

## Znaczenie pochodzenia szczepów *Lactobacillus sp.* w probiotykach ginekologicznych dla polskiej populacji

Biocenoza pochwy to złożona populacja drobnoustrojów zasiedlająca nabłonek pochwy w postaci biofilmu. Jej skład gatunkowy, struktura, jak i dynamika zmian w obrębie populacji mają podstawowe znaczenie dla utrzymania zdrowia i czynności narządów rodnych kobiety. Najistotniejszym składnikiem mikroflory pochwy są Gram-dodatnie pałeczki kwasu mlekowego *Lactobacillus*, zwane też pałeczkami Doderleina. Pozostają one w równowadze z innymi bakteriami (ponad 100 innych gatunków wykrytych w pochwie), z których najczęściej spotykane drobnoustroje należą do rodzajów: *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Prevotella*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Peptostreptococcus*, *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Gardnerella*, *Ureaplasma*, *Mycoplasma*, *Propionibacterium*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Mobiluncus*, *Veillonella*, *Clostridium* itd. [Kasprowicz i Białecka 2008, Kotarski i in. 2008, Drews 2009].

Pałeczki *Lactobacillus* stanowią ochronę nabłonka pochwy przed kolonizacją bakterii chorobotwórczych. Posiadają zdolność rozkładania glikogenu do kwasu mlekowego. Ten dominujący metabolit procesu fermentacji zakwasza środowisko pochwy (pH <4,5), utrudniając tym samym namnażanie patogenów, mogących powodować zakażenia wstępujące narządu rodowego. Innym metabolitem pałeczek kwasu mlekowego są inhibitory proteaz hamujące m.in. rozwój inwazyjnych wypustek nitkowatych oraz wegetatywnych pseudostrzępek *Candida albicans* [Strus i in. 2005]. Część gatunków *Lactobacillus* produkuje nadtlenuk wodoru, który uniemożliwia rozwój organizmów pozbawionych katalazy i peroksydazy. Wykazano również, bakteriostatyczne działanie *in vitro* produkowanych przez *Lactobacillus* bakteriocyn, np. laktocydyny, acidofiliny, deaminazy argininowej, biosurfaktantu i cytokin przeciwzapalnych [Peterek 1999]. Ponadto, poprzez swoją obecność w pochwie i tworzenie tam złożonych koagregatów bakteryjnych, pałeczki Doderleina blokują miejsca przylegania do komórek nabłonkowych drobnoustrojom patogennym [Kasprowicz i Białecka 2008]. Zatem, bakterie rodzaju *Lactobacillus* pełnią nie tylko funkcję konkurenta w kolonizacji (konkurencja o receptory na komórkach nabłonka pochwy oraz o składniki pokarmowe), ale również aktywnie redukują ilość drobnoustrojów patogennych w pochwie.

Bakterie kwasu mlekowego stanowią ponad 95% mikroorganizmów obecnych w biocenozie pochwy zdrowych kobiet zamieszkujących kontynent Europy i Ameryki [Hillier i Arko 1996]. Natomiast w środowisku pochwy Afrykanek obserwuje się znacznie niższą liczebność pałeczek Doderleina w porównaniu z mieszkankami Europy (poniżej 50%) [Mason i in. 1983]. Jeszcze 30 lat temu uważano, że mikroflora pochwy zdominowana jest tylko przez jeden gatunek pałeczek kwasu mlekowego: *Lactobacillus acidophilus*. Jednakże, rozwój nowoczesnych metod molekularnych umożliwił uporządkowanie klasyfikacji większości bakterii hodowlanych, dzięki czemu okazało się, że gatunek *Lactobacillus acidophilus* nie jest jednorodny i stanowi kompleks kilku innych gatunków, takich jak *L. crispatus*, *L. amylovorus*, *L. gallinarum*, *L. acidophilus*, *L. gasseri*, *L. johnsonii* [Johnson i in. 1980]. Dalsze badania innych ośrodków badawczych pozwoliły sklasyfikować również do tego kompleksu gatunki: *L. amylolyticus*, *L. iners*, *L. jensenii* oraz *L. fermentum*, *L. plantarum* [Schleifer i Ludwig 1995, Du Plessis i Dicks 1995, Falsen i in. 1999, Strus i in. 2005].

