
Terapia Batterica
di Precisione
in GINECOLOGIA

In collaborazione con MICROBIOMA.IT

Editore **Clorofilla srl - editoria scientifica**

Direttore responsabile
Massimo Barberi

Art Director
Stefania Maffoni

Direzione e redazione
Clorofilla srl - editoria scientifica
Via Podgora 12A, 20122 Milano
Tel 02 39523784 - www.clorofillaweb.it
Iscrizione al ROC n. 25358

Stampa
Dimensione Grafica srl
Via della Ricerca Scientifica 15/5
41012 Carpi (MO)

Copyright © 2025
Questa pubblicazione è protetta da copyright. Tutti i diritti sono riservati. Sono vietate la riproduzione e l'archiviazione in qualsiasi forma e qualsiasi mezzo elettronico, compresa la fotocopiatura, senza autorizzazione scritta dell'Editore.

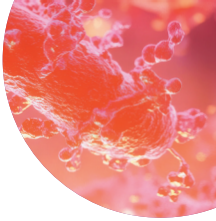
Immagine di copertina di Adobe Stock: Chingiz.
Immagini interne di Adobe Stock: Julia, Four888, Dr_Microbe, ChannelPIC,

Nota dell'Editore
La realizzazione di questa pubblicazione è stata effettuata con la massima accuratezza. Ciò nonostante, l'Editore non è responsabile per errori, omissioni e/o inesattezze e per qualunque conseguenza derivata dalle informazioni ivi contenute.
Per qualsiasi immagine riprodotta e per cui non si sia ottenuta autorizzazione alla riproduzione, l'Editore è disponibile al riconoscimento dei diritti di copyright in capo agli aventi diritto.

Le informazioni riportate nella pubblicazione non sostituiscono le indicazioni contenute nel Riassunto delle Caratteristiche di Prodotto dei prodotti menzionati.

Pubblicazione fuori commercio riservata agli operatori sanitari.

Questa pubblicazione è stata realizzata grazie al contributo non condizionato di PharmExtracta®



Prefazione

La salute femminile è una dimensione complessa e affascinante, influenzata da molteplici fattori biologici, ormonali e ambientali. Tra questi, il microbioma vaginale si erge come un protagonista silenzioso ma fondamentale, un ecosistema di microrganismi che protegge e regola il benessere ginecologico e riproduttivo.

Questa pubblicazione nasce dalla necessità di esplorare il microbioma vaginale non soltanto come elemento cruciale per la prevenzione e la cura di patologie comuni come la vaginosi batterica, le cistiti e le infezioni da Candida, ma anche come nuovo orizzonte nella medicina personalizzata.

Attraverso un approccio scientifico e clinico, ci addentriamo nell'universo della terapia batterica di precisione, con particolare attenzione ai probiotici avanzati come il ceppo *L. crispatus* M247, *per comprendere come possano trasformare la pratica medica, migliorare la qualità della vita delle pazienti e aprire nuove prospettive in ambiti cruciali come la fertilità e le tecniche di procreazione medicalmente assistita.*

Questo testo si propone di essere una guida per clinici e ricercatori, offrendo un panorama aggiornato e approfondito delle potenzialità di un microbioma in equilibrio, capace di influenzare non solo la salute locale, ma anche il benessere generale della donna.

Il microbioma vaginale

Il microbioma vaginale è un ecosistema complesso e dinamico, fondamentale per la salute ginecologica e generale delle donne.

È dominato da specie di lattobacilli, come *Lactobacillus crispatus*, *L. gasseri* e *L. iners*, che producono acido lattico, mantenendo un pH acido compreso tra 3,8 e 4,5 (**fig. 1**). Questo ambiente crea una barriera naturale contro la colonizzazione di batteri patogeni, come *Gardnerella vaginalis* ed *Escherichia coli*, e funghi come *Candida albicans*.

Tuttavia, la composizione del microbioma vaginale è altamente variabile, influenzata da fattori ormonali, stile di vita, età ed etnia. Gli squilibri in questo delicato ecosistema possono predisporre a condizioni come la vaginosi batterica, la candidosi o un'aumentata suscettibilità a infezioni sessualmente trasmissibili.

Durante la gravidanza, alterazioni del microbioma sono inoltre associate a complicanze come il parto pretermine.

Fig.1



La ricerca sta aprendo nuove prospettive, indagando il ruolo del microbioma nella fertilità e nel dialogo con il microbiota uterino, mentre le strategie terapeutiche includono probiotici specifici, prebiotici e trattamenti personalizzati volti a ripristinare l'equilibrio microbico. Questo straordinario ecosistema, se ben compreso e supportato, si rivela un alleato cruciale nella salute femminile.

I CST (Community State Type)

La comunità microbica vaginale è composta da cinque possibili consorzi batterici dominati rispettivamente da quattro diverse specie di lattobacilli e, nel quinto caso, dalla loro assenza.
I cluster nei quali vengono codificate tali comunità sono denominati Community State Type (CST).
Nel CST I domina la specie *L. crispatus*, nel CST II la specie *L. gasseri* (**fig. 2**), nel CST III la specie *L. iners* e nel CST V la specie *L. jensenii*.
Il CST IV è invece quello caratterizzato dalla quasi assenza di lattobacilli e dalla presenza di una miscela ricca di anaerobi, più o meno stretti, quali, principalmente, *Gardnerella, Atopobium, Prevotella, Streptococcus, Megasphaera, Sneathia* e *Mobiluncus*.


Fig.2

Talvolta il CST IV viene ulteriormente diviso in due sottotipi, A e B.
Tra i due, il CST IV-B è quello che presenta la maggiore frequenza di evoluzione a vaginosi batterica o che è stato maggiormente correlato con il rischio di parto pretermine.

Due aspetti dell'intera vicenda CST sembrano davvero essere consolidati:
• la correlazione tra la bassissima biodiversità vaginale come elemento caratterizzante gli aspetti di salubrità dell'ospite
• il ruolo sempre e solo eubiotico di *L. crispatus* che potrebbe essere considerato il lattobacillo capace di rendere privilegiato, per stabilità e aspetti di benessere, il consorzio vaginale durante il periodo fertile della vita ma anche prima, nella pubertà, e dopo, in menopausa.

