

# FISIOPATOLOGIA DELLA MICROFLORA AEROBIA ED ANAEROBIA IN GRAVIDANZA

*Alberto Biamonti, Daniele Vittori, Marie Louise Ngouma Tetang*

Dipartimento Materno Infantile, Unità Operativa Colposcopia  
Ospedale Cristo Re, Roma

La microflora vaginale è costituita da un pool di microrganismi endogeni di varia dimensione e natura, che vivono fisiologicamente come commensali colonizzanti l'ecoambiente, e che quindi per definizione ne costituiscono l'ecosistema. La situazione di equilibrio che si viene a creare sostiene una dinamica che si alterna con fenomeni fisiopatologici, in cui l'ambiente condiziona il microbiota, e a loro volta i microrganismi, attraverso una diffusione prevalente per via ascendente, dagli organi vicini (vescica, ano), ovvero dal sistema linfoematogeno di diffusione, condizionano la reattività della difesa celluloso-immuno mediata (1,2). La vagina diviene pertanto una sorta di "nicchia ecologica" i cui bilanciamenti batteriologici ne definiscono i gradi di inquinamento.

Esistono certamente alcuni fattori predominanti che influenzano e possono alterare l'ecoambiente: in prima linea le caratteristiche biologiche e biofisiche del tessuto con cui l'agente prende contatto, quindi la carica batterica e la proprietà del microrganismo che va a colonizzare (3), ed infine alcuni parametri esterni che modificano l'evento fisiopatologico. Essi sono l'acidità dell'ambiente (pH), altre malattie o infezioni intercorrenti, l'uso di farmaci o sostanze concomitanti, la presenza di fenomeni irritativi o allergico-iperergici (4).

La gravidanza, fase temporale in cui si verificano ulteriori modificazioni dell'organismo femminile (5), rappresenta una fase in cui l'ecoambiente, condizionato dall'alto livello di estrogeni, determina una buona disponibilità di glicogeno e un'alta percentuale di flora lattobacillare, che supera il 90% dei microrganismi presenti nella vagina in età fertile. Tutto ciò va da una parte a migliorare il trofismo dell'epitelio, anche se può a sua volta verificare l'insorgenza di alcune infezioni. Il restante 5% è costituito dalle altre specie batteriche, aerobi ed anaerobi, sia da contaminazione esterna o intestinale, che per fisiologica presenza come commensali vaginali. Ed è proprio la flora aerobia ed anaerobia che condiziona il pool vaginale (6), venendo a determinare, per quantità e qualità, quelle modificazioni flogistiche che innescano il processo infettivo e le sequele gravidiche. Nel momento in cui insorge la componente infettiva, l'associazione con i lattobacilli è più frequente con la flora aerobica, soprattutto stafilo e streptococcica (*S. epidermidis* quantizzabile nel 30% circa dei casi) e quella fungina (*Candida Albicans* nel 12%). Alcuni eventi patologici di rischio gravidico, come la rottura prematura delle membrane pretermine (pPROM), la Corioamniotite (CA) e, come vedremo in letteratura, la minaccia di parto prematuro (MPP), sono spesso legati al sovvertimento della microflora vaginale (7). È stato visto e dimostrato che, in alcuni casi, interventi con terapia antibiotica, per un certo verso necessari dopo esame colturale, selezionando microrganismi resistenti, possano facilitare una modifica selettiva di microbioti, che accelerano l'insorgenza dell'evento clinico patologico (8). La mutazione da fisiologia in patologia si verifica in relazione all'intensità della carica batterica e all'alterazione dei meccanismi dell'ecosistema, che in gravidanza riconosce due importanti elementi di varianza: il carico ormonale e il deficit immunitario (9).