Rodzaj *Lactobacillus* posiada ponad 120 gatunków tych pałeczek, z których około 20 bytuje w dolnym odcinku dróg rodnych. Mikrobiolodzy obserwują dużą zmienność ilościową i jakościową flory pochwy [Niemiec 2009]. Już 20 lat temu Redondo-Lopez i in. [1990] postulowali, że nie ma dwóch kobiet z współistniejącymi, dwoma takimi samymi gatunkami *Lactobacillus*. Jednakże, analizując biocenozy pochwy kobiet zamieszkujących różne regiony kuli ziemskiej, obserwuje się, że dany region zamieszkują kobiety o podobnych ekosystemach. W Tabeli 1 zestawiono skład jakościowy biocenozy pochwy kobiet z różnych regionów świata. Autorzy polskich prac badawczych wskazują na przewagę w mikroflorze pochwy Polek takich gatunków *Lactobacillus* jak: *L. acidophilus* (35%), *L. fermentum* (30%), *L. plantarum* (30%). Natomiast pozostałe gatunki, to jest *L. delbrueckii* i *L. rhamnosus* stanowią tylko 5% całej biocenozy [Strus i Malinowska 1999, Strus 2005, Niemiec 2009], Nalewczyńska i in. [2009] wspomina również o obecności w tym środowisku małych ilości pałeczek *L. casei*. Przedstawione powyżej dane różnią się nieco od obrazów flory pochwy opisanych przez autorów prac zagranicznych, jednakże wynika to prawdopodobnie z faktu, że badali oni lokalne populacje, a różnice mogą być efektem innego trybu życia polskich kobiet oraz ich nawyków żywieniowych (diety) i higienicznych. Dla przykładu, ekosystem pochwy zdrowych Szwedek w 78% jest zdominowany przez jeden gatunek pałeczek kwasu mlekowego. Najczęściej występują u nich gatunki: *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. iners* oraz *L. jensenii* [Vasquez i in. 2002]. W Ameryce Południowej pałeczka *Lactobacillus crispatus* jest najczęściej również jako jedyna izolowana z mikroflory pochwy [Martinez i in. 2008]. Natomiast dużą różnorodnością charakteryzuje się ekosystem pochwy kobiet zamieszkujących Stany Zjednoczone. W skład ich prawidłowej mikroflory bakteryjnej wchodzi głównie *Lactobacillus*, takie jak: *L. crispatus* (32%), *L. jensenii* (23%), *L. iners* (15%), *L. gasseri* (5%), *L. fermentum* (0,3%), *L. oris* (0,3%), *L. reuteri* (0,3%), *L. ruminis* (0,3%) i *L. vaginalis* (0,3%) [Antonio i in. 1999]. Po przeanalizowaniu składu mikrobiologicznego pochwy azjatyckich kobiet, Garg i in. [2008] wykazali obecność kilku gatunków *Lactobacillus*: *L. reuteri* (32,5%), *L. fermentum* (25%) oraz *L. salivarius* (16%).