Caratteristiche generali di *L. crispatus* M247

Il ceppo *L. crispatus* M247 (**fig. 3**), contenuto nel probiotico Crispact®, è un lattobacillo studiato, caratterizzato e depositato nella ceppoteca di Ghent in Belgio con codice IDA: LMG P-23257.
Il genoma, interamente sequenziato, ha rivelato che il ceppo presenta sicuramente un pool distintivo di geni peculiari. Confrontando il suo genoma con quello di altri ceppi di *crispatus*, noti per l'azione anti-*Candida* e/o anti-*Escherichia coli*, si evidenzia come esistano una moltitudine di geni condivisi ma altri esclusivi che caratterizzano l'attività del M247. Ad esempio, il ceppo M247 contiene, espresso, il gene LEA (Lactobacillus Epithelium Adesin) che codifica per una proteina d'aggancio impiegata nella colonizzazione dell'epitelio vaginale. Il sito d'aggancio è anche condiviso da *Gardnerella*, e per questo il possesso di tale proteina alimenta quindi chiaramente fenomeni di competizione diretta con il patogeno, favorendo l'attività del *crispatus* nei confronti di questo.
Altri aspetti di competizione diretta con *Gardnerella*, Crispact® li determina grazie alla presenza di due geni per l'interazione con la fibronectina la cui interazione limita i fenomeni di colonizzazione di *Gardnerella* all'epitelio vaginale.
Inoltre, il ceppo M247 contiene almeno 4 geni putativi per le batteriocine, in particolare:

- Helveticina J (attiva contro *L. helveticus, L. bulgaricus* e *L. lactis*);
- il gene per l'Enterolisina A (attiva contro *Listeria, Pediococcus* ed *Enterococcus*);
- il gene per la Penocina A (attiva contro *Listeria, Clostridium* ed *Enterococcus*);
- il gene per una batteriocina appartenente al gruppo LS2 (attiva contro *Listeria, Shigella* e *Yersinia*).

Come è noto, alcuni lattobacilli sono in grado di produrre esopolisaccaride (EPS), migliorando le proprietà adesive ai substrati e risultando in questo modo difesi dagli antagonismi che si generano con l'ospite, con altri commensali e con i patogeni.
Inoltre, e soprattutto, all'interno dell'EPS i batteri costruiscono le loro difese soprattutto verso antibiotici e disidratazione risultando di grande rilevanza per

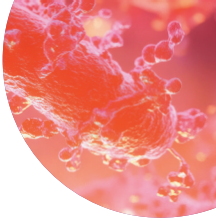
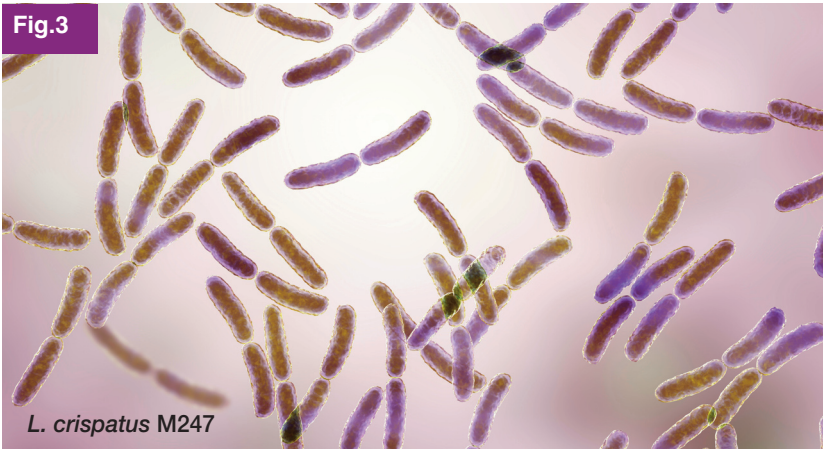


Fig.3



L. crispatus M247

un batterio, come il ceppo M247, ad habitat vaginale. Nel genoma di *L. crispatus* M247 sono stati identificati ben 18 geni dedicati alla sintesi di EPS. A livello di produzione industriale, non è facile ottenere biomasse quantitativamente apprezzabili di *L. crispatus*. Le sue esigenze di crescita ne fanno un batterio piuttosto "difficile" da coltivare in grossi volumi, almeno relativamente ad altri, e per questo motivo ne esistono pochi in commercio.

Tra i pochi *L. crispatus* documentati al mondo, il ceppo americano CTV-05 conta circa una decina di lavori pubblicati o poco più, come una decina di studi descrivono anche il ceppo *L. crispatus* M247, un ceppo selezionato nel 1989 da un gruppo di ricercatori italiani, che si attesta quindi come secondo ceppo di *Lactobacillus crispatus* più documentato al mondo.

Resistenza a metronidazolo e vitalità in acido borico

All'interno del genoma del *L. crispatus* M247 è stata ritrovata una sequenza che conferisce a questo ceppo la peculiare capacità di resistenza a elevate concentrazioni di metronidazolo (MIC >256 µg/ml) e acido borico. Queste resistenze, dopo sequenziamento totale del genoma del ceppo, sono risultate essere intrinseche al batterio stesso e quindi non trasferibili, rendendo commercializzabile e utilizzabile il probiotico.

Tale peculiare resistenza permette al M247, contrariamente a quello che succede solitamente per gli altri probiotici, di

Fig.4	H_2O_2 prodotto (ng/10^9 UFC)						
Tempo di incubazione	*L. johnsonii* ATCC3 3200T	*L. gasseri* DSM2 0243T	*L. fermentum* DSM2 0052T	*L. plantarum* ATCC2 1028	*L. paracasei* NCDO 151T	*L. crispatus* M247	*L. crispatus* MU5
1 ora	22,10	15,67	0,18	0	0	32,02	47,44
2 ore	24,50	17,04	0,17	0,06	0,03	32,15	35,33
4 ore	30,16	22,56	0,15	0,06	0,06	37,39	8,33
6 ore	35,22	25,98	0,15	0,07	0,06	42,44	9,27
8 ore	37,40	28,55	0,13	0,13	0,08	41,69	7,98

essere somministrato anche concomitantemente alle terapie con metronidazolo e acido borico *(Lactobacillus crispatus M247: characteristics of a precision probiotic instrument for gynecological and urinary well-being).*

Sintesi e rilascio di perossido di idrogeno di *L. crispatus* M247

Alcuni lattobacilli vaginali, in particolare le specie *L. jensenii, L. crispatus* e *L. gasseri*, dimostrano la capacità di produrre perossido di idrogeno, tra i quali *L. crispatus* M247 evidenzia una capacità superiore a quella di qualunque altro batterio nella sua produzione (**fig. 4**).