In particolare, soffermandosi sull'aspetto biologico dell'ecosistema vaginale, la flora stanziale presenta la grossa suddivisione in specie aerobiche ed anaerobiche, che rappresentano circa il 5% del totale, a concentrazioni non superiori a  $10^4$ - $10^5$  colonie/ml. Come già accennato, in gravidanza si assiste ad un aumento del grado di purezza della flora, con incremento di disponibilità di glicogeno e di lattobacilli acidofili, che producono perossido di idrogeno ( $H_2O_2$ ), acido lattico e mantengono un buon equilibrio di acidità (10). Come è noto, l' $H_2O_2$  è tossico per molte specie batteriche catalasi negative, ad ha una potente azione litica verso i batteri anaerobi, micoplasmi,

funghi e virus (11). Per quanto riguarda l'ambiente in aerobiosi ed anaerobiosi, anche in gravidanza ci si deve riferire alla **Tabella 1**, che mostra la differenziazione delle maggiori specie cocciche, bacillari e di altri microrganismi.

**Tabella 1** . *Suddivisione delle specie microbiche aerobie ed anaerobie nell'ambiente vaginale*

SPECIE AEROBIE	SPECIE ANAEROBIE
<b>Cocchi Gram +</b> : Staphilococcus epidermidis	Peptococchi
Strepto A	Peptostreptococchi
Strepto B	
Strepto D	
<b>Cocchi Gram -</b> : Neisseria	Veillonella
<b>Bacilli Gram +</b> :Lattobacilli	Lattobacilli
Listeria	Actinomices
	Clostridium
<b>Bacilli Gram -</b> : Gardnerella	Mobiluncus
Escherichia Coli	Bacteroides
Klebsiella Pneumonite	Prevotella
Proteus Mirabilis	
Pseudomonas aeruginosa	
Enterobacter	
<b>Altri</b> : Miceti	Micoplasmi
	Trichomonas

Mentre i lattobacilli delle varie specie (se ne conoscono più di 50), tutti gram positivi, possono essere sia aerobi che anaerobi, le altre specie hanno una prevalenza variabile, a seconda del pabulum preferenziale, sia facoltativi che asintomatici, in ambiente aerobio o anaerobio. E' proprio su questa differenziazione che ci si basa per il grading di infezione su gravide con flora anormale, suddivise tra coloro con alta componente di batteri anaerobi, da quelle con la cosiddetta flora intermedia di tipo aerobio.

E' interessante come allo stato attuale, gli effetti di una colonizzazione vaginale con lattobacilli possa agire sulla prevalenza di altri microrganismi in gravidanza (12), in funzione di altre patologie, come il rischio di parto pretermine. Un vasto studio di Usui (Giappone, 2002) ha eseguito, su una popolazione di 1958 gravidanze consecutive, colture per flora coccica e bacillare aerobica ed anaerobica, e colture di lattobacilli. Si è poi analizzata la percentuale di donne con parto pretermine, il 6% prima della 33° settimana (n=118), e l' 11% prima della 37° settimana (n=224). In questa coorte di pazienti i lattobacilli erano notevolmente diminuiti, mentre la presenza di altri batteri era maggiore in assenza di lattobacilli, altrimenti non significativa. I micoplasmi (in particolare l' *Ureaplasma Urealyticum*) non erano influenzati dalla presenza di flora lattobacillare. Da questi risultati si evince che l'elemento che associa il parto pretermine sembra essere l'assenza di lattobacilli, piuttosto che la presenza di altri microrganismi (13). La determinazione quindi della presenza/assenza di lattobacilli è elemento superiore ai test colturali batteriologici, inclusa la *Gardnerella Vaginalis* o altri Gram negativi in causa nella vaginosi batterica, per identificare donne a rischio di parto pretermine., comprese le colture di anaerobi, se analizzate da sole. E' però vero che l'anaerobiosi batterica è associata a deplezione di flora lattobacillare. Il *Lactobacillus Species*, che produce H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, è meno probabile che crei un pabulum di infezione da VB o da *Neisseria Gonorrhoeae* (14).

