a scapito dei lattobacilli. È anche vero però, che la presenza di una popolazione lattobacillare stabile, prima del ciclo, fa sì che aumentino i livelli di una sostanza importante la NGAL (*Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin*) che ha un ruolo importantissimo, quello di inibire la crescita di batteri in grado di metabolizzare il ferro presente in maggiori concentrazioni per la presenza del sangue mestruale. Questo meccanismo di controllo è fondamentale per garantire la stabilità dell'ecosistema vaginale anche in presenza di un evento così perturbante come il ciclo mestruale.⁶ La composizione e la struttura di una CST può cambiare e anche mutare transitoriamente verso un'altra CST meno favorevole in risposta a perturbazioni esterne (ciclo mestruale, rapporto sessuale, ecc.). Si possono creare infatti anche transitoriamente, delle condizioni in cui una specie batterica può sopravvivere meglio di un'altra "differenziazione condizionale".⁸ Sarà poi la resistenza e resilienza (intesa proprio come capacità di adattamento al cambiamento) di una comunità vaginale a influire sulla durata e entità del mutamento transitorio, garantendo un ritorno più rapido alla condizione di parten-