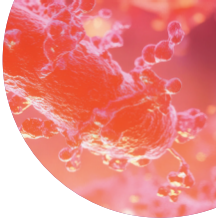
A che cosa serve il perossido di idrogeno? In un soggetto adulto sano i lattobacilli costituiscono circa lo 0,01% dell'intero microbiota colonico. Il duodeno presenta un pH di 6.8 e il colon di 7.2, e quest'ambiente infastidisce il ceppo che rischia a sua volta di infastidire l'ambiente.

Non stupisce quindi che il ceppo *L. crispatus* M247 si sia organizzato, almeno in chiave antinfiammatoria, ricorrendo proprio al perossido di idrogeno che in questa veste funge da messaggero, capace di stabilire un colloquio diretto tra ceppo e tessuto dell'ospite.

In risposta al rilascio di perossido di idrogeno, infatti, le cellule dell'epitelio intestinale dell'ospite attivano PPAR-γ.

Questo a sua volta induce una serie di eventi che si traducono in una riduzione dell'espressione di TLR4 (pro-infiammatoria) e in un aumento dell'espressione di TLR2, che media invece la neo-sintesi delle proteine delle giunzioni serrate.

Riassumendo, il perossido d'idrogeno porta a un irrobustimento delle giun-



zioni serrate e a una chiara risposta antinfiammatoria.

Colonizzazione intestinale di *L. crispatus* M247

Il ceppo *L. crispatus* M247 è dotato di buone proprietà probiotiche e di ottime capacità di colonizzazione intestinale, dimostrando buona adesività, sia su muco ileale che su cellule enteriche umane.
Somministrato per 8 giorni a volontari sani, il ceppo M247 ha dimostrato capacità colonizzanti davvero importanti venendo rilevato in tutti i campioni fecali e nella maggior parte delle biopsie coloniche.
Dopo aver colonizzato, dimostra persistenza essendo, anche dopo interruzione della somministrazione, recuperabile vivo e vitale sia dalle feci che dalle biopsie.
Le caratteristiche di colonizzazione intestinale sono riportate nello studio *Lactobacillus crispatus M247: characteristics of a precision probiotic instrument for gynecological and urinary well-being*.

Colonizzazione vaginale di *L. crispatus* M247

Il ceppo *L. crispatus* M247 è capace di colonizzare l'intestino umano, dove esercita importanti effetti antinfiammatori, ma il suo habitat privilegiato è il tessuto vaginale. La letteratura più robusta di questi ultimi 10 anni infatti decanta le lodi della specie *L. crispatus* in quanto, in condizioni di dominanza (CST I), questa sembrerebbe conferire stabilità all'ambiente vaginale riducendo il rischio di infezione, di parto pretermine e di atrofia vaginale.
Dall'ambiente intestinale è in grado di trasferirsi in quello vaginale? Sì. La conferma è arrivata in un recente trial clinico, *Oral administration of Lactobacillus crispatus M247 to papillomavirus-infected women: results of a preliminary, uncontrolled, open trial*, nel quale donne che non presentavano *L. crispatus* a livello del microbiota vaginale all'interno dello studio, dopo 3 mesi di somministrazione di *L. crispatus* M247 risultavano essere colonizzate per più del 90% da *L. crispatus*, confermando la traslocazione del batterio dall'ambiente intestinale a quello vaginale e la sua grande capacità colonizzante. Il risultato non deve stupire.
Spesso i batteri traslocano dall'ambiente intestinale a quello vaginale e molto spesso succede proprio con batteri anaerobi che poi sono causa di vaginosi batterica. Da questo punto di vista quindi il ceppo M247 ha semplicemente confermato quanto ritenuto possibile e già osservato clinicamente.

Applicazioni cliniche

HPV

Il *L. crispatus* M247 è stato protagonista di un recente studio, condotto in Italia, dal titolo *Oral administration of Lactobacillus crispatus M247 to papillomavirus-infected women: results of a preliminary, uncontrolled, open trial*, che ha visto l'arruolamento di 35 donne con età media 40 anni, aventi tutte infezione da HPV e conseguente HPV-test positivo e PAP-test deponente per ASCUS o LSIL, che sono state trattate per 3 mesi con 1 stick al giorno di Crispact®. I risultati hanno evidenziato come, dopo soli 90 giorni, ben il 71% di queste donne avesse ottenuto una negativizzazione dall'infezione HPV.

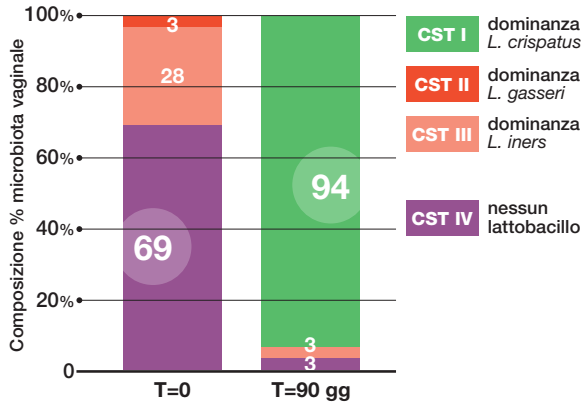
Il razionale del successo ottenuto è da ricercarsi nella capacità di *L. crispatus* M247 di riequilibrare il microbiota vaginale, grazie all'azione unica di produzione di acido lattico in forma protonata che rende l'ambiente ostile ai patogeni e alle infezioni virali.