Per riuscire ad identificare il grado di purezza della microflora, Donders ha classificato la flora microbica in 4 gradi, scegliendo come parametro prevalente la concentrazione di lattobacilli. Nugent ha invece selezionato lo score sulla base di una valutazione semiquantitativa dei morfotipi

batterici, per la qualità di una flora microbica anormale. L'analisi tipologica della definizione di "flora anormale" può essere di cruciale importanza nelle gravide a rischio di parto pretermine. A tal proposito un importante studio di Donders (15) ha reclutato 631 gravide asintomatiche, eseguendo colture vaginali batteriche, lo score leucocitario, la valutazione del pH, e lo studio del fluor vaginale per dosare tutta una serie di parametri infettivi e immunitari : i livelli di lattato, succinato, l'interleuchina-1,6 ( IL-1, IL-6) e il Leukemic Inhibitory Factor (LIF), che sono in ipotesi nel rappresentare un marker di rischio di patologia gravidica. . I risultati hanno mostrato ( *cf* **Tab. 2**) che il 7,9% delle pazienti aveva segni di Vaginite aerobica - VA ( n=50), mentre il 6% era affetta da Vaginosi batterica anaerobia – VB (n=38). La citolisi del background microbico fa salire lo score leucocitario, e le cellule parabasali sono significative di una vaginite aerobica severa, definita desquamativa. Il dosaggio dei livelli di *lattato* vaginale, buon marker della funzionalità lattobacillare, ha mostrato in analisi gas-cromatografica valori ridotti di un terzo sia nella VB che nella VA, mentre i livelli di *succinato*, che viene prodotto prevalentemente dagli anaerobi, si presentavano più alti nella VB, rispetto ad una normalità nelle pazienti con VA., il che potrebbe rappresentare un buon marker d'infettività.. Riguardo ai risultati delle citochine (16) , l'*Interleuchina 1 beta (IL-1 $\beta$ )* incrementava i suoi valori soprattutto nella VA, mentre il *LIF* diminuiva notevolmente, fino ad azzerarsi nella VB. In questo studio si rileva che i microrganismi aerobi precipuamente coinvolti nella vaginite aerobica gravidica erano *lo Streptococco Gruppo B*, *l' Escherichia Coli* e *lo Stafilococco Aureus*, che sappiamo essere in causa nelle corioamniotiti e nelle sepsi neonatali (17) . Anche la Gardnerella in queste pazienti era molto presente (20%), probabilmente perché in questi casi vi era un'associazione combinata tra VB e VA..

**Tabella 2.** Risultati delle concentrazioni medie dei vari marcatori d'infezione nella flora normale, nella Vaginosi Batterica (VB) e nella Vaginite Aerobica in una popolazione di 631 gravide (Donders et al., BJOG, 2002)

<b>Fluor Vaginale Costituenti</b>	<b>Flora Normale n=511</b>	<b>VB (anaerobiosi) n=38</b>	<b>VA (aerobiosi) n=50</b>	<b>p</b>
<i>Lattato</i> (mg/dl)	109 (56-196)	26 (12-49)	35 (16-75)	< 0.0001
<i>Succinato</i> (mg/dl)	1 (0.4-2.5)	2 (0.3-6.4)	0.6 (0.2-1.3)	0.06
<i>Interleuchina 1-<math>\beta</math></i> (pg/ml)	38 (7-174)	123 (86-1100)	1400 (233-2000)	< 0.0001
<i>Interleuchina 6</i> (pg/ml)	0 (1-19)	0 (0-34)	27 (0-108)	0.007
<i>Leukemia Inhibitory Factor (LIF)</i> (pg/ml)	16 (3-33)	13 (2-180)	19 (3-190)	ns

La *vaginite infiammatoria desquamativa* (18) rappresenta la forma più severa, estrema di vaginite aerobica, di tipo purulento, in cui è frequentemente coinvolto lo Streptococco B, con uno Score di Nugent che raggiunge livelli elevati. (n= 7 /8).

La *vaginite citolitica* (19), chiamata anche vaginite di Doderlein, presenta numerosi lattobacilli attivi che danneggiano le cellule epiteliali per la loro estrema acidità, e quindi un basso pH (probabilmente costituita da una maggioranza di aerobi facoltativi). Esiste però in questo caso anche un'ipotesi di suscettibilità genetica, o di una alterata modulazione d'immunità locale.