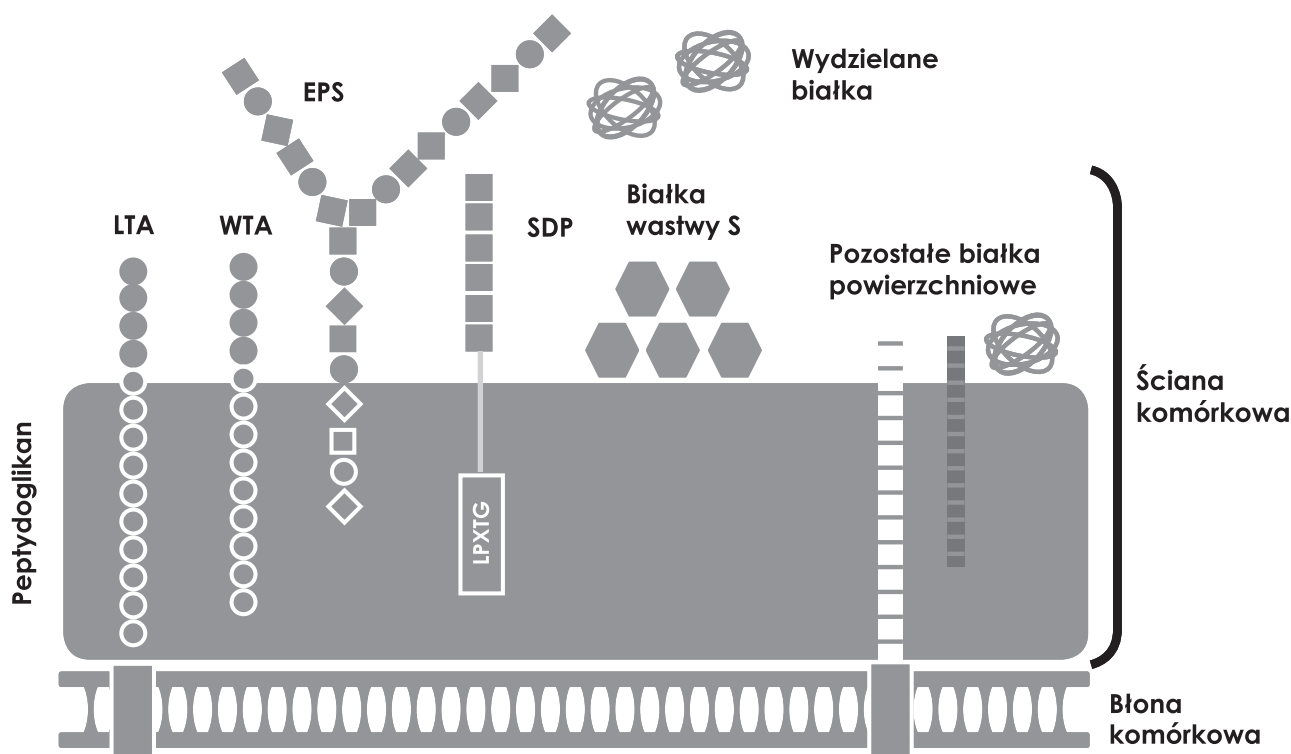
Tabela 1. Bioróżnorodność mikroflory pochwy w obrębie bakterii z rodzaju *Lactobacillus*.

źródło	populacja/kraj	gatunki pałeczek kwasu mlekowego
Strus i Malinowska [1999], Strus [2005], Niemiec [2009]	Polska	kompleks <i>L. acidophilus</i> * (w tym <i>L. gasseri</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. plantarum</i> ), <i>L. delbrueckii</i> , <i>L. rhamnosus</i>
Vasquez i in. [2002]	Szwecja	<i>L. crispatus</i> , <i>L. gasseri</i> , <i>L. iners</i> , <i>L. jensenii</i>
Stoyancheva i in. [2006]	Bułgaria	<i>L. crispatus</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. gasseri</i> , <i>L. helveticus</i> , <i>L. plantarum</i>
Giorgi i in. [1987]	Włochy	<i>L. gasseri</i> , <i>L. jensenii</i> , <i>L. crispatus</i> , <i>L. fermentum</i>
Vitali i in. [2007]	Belgia	<i>L. iners</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. gasseri</i> , <i>L. vaginalis</i>
Martinez i in. [2008]	Brazylia	<i>L. crispatus</i>
Antonio i in. [1999]	Stany Zjednoczone	<i>L. crispatus</i> , <i>L. jensenii</i> , <i>L. iners</i> , <i>L. gasseri</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. oris</i> , <i>L. reuteri</i> , <i>L. ruminis</i> , <i>L. vaginalis</i>
Aslim i Kilic [2006]	Turcja	<i>L. gasseri</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. vaginalis</i> , <i>L. crispatus</i> , <i>L. delbrueckii</i>
Garg i in. [2008]	Indie	<i>L. reuteri</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. salivarius</i>
Zhou i in. [2010]	Japonia	<i>L. iners</i> , <i>L. crispatus</i> , <i>L. gasseri</i> , <i>L. jensenii</i>
Shi i in. [2009]	Chiny	<i>L. crispatus</i> , <i>L. iners</i> , <i>L. vaginalis</i>
Anukam i in. [2006]	Nigeria	<i>L. iners</i> , <i>L. gasseri</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. suntoryeus</i> , <i>L. crispatus</i> , <i>L. rhamnosus</i>