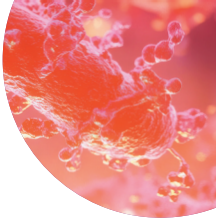
Inoltre, nello studio clinico (**fig. 5**), è stata evidenziata la caratteristica del *L. crispatus* M247 di colonizzare l'ambiente vaginale delle donne trattate, in quanto all'inizio dello studio nessuna donna presentava un CST I (dominanza di *L. crispatus*), ma al contrario presentavano un CST IV (scarsa pre-

Fig.5

Prima di **Crispact®**
il 69% delle donne
è CST IV
(metà con sintomi e metà senza sintomi di vaginosi) e nessuna è CST I

Dopo 90 giorni di **Crispact®**
il 94% delle donne
è CST I





senza lattobacilli) o CST III (dominanza *L. iners*), in linea con il resto della letteratura internazionale.

Dopo i 3 mesi di terapia ben il 94% delle donne trattate presentava una dominanza a livello vaginale di *L. crispatus*, indice della buona traslocazione e ottima capacità colonizzante del batterio a livello vaginale.

A conferma dell'utilità di *L. crispatus* M247 non solo nella negativizzazione dell'infezione da HPV ma anche nel miglioramento del quadro citologico della paziente, è stato pubblicato nel 2022 lo studio *Lactobacillus crispatus M247 oral administration: is it really an effective strategy in the management of papillomavirus-infected women?* che ha visto l'arruolamento di 160 donne, età media 45 anni, tutte con HPV-DNA test positivo e PAP-test positivo per ASCUS o L-SIL, randomizzate in due gruppi: un gruppo trattato con 1 stick/die di Crispact®; un gruppo controllo non trattato.

I risultati hanno evidenziato come le donne trattate con *L. crispatus* M247, al termine dello studio dopo 1 anno, avessero ottenuto un 50% in più di normalizzazione della citologia cervicale rispetto al gruppo controllo, ottenendo il 61.5% di normalizzazione rispetto al 41.3% del gruppo controllo.

Candida vaginale

La *Candida* è un fungo commensale dell'intestino che, quando si presenta in forma planctonica, non si configura come una problematica.

Quando invece trova un ambiente favorevole, questo fungo può iniziare un processo di morfogenesi che, dopo una fase di formazione del tubulo germinativo, consente a questo di trasformarsi nella sua forma invasiva, definita forma ifale, che permette alla *Candida* di traslocare dall'ambiente intestinale a quello urogenitale provocando infezione.

A livello vaginale, come riportato nello studio *Vaginal microbiota of asymptomatic bacterial vaginosis and vulvovaginal candidiasis: Are they different from normal microbiota?*, le donne con infezione da *Candida* presentano un microbiota caratterizzato da una riduzione di lattobacilli, soprattutto *L. crispatus*, rispetto alle donne sane.

Come riportano diversi studi recenti, infatti, il *L. crispatus* sembra essere in grado di impedire la germinazione della spora e quindi il passaggio della *Candida* alla forma ifale invasiva grazie all'attività di down-regolazione dell'espressione di geni ife-specifici (*Vaginal lactobacilli inhibit growth and hyphae formation of Candida albicans*).

Questo, grazie anche alla capacità d'in-



terferire meccanicamente con il processo di penetrazione delle ife negli strati superiori delle cellule epiteliali vaginali, consente di mantenere sotto controllo l'infezione della *Candida* (**fig. 6**) a livello vaginale.

Inoltre, come riportato in *Vaginal Lactobacillus impair Candida dimorphic switching and biofilm formation,* il *L. crispatus* sembra essere in grado di inibire la formazione del biofilm della *Candida* a livello vaginale, riducendone quindi le resistenze e l'adesione all'epitelio.

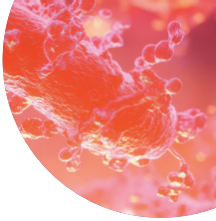
Tutte queste caratteristiche hanno fatto sì che nello studio *Antimicrobial compounds produced by vaginal Lactobacillus crispatus are able to strongly inhibit Candida albicans growth, hyphal formation and regulate virulence-related gene expression* sia stata osservata la capacità del *L. crispatus* di ridurre la crescita di *Candida* in vitro con valori medi superiori al 70%.

Cistiti

Il microbiota urinario della donna viene descritto in letteratura come un microbiota che può essere definito "influenzato" da almeno altri due distretti: l'intestino e la vagina.

Infatti, come riportato nello studio *The female urinary microbiota/microbiome: clinical and research implications*, il genere *Lactobacillus* sembra essere il più diffuso nel microbiota urinario femminile indipendentemente dall'età, e più precisamente il *L. crispatus* sembra essere la specie più diffusa nelle donne senza sintomatologia infettiva.

Inoltre, lo studio *The urobiome of conti-*



nent adult women: a cross-sectional study evidenzia come questo microbiota sia definito da vari fattori, tra i quali l'età, la menopausa e la presenza di precedenti infezioni urinarie. Studi a supporto di un'asse intestino-vescica e vagina-vescica hanno cercato di fare luce sulla questione.

Il recente studio italiano, *Intestinal permeability and dysbiosis in female patients with recurrent cystitis: A pilot study*, prendendo in esame diverse centinaia di donne, ha evidenziato come ben l'88% delle pazienti con cistiti ricorrenti siano risultate avere un'aumentata permeabilità intestinale rispetto ai soggetti sani utilizzati come controlli, causando il passaggio di batteri tipicamente causa d'infezioni urinarie dall'intestino direttamente in vescica.

Lo studio *Gardnerella vaginalis in recurrent urinary tract infection is associated with dysbiosis of the bladder microbiome* evidenzia invece come, in quasi 100 donne analizzate, il 48% delle UTI fossero dovute alla presenza in vescica di batteri strettamente vaginali, soprattutto *Gardnerella*, evidenziando un collegamento diretto tra vagina e vescica.

Addirittura, lo studio conclude evidenziando come la strada sia tracciata per parlare di asse intestino-vagina-vescica.

Mentre per bonificare il reservoir intestinale in caso di cistiti ricorrenti si può ricorrere all'uso di *killer* intestinali come l'*Enterococcus faecium* L3, a livello vaginale il lattobacillo che è riportato avere una maggiore azione di contrasto dei patogeni è il *L. crispatus*.