In sintesi, in gravidanza si realizzano due tipi di flora anormale batterica : la vaginosi anaerobica batterica e la vaginite aerobica. Vi può essere un grado di sovrapposizione o interiezione , che indica la coesistenza delle due affezioni, ma quanto l'una possa sovrastare l'altra non è stato ancora determinato. Come entità nosologica, certamente la Vaginite aerobica (VA) è in grado di identificare meglio una condizione specifica dei batteri implicati, , e la grande produzione di citochine pro-infiammatorie la pone come ideale candidato al rischio di parto pretermine, pPROM e Corioamniotite (CA) (7).

Un altro studio recente della scuola asiatica (20) analizza l'effetto di presenza dei lattobacilli che catalizzano l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sul ruolo antibatterico protettivo nei confronti del travaglio pretermine a membrane integre. Ebbene , si è visto che nelle donne con travaglio pretermine (vedi **Tab. 3**) il numero dei leucociti e lo Score di Nugent si incrementavano, mentre il numero dei Lattobacilli diminuiva dal 58% al 17%, a dispetto o meno della presenza quantitativa dei microrganismi patogeni dosati , tranne la Gardnerella. Questo potrebbe significare che il vero protagonista è il lattobacillo, in prima linea nel combattere l'infezione vaginale (21): la sua assenza infatti è il principale fattore di rischio per infezioni uroginecologiche, soprattutto in anaerobiosi, ove nel presente studio la sua diminuzione andava dal 67% al 4% .

**Tabella 3.** Risultati di dosaggi da fluido vaginale in donne normali (Gruppo I) e in travaglio pretermine con membrane integre (Kim, Korea, 2006)

Dosaggio	Gravidanze normali (n=66)	Travaglio pretermine (n=30)
N° Leucociti	2,39 +/- 0,37	4,46 +/- 0,47
Lattobacilli (n. colonie)	187	77
Score di Nugent	1,21 +/- 0,30	2,34 +/- 0,51
Gardnerella	0,78 +/- 0,19	1,50 +/- 0,33
Mobiluncus	0,62 +/- 0,04	0,63 +/- 0,06

Certamente, anche se l'ambiente vaginale che presenta flora anaerobia può avere un ruolo più intenso nel determinismo di una infezione vaginale in gravidanza , la dimostrazione di un decremento di lattobacilli generanti H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> , con rialzo dello Score di Nugent, sembra essere la chiave di innesco del meccanismo di risposta immuno-mediata, più evidente in donne con parto pretermine ed infezione intraamniotica (22).

Se andiamo infine ad analizzare la frequenza di aerobi ed anaerobi in infezione gravidica, si nota che, eseguendo una breve sintesi degli studi clinici (6,9,12,15,16,20,23) degli ultimi 5 anni, la Gardnerella è presente in una mediana del 19,6 % ( range 5-39) , il Mobiluncus nel 5% (0-7), la Candida nel 16,6% (10-23), i Micoplasmi nel 16% (6-22) il Trichomonas nel 2,5% (0,16-12) , la flora aerobica Gram +/- nel 14% (2-27), mentre quella intermedia, espressione di una condizione più fisiologica, è comunque quantizzabile in quantità discreta (mediana del 29,2%) .

Quindi, le determinanti fisiopatologiche che condizionano l'ecosistema vaginale in gravidanza risentono solo in parte dell'alterato equilibrio microbico aerobio ed anaerobio, mentre sono molto condizionate dalla presenza della flora lattobacillare e dall'innesco di meccanismi gravidici cellul-immuno mediati.

#### Bibliografia

1. Wasiela M, Krzeminski Z, Kalinka J, Brezinska-Blaszyk E : Correlation between levels of selected cytokines in cervico-vaginal fluid of women with abnormal vaginal bacterial flora. Med. Dosw. Mikrobiol. 57 (3): 327-33, 2005
2. Johansson M, Lycke N.Y : Immunology of the human genital tract. Curr. Opinion Inf. Dis. 16: 43-9, 2003