\*kompleks *L. acidophilus*, tj.: *L. crispatus*, *L. amylovorus*, *L. gallinarum*, *L. acidophilus*, *L. gasseri*, *L. johnsonii*, *L. amylolyticus*, *L. iners*, *L. jensenii*, *L. fermentum*, *L. plantarum* [Johnson i in. 1980, Schleifer i Ludwig 1995, Du Plessis i Dicks 1995, Falsen i in. 1999, Strus i in. 2005].

Przedstawione powyżej przykłady dowodzą, że skład ilościowy i jakościowy mikroflory pochwy nie jest stały i charakteryzuje się dużą zmiennością w obrębie populacji zamieszkujących różne regiony geograficzne świata. **Dlatego tak ważny wydaje się, w chwili zaburzenia homeostazy pochwy, odpowiedni dobór szczepów bakterii kwasu mlekowego. Przywrócenie prawidłowego stanu mikroflory narządu moczowo-płciowego i przewodu pokarmowego jest niezbędnym krokiem w leczeniu i utrzymaniu stanu zdrowia dróg rodnych kobiety [Strus 2005]. Według zaleceń Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego istotne jest, aby składniki preparatu odpowiadały naturalnej florze populacji kobiet, do których są skierowane [Kotarski i in. 2008]. Kolonizacja bakteriami probiotycznymi będzie skuteczną jeżeli pochwę będą zasiedlać bakterie naturalnie występujące w jej ekosystemie i wykazujące wysokie powinowactwo do nabłonka pochwy.**

Tezę tą potwierdzają przeprowadzone przez zespół McLean i Rosenstein [2000] badania nad zdolnością re-kolonizacji pochwy przez różne gatunki i szczepy pałeczek kwasu mlekowego. Wykazali oni m.in., że spośród czterech szczepów *Lactobacillus acidophilus* charakteryzujących się właściwościami hamującymi wzrost drobnoustrojów patogennych, zaledwie dwa z nich produkują nadtlenek wodoru, a tylko jeden posiada zdolności adhezji do nabłonka pochwy.



Ryc. 1. Przekrój przez ścianę i błonę komórkową bakterii rodzaju *Lactobacillus*- przykłady adhezyn bakteryjnych; stosowane skróty: LTA, WTA- kwasy teichowe (ang. teichoic acids), EPS- egzopolisacharydy (ang. exopolysaccharides), SDP- białka sortazo- zależne (ang. sortase-dependent proteins) (źródło: Lebeer i in. 2008 w modyfikacji K. Pawłowskiej).

Aby doszło do adhezji pałeczek, na powierzchni pochwowej błony śluzowej muszą znajdować się specyficzne receptory błonowe, które wchodzi w interakcje z adhezynami bakteryjnymi. Szczepy pałeczek *Lactobacillus* charakteryzują się zróżnicowaną ekspresją adhezyn na swojej powierzchni komórki, co warunkuje różnorodność i tym samym limituje proces przylegania do nabłonka [Velez i in. 2007]. Uważa się, że bakterie *Lactobacillus* mogą przylegać za pośrednictwem struktur powierzchniowych, zawierających kwasy teichowe i lipoteichowe, związanych z peptydoglikanem ściany komórkowej [Savage 1984] oraz prawdopodobnie przy pomocy struktur podobnych do „fuzzy layer” [Andreau i in. 1995] (Ryc.1). Badania, przeprowadzone na bakteriach *Lactobacillus* wyizolowanych z środowiska pochwy Polek potwierdziły, że szczepy te wykazują wybitne działanie antagonistyczne wobec bakterii patogennych i co ważne, charakteryzują się adhezynnością do komórek linii tkankowych o właściwościach ludzkiego nabłonka pochwowego [Strus i in. 2001].

