

La microbiota vaginal: composición, papel protector, patología asociada y perspectivas terapéuticas

Rebeca Martín^a, Nora Soberón^a, Fernando Vázquez^{a,b} y Juan Evaristo Suárez^a

^aÁrea de Microbiología. Departamento de Biología Funcional. Facultad de Medicina. Universidad de Oviedo. ^bServicio de Microbiología. Hospital Monte Naranco. Oviedo. España.

La microbiota vaginal, dominada por *Lactobacillus crispatus*, *L. jensenii* y *L. gasseri*, protege a la mucosa frente al establecimiento de microorganismos patógenos mediante tres mecanismos complementarios:

a) la adherencia específica al epitelio, que bloquea su asentamiento, b) la producción de compuestos antimicrobianos y c) la coagregación con los patógenos, que potencia su efecto microbiocida. A pesar de ello, en ocasiones se ve desplazada por microorganismos indeseables, lo que se asocia con la aparición de vaginosis bacteriana, vaginitis por *Candida* spp., tricomoniasis e infecciones del tracto urinario inferior. Muy raramente, los lactobacilos causan patología, invariablemente en pacientes inmunodeprimidos. Los cuadros dominantes son bacteriemias (alrededor del 50% de los casos) y endocarditis (30%). Sin embargo, no se ha descrito patología genital por lactobacilos. El efecto mutualista de los lactobacilos sugiere que su instilación podría regenerar el ecosistema vaginal, eliminando las recidivas asociadas al tratamiento de la infección.

Palabras clave: Microbiota vaginal. *Lactobacillus*. Antagonismo microbiano. Patología vaginal. Probiótico.

Vaginal microbiota: Composition, protective role, associated pathologies, and therapeutic perspectives

Vaginal microbiota, mainly comprised of *Lactobacillus crispatus*, *L. jensenii* and *L. gasseri*, protect the mucosa against the establishment of pathogenic microorganisms through three complementary mechanisms: a) specific adherence to the epithelium, which blocks colonization of pathogens, b) production of antimicrobial compounds, and c) co-aggregation with pathogens, which enhances their microbiocidal effect. Despite these mechanisms, vaginal microbiota are sometimes displaced by undesirable microorganisms, which is associated with the development of bacterial vaginosis, vaginitis due to

***Candida* spp., trichomoniasis, and lower urinary tract infections. On rare occasions, lactobacilli cause disease, but exclusively in immunocompromised patients. The main conditions are bacteremia (about 50% of the cases) and endocarditis (30%). However, no genital pathology caused by lactobacilli has been reported. The mutualistic effect of lactobacilli suggests that instillation of these microorganisms might regenerate the vaginal ecosystem, thus eliminating the relapses associated with treatment of the infection.**

Key words: Vaginal microbiota. *Lactobacillus*. Microbial antagonism. Vaginal pathology. Probiotics.

La microbiota vaginal

En la tabla 1 se presenta una relación de los microorganismos que se detectan con regularidad en la vagina de mujeres sanas. La mayoría son típicos del hábitat intestinal, lo que sugiere que el tracto entérico podría actuar como reservorio de dichos agentes infecciosos. Sin embargo, las frecuencias relativas son muy distintas a las encontradas en la porción final del tubo digestivo. Las diferencias más notables son las siguientes: los lactobacilos son dominantes en la vagina, hasta el punto de ser prácti-

TABLA 1. Géneros de microorganismos que se encuentran en la vagina de mujeres sanas

Cocos y bacilos grampositivos anaerobios aerotolerantes	<i>Lactobacillus</i> <i>Streptococcus</i>
Cocos y bacilos grampositivos anaerobios facultativos	<i>Corynebacterium</i> <i>Gardnerella</i> <i>Staphylococcus</i> (fundamentalmente <i>S. epidermidis</i>)
Bacilos gramnegativos anaerobios facultativos	<i>Escherichia</i> <i>Klebsiella</i> <i>Proteus</i>
Micoplasmas	<i>Mycoplasma</i> (sobre todo <i>M. hominis</i>) <i>Ureaplasma</i>
Bacilos y cocos grampositivos anaerobios estrictos	<i>Atopobium</i> <i>Peptococcus</i> <i>Peptostreptococcus</i> <i>Clostridium</i> <i>Bifidobacterium</i> <i>Propionibacterium</i> <i>Eubacterium</i>
Bacilos gramnegativos anaerobios estrictos	<i>Bacteroides</i> <i>Prevotella</i>