3. Guerra B, Infante F : In: *Vaginiti e Vaginosi: Flora microbica vaginale*. 1° Ed. Rottapharm pg. 16-27, 2004
4. Donders G.G, Bosmans E, Dekeersmaecker A, Vereeken A, Van Buick B. Spitz B: Pathogenesis of abnormal vaginal bacterial flora. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 182: 872-78, 2000
5. Hillier S. I : Normal vaginal flora. *Sex. Transm. Diseases.* 14: 191-205, 1999
6. Goplerud C.P, Ohm M.J, Galask R.P : Aerobic and anaerobic flora of the cervix during pregnancy and puerperium. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 126 : 858-66, 1976
7. Carey C, Klebanoff A: Is a change in the vaginal flora associated with an increased risk of preterm birth ? *Am. J. Obstet. Gynecol.* 192: 1341-7, 2005
8. Rosenstein I.J, Morgan D.J, Lamont R.F, Sheehan M, Dore C.J, et al : Effect of intravaginal clindamycin cream on pregnancy outcome and on anormal vaginal microbial flora of pregnant women. *Infect. Dis. Obstet. Gynecol.* 8: 158-65, 2000
9. Delaney M.L, Onderdonk A.B: Nugent Score related to vaginal culture in pregnant women. *Obstet. Gynecol.* 98: 79, 2001
10. Guerra B: *Le infezioni vaginali : un problema banalizzato*. *Atti SIGO*. Vol. LXXXI, 2005
11. Hawes S.E, Hillier S.L, Benedetti J, Stevens C.E, Koutsky C.A, Wolner-Hanssen P, Holmes K.K : Hydrogen-peroxide producing Lactobacilli and acquisition of vaginal infections. *J. Inf. Dis.* 174: 1058, 1996
12. Usui R, OhKuchi S, Matsubara S, Izumi A, Watanabe T, Suzuki M, Minatami H : Vaginal lactobacilli and preterm birth. *J. Perinat. Med.* 30 : 458-66, 2002
13. Lidbeck A, CE Nord: Lactobacilli and the normal human anaerobic microflora. *Clin. Inf. Dis.* 16: S181, 1993
14. Agrawal B.M, Agrawal S, Rizvi G, Ansari K.H : Role of non-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> producing lactobacilli and anaerobes in normal and complicated pregnancy. *J. Indian Med. Assoc.* 100 (11) : 652-55, 2002
15. Donders G.G, Vereecken A, Bosmans E, Dekeersmaecker A, Salembier G, Spitz B : Definition of a type of abnormal vaginal flora that is distinct from bacterial vaginosis : aerobic vaginitis. *Br. J. Obstet. Gynecol.* 109 : 34-43, 2002
16. Kalinka J, Sobala W, Wasiela M, Brzezinska-Blaszczyk E : Decreased proinflammatorycytokines in cervicovaginal fluid, as measured in midgestation, are associated with preterm delivery. *Am. J. Reprod. Immunol.* 54(2) : 70-6, 2005
17. Cursik D, Dragancic A, Hrgovic Z : Nonspecific aerobic vaginitis and pregnancy. *Fetal Diagn. Ther.* 16 (3) : 187-92, 2001
18. Sobel J.D : Desquamative inflammatory vaginitis : a new subgroup of purulent vaginitis responsive to topical 2% clindamycin therapy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 171:1215-20, 1994
19. Cibley L.J : Cytolytic vaginosis. *Am J. Obstet. Gynecol.* 151 : 1245-49, 1991
20. Kim Y.H, Kim C.H, Cho M.K, Na J.H, Song T.B, Oh J.S : Hydrogen peroxide- producing Lactobacilli in the vaginal flora of pregnant women with preterm labor with intact membranes. *Int J. Gynecol. Obstet.* 93 : 22-27, 2006
21. Aroutcheva A, Gariti D, Simon M, Shott S, Faro J, Simoes J.A, et al : Defense factors of vaginal Lactobacilli. *Am J. Obstet. Gynecol.* 185:375-79, 2001
22. Hajek Z, Masata J, Svihovec P : Vaginal infections screening in pregnancy. *Cas. Lek. Cesk.* 144 (11) : 733-36, 2005
23. Schwiertz A, Taras D, Rush K, Rush V : Throwing the dice for the diagnosis of vaginal compliants ? *Ann. Microbiol. Antimicrob.* 5 (4) : 1186/1476, 2006