O skutecznym wyleczeniu m.in. bakteryjnego zapalenia pochwy możemy mówić, kiedy zostanie przywrócona fizjologiczna struktura ekosystemu pochwy kobiety. Interesującym jest fakt, że suplementacja diety więcej niż jednym szczepem *Lactobacillus* przynosi większe korzyści aniżeli stosowanie tylko jednego [Antonio i in. 1999]. Istotne jest również, aby suplementowane probiotyki zasiedliły nabłonek pochwy na stałe, a nie zostały „usunięte” po zaprzestaniu ich podawania. Większe prawdopodobieństwo stałej kolonizacji nabłonka pochwy przez egzogenne pałeczki kwasu mlekowego jest w przypadku, kiedy stosowane probiotyki są takie same jak bytujące w drogach rodnych kobiety. Fakt ten potwierdzają badania, w których podawano dwa szczepy bakterii *Lactobacillus* naturalnie występujące w mikroflorze Amerykanek (*L. crispatus* oraz *L. jensenii*). Stwierdzono, że u ponad 50% kobiet kolonizacja obydwoma gatunkami zakończyła się sukcesem. Natomiast, znacznie niższy wynik w kolonizacji (tylko u 20%) uzyskano w grupie kobiet, których mikroflora była uboższa o *L. crispatus* i *L. jensenii* [Antonio i in. 1999]. Podobne zjawisko obserwował w swoich badaniach zespół Ocana i Nader-Macias [2001]. Reasumując, skuteczność w kolonizacji przez egzogenne pałeczki jest uzależniona od mikroflory endogennej zasiedlającej środowisko pochwy. Pożądane jest, by suplementowane bakterie kwasu mlekowego pochodziły z biocenozy pochwy kobiet do których są adresowane.

McFall-Ngai [2007] w pracy opublikowanej w czasopiśmie Nature postuluje, że adaptacja układu odpornościowego kręgowców polega m.in. na rozpoznawaniu i przejęciu kontroli nad korzystnymi dla organizmu gospodarza drobnoustrojami. Według Zhou i in. [2010] opisane zjawisko może mieć również miejsce w ekosystemie pochwy. Autorzy ci, postulują tezę, że to lokalny układ immunologiczny pochwy decyduje i warunkuje skład ilościowy i jakościowy mikroflory zasiedlającej to środowisko. Stąd też, podawanie preparatów probiotycznych o składzie obcym w stosunku do mikroflory zasiedlającej daną populację kobiet zdaje się nie mieć uzasadnienia. Pałeczki „obcego szczepu” nie są w stanie kolonizować nabłonka pochwy na stałe i po zaprzestaniu ich suplementowania są z organizmu usuwane. Potwierdzają to badania amerykańskiego zespołu, który obserwował, że suplementowany kobietom *Lactobacillus rhamnosus* charakteryzujący się wysokim mianem w pochwie w trzecim dniu eksperymentu, w dniu 21. był słabo wykrywalny. Pałeczka ta nie należy do fizjologicznej mikroflory dróg rodnych kobiet zamieszkujących Stany Zjednoczone i autorzy zdefiniowali ją jako „tymczasowego kolonizatora” (transient colonizers) [Antonio i in. 2009]. Według tych samych autorów, redukcja ilości pałeczek obcego szczepu prawdopodobnie następuje wskutek mechanizmów samoregulacji zachodzących w ekosystemie pochwy.