A favore di questa ipotesi, sono stati pubblicati diversi studi molto recenti che indicano l'azione di contrasto del *L. crispatus* nei confronti ad esempio di *E. coli*.

Uno di questi, *Lactobacillus crispatus limits bladder uropathogenic E. coli infection by triggering a host type I interferon response*, pubblicato nel 2022 su PNAS, evidenzia come il *L. crispatus* sia in grado di limitare la crescita e l'infettività di *E. coli* aumentando l'espressione di IFN di tipo 1 nell'ospite.

Infine, lo studio clinico americano *Randomized, placebo-controlled phase 2 trial of a Lactobacillus crispatus probiotic given intravaginally for prevention of recurrent urinary tract infection* ha arruolato 100 donne con diagnosi di cistite ricorrente, delle quali 50 trattate con *L. crispatus* e 50 con placebo.

Al termine dello studio il gruppo trattato con il *crispatus* ha visto il dimezzarsi dell'incidenza delle cistiti rispetto al placebo, certificando l'attività benefica nella prevenzione delle cistiti da parte del *L. crispatus.*

Microbiota vaginale e infertilità

Tra le correlazioni indagate in letteratura, quella tra microbiota vaginale e infertilità è una delle più recenti e maggiormente studiate.

Una metanalisi "apripista" del 2020, *The association between vaginal microbiota and female infertility: a systematic review and meta-analysis*, ha preso in considerazione 15 studi clinici, per un totale di 7801 pazienti inclusi, evidenziando che la vaginosi batterica è più presente in donne con infertilità rispetto alle donne sane, correlando inoltre con la riduzione drastica della quota lattobacillare.

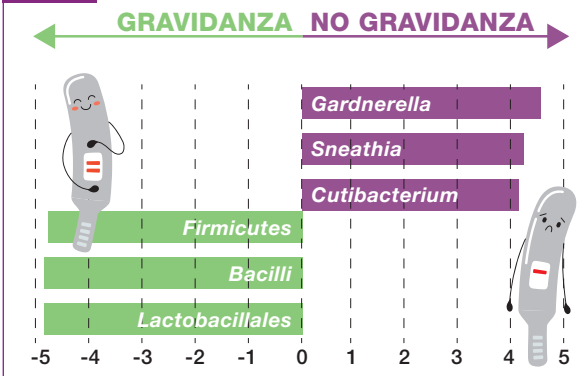
Ma perché un ambiente dominato da patogeni può ridurre la fertilità delle donne?

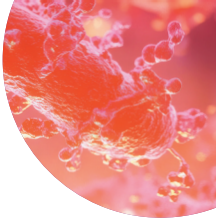
Una colonizzazione da parte di batteri patogeni, come *Gardnerella*, può portare ad infiammazione locale, producendo alti livelli di citochine infiammatorie associate proprio ad infertilità (*The association between the pre-pregnancy vaginal microbiome and time-to-pregnancy: a Chinese pregnancy-planning cohort study*) (**fig. 7**).

Non solo, un ulteriore meccanismo ancora più fine che si associa al precedente, e che sottolinea l'impatto della vaginosi batterica nella riduzione della fertilità, è spiegato nella recente review *Bacterial vaginosis and its association with infertility, endometritis, and pelvic inflammatory disease*, dove viene evidenziata la capacità di produzione, soprattutto da parte della *Gardnerella*, di due specifici enzimi importanti in questa correlazione: la sialidasi e la mucinasi.

Queste due sostanze batteriche sembrano infatti essere in grado di ridurre l'integrità del muco cervicale, favorendo l'adesione batterica e la successiva

Fig.7





colonizzazione del tratto riproduttivo.
Queste evidenze hanno portato inevitabilmente la letteratura moderna ad identificare invece il *L. crispatus*, che è in grado di contrastare i principali patogeni vaginali come *Gardnerella* e mantenere correttamente acidificato l'ambiente vaginale, come la specie batterica maggiormente associata positivamente alla fertilità femminile poiché in grado di ridurre i livelli di citochine infiammatorie prodotte e la conseguente infiammazione generata (*The association between the pre-pregnancy vaginal microbiome and time-to-pregnancy: a Chinese pregnancy-planning cohort study*).

Microbiota vaginale e tecniche di PMA

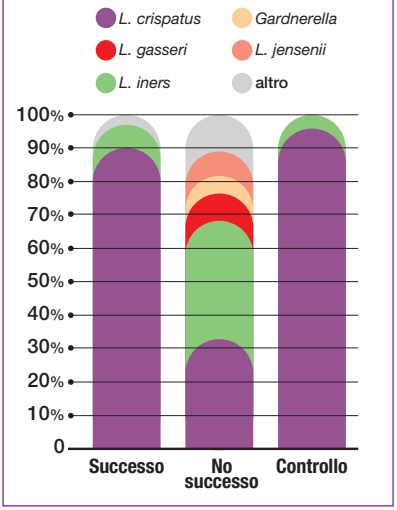
Così come il microbiota vaginale è riportato impattare sulla fertilità della donna in generale, così questo sembra essere anche uno dei fattori implicati sulla positiva o negativa riuscita delle tecniche di PMA.
I batteri tipici della vaginosi batterica sembrano capaci di causare infiammazione pelvica per aumento di citochine infiammatorie ed interleuchine che possono interferire con l'impianto dell'embrione e causare danno tissutale, con conseguente fallimento d'impianto e aumentata percentuale di aborti (*Lactobacillus crispatus-dominated vaginal microbiome and Acinetobacter-dominated seminal microbiome support ART outcome*).
Allo stesso modo, anche alcuni lattobacilli sembrano non favorire il successo di queste tecniche. Un esempio è il *L. gasseri*, che nel fluido follicolare sembra poter causare frammentazione del DNA dell'oocita portando a compromissione della PMA (*TUNEL analysis of DNA fragmentation in mouse unfertilized oocytes: the effect of microorganisms within human follicular fluid collected during IVF cycles*).
A sostegno di queste ipotesi, in letteratura scientifica si ritrova una buona quantità di dati che evidenziano l'importanza della composizione del microbiota vaginale in caso di tecniche di procreazione medicalmente assistita.
Uno di questi è sicuramente il recente studio clinico *Lactobacillus crispatus-dominated vaginal microbiome and Acinetobacter-dominated seminal microbiome support ART outcome*, nel quale è stato valutato il microbiota vaginale di 97 donne con infertilità sottoposte a tecniche di PMA, confrontandolo con quello di 12 donne fertili. I risultati hanno evidenziato come nell'ambiente vaginale

delle donne infertili vi fosse una maggiore biodiversità batterica e soprattutto una riduzione di lattobacilli, con aumento di batteri tipici della vaginosi batterica come *Gardnerella* e *Atopobium*.
Andando poi a vedere all'interno del gruppo delle donne infertili quante e quali avessero ottenuto un successo attraverso l'uso delle tecniche di PMA, è stato osservato come non tutti i lattobacilli favorissero lo stesso outcome: donne con dominanza di *L. crispatus* hanno infatti ottenuto il doppio delle gravidanze cliniche rispetto alle donne con predominanza di *L. iners* o *L. gasseri* (41.2% vs 22.2%).
Il *L. crispatus* inizia quindi a stabilirsi come il lattobacillo maggiormente favorente la fertilità e il successo delle tecniche di PMA.

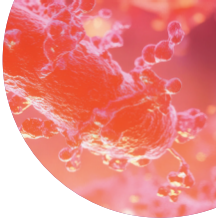
PMA di I livello

Le Tecniche di PMA di I livello sembrano essere inficiate dalla qualità del microbiota vaginale della donna, in quanto questo sembra essere il serbatoio per la costruzione del microbiota endometriale.
Uno degli studi clinici più significativi che ha correlato la composizione del microbiota vaginale con il successo dell'inseminazione intrauterina (IUI) è *Differential composition of vaginal microbiome, but not of seminal microbiome, is associated with successful intrauterine insemination in couples with idiopathic infertility: A prospective observational study,* uno studio clinico italiano che ha valutato sia il microbiota del liquido seminale che quello vaginale di 23 coppie infertili nel giorno dell'inseminazione (**fig. 8**).

Fig.8



I risultati hanno evidenziato come il microbiota del liquido seminale non differiva tra le coppie che hanno ottenuto un successo o insuccesso alla IUI, mentre per quanto riguarda il microbiota vaginale, dopo l'inseminazione è stato confermato che le donne che hanno avuto un esito negativo avevano una predominanza di *L. gasseri* o *L. iners* ed una netta ridu-

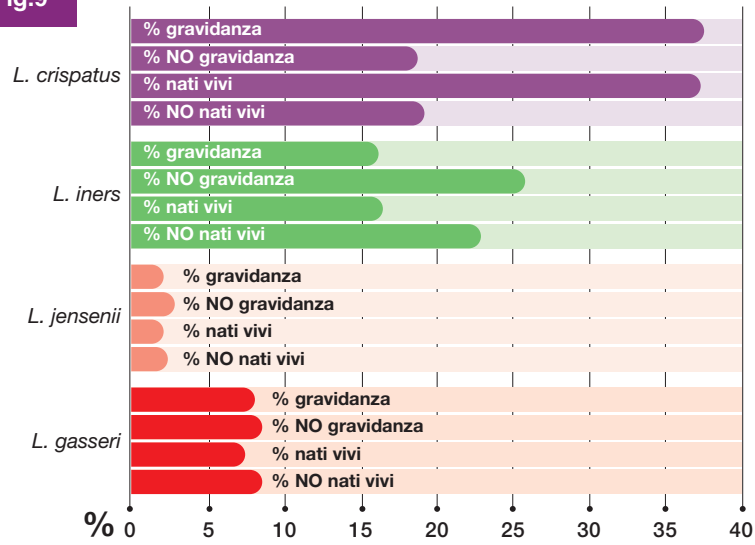


zione della presenza di *L. crispatus*.
Al contrario le donne che hanno avuto un esito positivo alla inseminazione avevano un CST I.
Inoltre, gli autori hanno rilevato che i metaboliti di *Gardnerella, Candida* e *Ureaplasma*, maggiormente presenti nel microbiota delle donne con insuccesso della IUI, sembrano in grado di causare una risposta infiammatoria endometriale che interferisce con l'impianto dell'embrione, riportando quindi un razionale di outcome differente tra i due gruppi.
Lo studio conclude che la qualità del microbiota vaginale e la dominanza di *L. crispatus* possano essere importanti per il successo della IUI.

PMA di II livello

Passando a considerare le tecniche di PMA di II livello, anche in questo caso esistono evidenze in letteratura sempre più forti sulla correlazione della composizione del microbiota vaginale con il successo o meno delle tecniche utilizzate, siano esse FIVET o ICSI.
Uno dei più importanti studi in questo senso è la metanalisi del 2019, dal titolo *The relation of the vaginal microbiota to early pregnancy development during in vitro fertilization treatment – a meta-analysis*, in cui sono stati inclusi 6 studi clinici, per un totale di 1095 donne prese in considerazione, che ha avuto come scopo quello di valutare la correlazione tra microbiota vaginale e outcome della FIVET.
La conclusione della metanalisi, prendendo in considerazione la percentuale di gravidanza clinica dopo FIVET in donne con vaginosi batterica rispetto a quelle con microbiota vaginale normale, ha evidenziato come la vaginosi batterica correli negativamente con il successo della FIVET, perché durante il transfer si può trasportare parte del muco vaginale carico di batteri patogeni fino all'utero, creando instabilità.
Questo concetto è alla base anche dei successivi studi clinici che sono stati effettuati su quest'argomento.
Dal 2019 in poi si sono infatti susseguiti una serie di studi clinici che hanno ricercato firme batteriche vaginali che possano o meno essere correlate all'aumento del successo di queste tecniche di II livello.
Tra i più importanti, troviamo lo studio clinico di *Vergaro P. et al.* (**fig. 9**), pubblicato su *Reproductive biomedicine*, in cui si evidenzia che l'unica caratteristica del microbiota vaginale di 150 donne infertili sottoposte a FIVET o ICSI che è risultata impattare in modo statisticamente signi-

Fig.9



ficativo sul successo di queste tecniche e soprattutto sull'aumento del tasso di nati vivi è stata la dominanza a livello vaginale di *L. crispatus*.