Prognoza skuteczności danego szczepu pałeczek kwasu mlekowego w leczeniu zakażeń u pacjentek jest trudna. Badania *in vitro* prowadzone na szczepach bakterii *Lactobacillus* są pomocne w pogłębianiu wiedzy o nich, jednakże odpowiedzi na kluczowe pytanie: czy dane szczepy probiotyczne mogą efektywnie modulować naturalną mikroflorę pochwy? mogą przynieść jedynie badania kliniczne. Niezbędną cechą staje się zdolność badanych szczepów pałeczek do adherencji i kolonizacji docelowego nabłonka pochwy przez okres tygodni czy też nawet miesięcy [Reid i in. 1994, Cadieux i in. 2002, Strus i in. 2008]. Błędem wydaje się lekceważenie tego wymagania i prowadzenie badań nad gatunkiem *Lactobacillus* nie dopasowanym do mikroflory pochwy danej populacji kobiet [Baerheim i in. 1994, Kontiokari in. 2001, Reid i in. 2004].

## PODSUMOWANIE

Stosowanie probiotyków ginekologicznych, o składzie jakościowym dopasowanym do flory pochwy kobiet do których są adresowane, jest właściwe i pożądane, ze względu na:

1. Występowanie różnic w biocenozach pochwy kobiet zamieszkujących różne regiony świata, nie istnieje „uniwersalny” preparat probiotyczny;
2. Istnienie różnic w przyleganiu szczepów pałeczek kwasu mlekowego do nabłonka pochwy- prawdopodobnie następuje preferencyjne przyleganie szczepów naturalnie występujących ww biocenozie pochwy danej populacji;
3. Proces samoregulacji zachodzący w pochwie wynikający z modulującego działania lokalnego układu immunologicznego pochwy- eliminowanie ze środowiska „szczepów obcych”.

## BIBLIOGRAFIA

- 1) Andreu A., Stapleton A.E., Fennell C.L., Hillier S.L., Stamm W.E. 1995. Hemagglutination, adherence, and surface properties of vaginal *Lactobacillus species*. J. Infect. Dis. 171(5): 1237-1243.
- 2) Antonio M.A., Meyn L.A., Murray P.J., Busse B., Hillier S.L. 2009. Vaginal colonization by probiotic *Lactobacillus crispatus* CTV-05 is decreased by sexual activity and endogenous *Lactobacilli*. J. Infect. Dis. 199: 1506-1513.
- 3) Antonio M.A.D., Hawes S.E., Hillier S.L. 1999. The identification of vaginal *Lactobacillus species* and the demographic and microbiologic characteristics of women colonized by these species. J. Infect. Dis. 180: 1950–1956.
- 4) Anukam K.C., Osazuwa E.O., Ahonkhai I., Reid G. 2006. *Lactobacillus* vaginal microbiota of women attending a reproductive health care service in Benin city, Nigeria. Sex Transm Dis. 33: 59–62.
- 5) Aslim B., Kilic E. 2006. Some probiotic properties of vaginal *Lactobacilli* isolated from healthy women. Jpn. J. Infect. Dis. 59: 249-253.
- 6) Baerheim A., Larsen E., Digranes A. 1994. Vaginal application of *lactobacilli* in the prophylaxis of recurrent lower urinary tract infection in women. Scand J Prim Health Care. 12: 239–243.
- 7) Cadieux P., Burton J., Gardiner G., Braunstein I., Bruce A.W., Kang C.Y., Reid G. 2002. *Lactobacillus* strains and vaginal ecology. JAMA. 287: 1940–1941.
- 8) Drews K., Kuszewska A. 2009. Zastosowanie probiotyku z estrogenem w leczeniu i profilaktyce schorzeń ginekologiczno- położniczych. Gin. Dypl. 11, 2(60): 57-62.
- 9) Du Plessis E.M., Dicks L.M. 1995. Evaluation of random amplified polymorphic DNA (RAPD)-PCR as a method to differentiate *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus gallinarum*, *Lactobacillus gasseri*, and *Lactobacillus johnsonii*. Curr Microbiol. 31: 114–118.
- 10) Falsen E., Pascual C., Sjoden B., Ohlen M., Collins M.D. 1999. Phenotypic and phylogenetic characterization of a novel *Lactobacillus species* from human sources: description of *Lactobacillus iners* sp. nov. Int J Syst Bacteriol. 49: 217–221.
- 11) Florczak K., Jurga A., Malarewicz A., Mechlińska A., Łazar M. 2008. Fazowo-kontrastowa ocena ekosystemu pochwy– występowanie i kliniczne znaczenie pałeczek kwasu mlekowego Gin Prakt. 2: 13-22.
- 12) Garg K.B., Ganguli I., Das R., Talwar G.P. 2009. Spectrum of *Lactobacillus species* present in healthy vagina of Indian women. Indian J. Med. Res. 129: 652-657.
- 13) Giorgi A., Torriani S., Dellaglio F., Bo G., Stola E., Bernuzzi L. 1987. Identification of vaginal *lactobacilli* from asymptomatic women. Microbiologica 10: 377–384.