Sulla stessa scia dello studio precedente, lo studio clinico attualmente più recente in quest'ambito (**fig. 10**) è stato pubblicato nel dicembre 2023, con il titolo *Longitudinal analysis of vaginal microbiota during IVF fresh embryo transfer and in early pregnancy*, sull'importante rivista del settore *Microbiology spectrum*. All'interno di questo, è stato valutato il microbiota vaginale di 75 donne infertili sottoposte a FIVET, delle quali 29 hanno ottenuto una gravidanza, mentre in 46 casi si è ottenuto un insuccesso. Delle 29 gravide, 25 donne hanno poi portato a termine la gravidanza mentre 4 no.

Comparando il microbiota vaginale di queste donne, si è visto come il *L. crispatus* fosse la specie più abbondante sia nelle donne che avevano ottenuto una gravidanza dopo FIVET rispetto a quelle che avevano avuto un insuccesso (46.9% vs 19.1%), sia in quelle che avevano ottenuto un "live birth" (43.3% vs 23.1%).

La conclusione anche in questo caso evidenzia come basse concentrazioni di *L. crispatus* siano associate ad insuccesso della FIVET, e di come il microbiota vaginale possa inficiare l'outcome

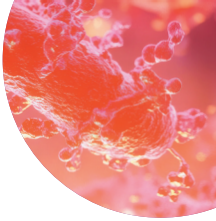
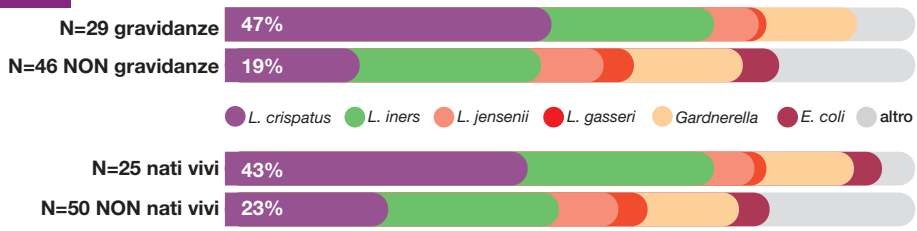


Fig.10



delle tecniche di PMA in quanto in grado di compromettere direttamente la ricettività dell'endometrio.

Microbiota endometriale: dalla ricerca alle implicazioni cliniche

Un altro elemento che spesso viene citato in letteratura quando si parla d'infertilità è il microbiota endometriale.

L'endometrio infatti sembra essere implicato a ragion veduta nella fertilità, essendo un rivestimento della cavità uterina, e sempre più evidenze, anche molto recenti, come lo studio del 2023 su *International Journal of Molecular Sciences* dal titolo *Local immune biomarker expression depending on the uterine microbiota in patients with idiopathic infertility*, riportano come donne con infertilità idiopatica sembrino presentare un'alterazione dell'espressione di citochine infiammatorie a livello endometriale rispetto alle donne fertili, e come questo possa essere legato alla compromissione della fertilità e del corretto proseguo della gravidanza. Ciò che però rimane molto dibattuto in letteratura scientifica è la valutazione del microbiota endometriale, a causa di alcune incertezze che rendono confusa la questione. Infatti, nella recentissima review *The endometrial microbiota: challenges and prospects*, viene evidenziato come il microbiota endometriale possa essere importante per la fertilità delle donne, ma come attualmente non ci sia un consenso univoco sui metodi di sampling, troppo inclini ad un rischio di contaminazione con altri distretti come quello cervicale e vaginale.

Molti studi, infatti, anche pubblicati su riviste importanti come *Nature Communications*, ipotizzano come la bassa biomassa del microbiota endometriale possa essere determinata dalla colonizzazione dell'endometrio da parte di batteri che ascendono dalla vagina (*The*

microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related disease).

Questa teoria aprirebbe quindi le porte ad un continuo scambio batterico tra vagina ed endometrio, sfavorendo la gravidanza in caso di vaginosi batterica, favorendola in caso di microbiota vaginale ricco in *L. crispatus*, e permettendo infine l'intervento sul microbiota endometriale come riflesso di un intervento probiotico di ristabilizzazione del microbiota vaginale, qualora ci fosse una disbiosi.

Dal punto di vista clinico, sono recentemente stati pubblicati alcuni studi interessanti sull'impatto del microbiota endometriale e successo d'impianto. Lo studio clinico *Characterization of the endometrial microbiome in patients with Recurrent Implantation Failure*, pubblicato su *Microorganism*, ha valutato il microbiota endometriale di 45 donne, delle quali 27 con ripetuto fallimento d'impianto e 18 invece senza RIF (Recurrent Implantation Failure). I risultati delle analisi del microbiota hanno evidenziato come le donne con RIF presentassero una riduzione del genere *Lactobacillus* e un aumento di *Gardnerella* rispetto a quelle senza RIF, concludendo come i batteri patogeni ritrovati a livello endometriale siano tassonomicamente simili a quelli caratterizzanti le vaginosi batteriche, sottolineando anche in questo caso come il fallimento d'impianto possa essere dovuto alla presenza di batteri patogeni ascesi dall'ambiente vaginale.

Passando a livello di valutazione della specie batterica, lo studio *Female reproductive tract microbiota and recurrent pregnancy loss: a nested case- control study* (**fig. 11**) ha eseguito l'analisi sia del microbiota vaginale che di quello endometriale di 47 donne con perdita spontanea di 2 o più gravidanze (RPL) e di 39 donne fertili, valutandone le differenze.

Dalle analisi è emerso come sia il microbiota vaginale che endometriale

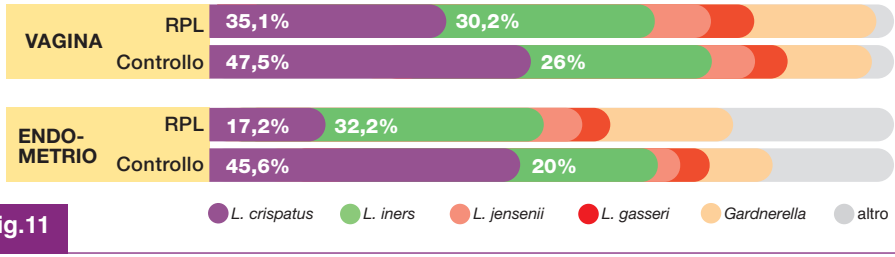
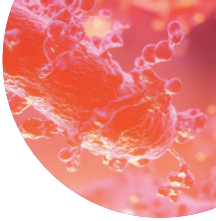


Fig.11



delle donne con RPL presentavano una riduzione di *L.crispatus* rispetto alle donne fertili, in maniera statisticamente significativa.

Questa firma batterica evidenziata risulta essere interessante in quanto i *L. crispatus* a livello endometriale possono prevenire l'occupazione dei siti di attacco da parte dei patogeni, prevenendo le reazioni immunitarie causanti la perdita di gravidanza.

L. crispatus M247 favorisce un corretto microbiota riproduttivo

All'interno degli studi internazionali più recenti, è quindi risultata fondamentale la necessità della donna di mantenere il microbiota vaginale "in salute", e questo risulta necessario anche in termini di fertilità: una disbiosi del microbiota del tratto riproduttivo può avere un impatto negativo sull'impianto embrionale, sul mantenimento della gravidanza e sembra essere associato a infertilità, fallimenti d'impianto e aborti spontanei.

Innovative Terapie Probiotiche di Precisione possono essere una valida strategia per mantenere una composizione ottimale del microbiota.

Come riportato però all'interno dello studio clinico *Probiotic treatment with specific lactobacilli does not improve an unfavorable vaginal microbiota prior to fertility treatment – A randomized, double-blind, placebo-controlled trial*, non dovrebbero essere utilizzati prodotti contenenti lattobacilli che in letteratura non sono riportati favorire la fertilità, ma dovrebbero essere utilizzate soluzioni contenenti l'unica specie lattobacillare che risulta essere negli studi maggiormente predisponente a questo scopo: il *Lactobacillus crispatus*.

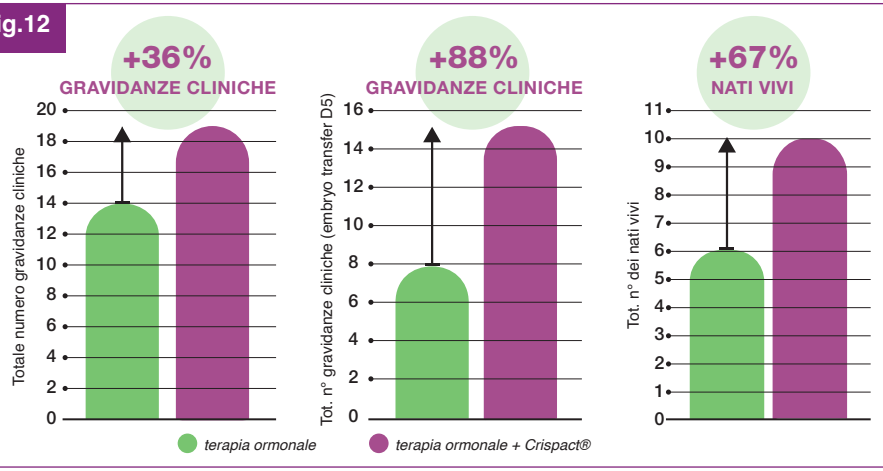
Ad oggi, infatti, la comunità scientifica concorda che, indipendentemente dall'etnia, il *Lactobacillus crispatus* è un batterio sempre e solo eubiotico, il più protettivo per l'ambiente vaginale.

Tra tutti i *L. crispatus* attualmente in commercio, tra i più studiati c'è il *L. crispatus* M247, che presenta attualmente 12 studi pubblicati e ritrovabili sulle principali piattaforme del settore.

Inoltre presenta uno dei primi studi clinici pubblicati al mondo che evidenziano la capacità di un probiotico di favorire il successo delle tecniche di PMA.

Un gruppo di ricercatori italiani ha condotto un meticoloso studio (**fig. 12**) sull'uso di una terapia batterica di precisione con *L. crispatus* M247 in donne con infertilità, al fine di favorire il successo delle tecniche di PMA. Lo studio, pubblicato nel 2023 su *Microorganism*, dal titolo *Ef-*

Fig.12



fect of L. crispatus M247 Administration on Pregnancy Outcomes in Women Undergoing IVF: A Controlled, Retrospective, Observational, and Open-Label Study, ha visto l'arruolamento di 160 donne infertili, età media 38 anni e BMI medio 22, sottoposte a tecniche di PMA (scongelamento ovociti, FIVET, ICSI, embryo- transfer D3 o D5), suddivise in:

- 80 donne trattate con terapia ormonale + Crispact® 1 stick/die per 3 mesi, iniziando in concomitanza con la terapia di sincronizzazione ovarica
- 80 donne trattate con terapia ormonale, come controllo.

Per escludere eventuali bias, sono state incluse nello studio soltanto donne con identiche caratteristiche al T0 e che hanno assunto la stessa terapia ormonale. I risultati dello studio, tra i primi a livello mondiale nella valutazione dell'effetto di un probiotico nel favorire la gravidanza clinica e il numero di nati vivi in donne infertili sottoposte a tecniche di PMA, hanno evidenziato un'attività importante nell'incremento della positività di tutti gli outcome valutati, rispetto al gruppo controllo:

- +36% numero gravidanze cliniche totali
- +88% numero gravidanze cliniche con embryo-transfer D5
- +67% numero nati vivi.

Le conclusioni evidenziano quindi come, seppur necessiti di ulteriori evidenze, Crispact® possa essere una soluzione probiotica di precisione, sicura e senza effetti collaterali, interessante per migliorare gli outcome di fertilità di queste pazienti.

Crispact®

Lactobacillus crispatus M247



1 capsula al dì



1 stick al dì, dissolvere il contenuto in acqua o direttamente nel cavo orale

Particolarmente **pensato**, **studiato** e **sviluppato** per la **protezione** dell'**ambiente vaginale** di tutte le **donne** di **ogni età**

PharmExtracta® S.p.A.
www.pharmextracta.com

Informazione riservata esclusivamente alla classe medica

www.crispact.it