- 14) Hillier S., Arko S. 1996. Vaginal infections. [W:] Morse S.A., Moreland A.A., Holmes K.K., eds. Atlas of sexually transmitted diseases and AIDS. 2d ed. Baltimore: Mosby-Wolfe, 79–94.
- 15) Johnson J.L., Phelps C.F., Cummins C.S., London J., Gasser F. 1980. Taxonomy of the *Lactobacillus acidophilus* group. Int J Syst Bacteriol. 30: 53–68.
- 16) Kasprowicz A., Biańska A. 2008. Ocena biocenozy pochwy- stopnie czystości pochwy. Diagnosta Laboratoryjny 2: 23-24.
- 17) Kontiokari T., Sundqvist K., Nuutinen M., Pokka K., Koskela M., Uhari M. 2001. Randomised trial of cranberry-lingonberry juice and *Lactobacillus* GG drink for the prevention of urinary tract infections in women. BMJ. 322: 1571.
- 18) Kotarski J., Dębski R., Drews K., Jakimiuk A., Paszkowski T., Pertyński T. 2008. Opinia zespołu ekspertów Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego dotycząca zastosowania preparatu prOVag w położnictwie i ginekologii. Gin. Dypl. 2: 106-108.
- 19) Lebeer S., Vanderleyden J., De Keersmaecker S.C. 2008. Genes and molecules of *lactobacilli* supporting probiotic action. Microbiol. Mol Biol. Rev. 72(4): 728-764.
- 20) Martinez R.C., Franceschini S.A., Patta M.C., Quintana S.M., Nunes A.C., Moreira J.L., Anukam K.C., Reid G., De Martinis E.C. 2008. Analysis of vaginal *lactobacilli* from healthy and infected Brazilian women. Appl Environ Microbiol. 74: 4539-45342.
- 21) Mason P.R., Maccallum M.J., Patterson B., Latif A.S. 1983 The vaginal flora of women in Zimbabwe J Obstet Gynaecol East Cent Africa. 2(3): 102-104.
- 22) McFall-Ngai M. 2007. Adaptive immunity: care for the community. Nature 445: 153.
- 23) McLean N.W., Rosenstein I.J. 2000. Characterisation and selection of a *Lactobacillus species* to re-colonise the vagina of women with recurrent bacterial vaginosis. J Med Microbiol. 49: 543-552.
- 24) Nalewczyńska A., Cendrowska A., Kowalska J., Szyszka B. 2009. Zaburzenia biocenozy pochwy-postępowanie diagnostyczne oraz leczenie. Ginekologia Praktyczna. 3: 33-36.
- 25) Niemiec T. 2009. Zakażenia w położnictwie i ginekologii. Via Medica, Gdańsk
- 26) Ocana V., Nader-Macias M.E. 2001. Adhesion of *Lactobacillus* vaginal strains with probiotic properties to vaginal epithelial cells. Biocell. 25: 265-273.
- 27) Peterek J. 1999. Bacterial vaginosis. Pharmacia Upjohn, Warszawa
- 28) Redondo-Lopez V., Cook R.L., Sobel J.D. 1990. Emerging role of *lactobacilli* in the control and maintenance of the vaginal bacterial microflora. Rev Infect Dis. 12: 856–872.
- 29) Reid G, Burton J, Devillard E. 2004. The rationale for probiotics in female urogenital health-care. Med. Gen. Med. 29: 49.
- 30) Reid G., Millsap K., Bruce A.W. 1994. Implantation of *Lactobacillus casei* var rhamnosus into the vagina. Lancet. 344: 1229.
- 31) Savage D. 1984. Overview of the association of microbes with epithelial surfaces. Microecol. Ther. 14: 169-182.
- 32) Schleifer K.H., Ludwig W. 1995. Phylogeny of the genus *Lactobacillus* and related genera. Syst Appl Microbiol. 18: 461–467.
- 33) Shi Y., Chen L., Tong J., Xu Ch. 2009. Preliminary characterization of vaginal microbiota in healthy Chinese women using cultivation-independent methods. J. Obstet. Gynaecol. Res. 35 (3): 525–532.
- 34) Stoyancheva G.D., Danova S.T., Boudakov I.Y. 2006. Molecular identification of vaginal *lactobacilli* isolated from Bulgarian women. Antonie van Leeuwenhoek 90 (3): 201-210.
- 35) Strus M.: 2005. Podstawy stosowania probiotyków dopochwowych w zakażeniach układu moczowo-płciowego. Zakażenia 4: 40-43.
- 36) Strus M., Malinowska M. 1999. Zakres antagonistycznego działania bakterii z rodzaju *Lactobacillus* na czynniki etiologiczne waginozy bakteryjnej. Med. Dośw. Mikrobiol. 51: 47-57.

- 37) Strus M., Kukła G., Rurańska-Smutnicka D., Przondo-Mordarska A., Heczko P. 2001. Właściwości powierzchniowe bakterii z rodzaju *Lactobacillus* II. Adherencja do linii komórkowych. Med. Dośw. Mikrobiol. 53: 253-258.
- 38) Strus M., Brzychczy-Włoch M., Kucharska A., Gosiewski T., Heczko P.B. 2005. Działanie *in vitro* bakterii z rodzaju *Lactobacillus* izolowanych z pochwy na grzyby wywołujące kandydozę sromu i pochwy. Med Doew Mikrobiol. 55: 7-17.
- 39) Strus M., Kochan P., Chełmicki Z., Chełmicki A., Stefański G., Dechnik K., Jabłońska E., Heczko P. 2008. Wpływ doustnego podawania trzech probiotycznych szczepów *Lactobacillus* na poprawę odczynu i składu mikroflory pochwy u kobiet w wieku reprodukcyjnym. Gin. Dypl. 3: 53-59.
- 40) Vasquez A., Jakobsson T., Ahrne S., Forsum U., Molin G. 2002. Vaginal *lactobacillus* flora of healthy Swedish women. J Clin Microbiol. 40: 2746–2749.
- 41) Velez M.P., De Keersmaecker S.C., Vanderleyden J. 2007. Adherence factors of *Lactobacillus* in the human gastrointestinal tract. FEMS Microbiol Lett 276: 140–148.
- 42) Vitali B., Pugliese C., Biagi E., Candela M., Turrone S., Bellen G., Donders G.G.G., Brigidy P. 2007. Dynamics of vaginal bacterial communities in women developing bacterial vaginosis, candidiasis, or no infection, analyzed by PCR denaturing gradient gel electrophoresis and real-time PCR. Appl. Environ Microbiol. 73: 5731–5741.
- 43) Zhou X., Hansmann M.A., Davis C.C., Suzuki H., Brown C.J., Schütte U., Pierson J.D., Forney L.J.. 2010. The vaginal bacterial communities of Japanese women resemble those of women in other racial groups. FEMS Immunol Med Microbiol. 58: 169-181.