Correspondencia: Dr. J.E. Suárez.
Área de Microbiología. Departamento de Biología Funcional.
Facultad de Medicina. Universidad de Oviedo.
Julián Clavería, 6. 33006 Oviedo. España.
Correo electrónico: evaristo@uniovi.es

Manuscrito recibido el 10-7-2006; aceptado el 18-12-2006.

camente exclusivos en muchos casos¹; mientras que son minoritarios en el intestino, no siempre aparecen y cuando lo hacen su proporción nunca es mayor del 1%². En general, el porcentaje de muestras de exudado vaginal que presentan predominancia de los lactobacilos es superior al 70%, tanto si el procesamiento de las mismas incluye el cultivo^{3,4} como si se hace por métodos genotípicos⁵⁻⁷. Por otro lado, las bacterias grampositivas o gramnegativas anaerobias estrictas de los grupos *Clostridium-Eubacterium* y *Bacteroides-Prevotella*, respectivamente, que dominan el hábitat intestinal, aparecen esporádicamente en la vagina, lo que sugiere que en esta mucosa son transeúntes más que colonizadoras.

Los lactobacilos vaginales

Desde el primer estudio microbiológico de la vagina humana, realizado por Döderlein⁸, los lactobacilos han sido descritos consistentemente como los microbios dominantes en dicho hábitat⁹⁻¹¹. Por ello, se considera que tienen un papel crítico en el mantenimiento del ecosistema vaginal al prevenir la excesiva proliferación de microorganismos indígenas, como *Gardnerella vaginalis*, que cuando se convierten en dominantes pueden inducir alteraciones como la vaginosis. Igualmente, impedirían la colonización por patógenos y la aparición de vaginitis y cervicitis, que podrían complicarse con afectación de estructuras regionales como el útero y las glándulas de Bartolino o incluso convertirse en infección sistémica.

Características generales

Los lactobacilos varían desde formas muy alargadas a bastante cortas y desde rectas a curvadas e incluso espiraladas. Se les incluye habitualmente en el grupo amplio y heterogéneo de las bacterias del ácido láctico, caracterizadas por ser grampositivas, no esporuladas y con un catabolismo de los azúcares estrictamente fermentativo, cuyo producto final predominante es dicho ácido orgánico. En general, son bacterias anaerobias aerotolerantes. Presentan genomas pequeños, por lo que son muy exigentes nutricionalmente. Sin duda, su inocuidad como agentes infecciosos se debe también en parte a esta escasez de información genética; por ejemplo, no se han descrito en ninguna de las cuatro cepas secuenciadas hasta el momento genes codificantes de factores de virulencia.

Taxonomía

La adscripción precisa de los lactobacilos aislados de vagina a especies concretas va a depender de los métodos de identificación empleados, observándose una disparidad en los datos obtenidos cuando se usan técnicas que ponen de manifiesto cualidades fenotípicas y las que determinan propiedades genotípicas.

En los métodos dependientes de cultivo se incluyen habitualmente dentro del género *Lactobacillus* los aislados bacilares, no esporulados, grampositivos y catalasa negativos. Adicionalmente, puede emplearse como criterio el desarrollo en medio MRS, aunque esta última exigencia puede dejar fuera a algunas especies como *L. iners*. En todo caso, en los aislamientos primarios los lactobacilos se comportan como organismos fastidiosos, y es aconsejable la incubación en medios enriquecidos con hemo (hemi-

na, hemoglobina o sangre) y la atmósfera enriquecida en CO₂ o incluso anaerobia.

Una vez purificados, los aislados se suelen someter a las pruebas de identificación que, tradicionalmente, consistían en la determinación de la capacidad de la cepa en estudio para fermentar diferentes fuentes de carbono y de crecer en medios con concentraciones crecientes de sal¹². Más recientemente se popularizaron las galerías miniaturizadas. Tanto unas pruebas como las otras indican que la vagina está colonizada preferentemente por *L. acidophilus*^{4,12-14} y/o *L. fermentum*¹⁵.

Sin embargo, cuando se aplican métodos genotípicos de identificación a los mismos aislados, prácticamente ninguno puede adscribirse a cualquiera de esas dos especies, y las predominantes son *L. crispatus*, *L. gasseri* y *L. jensenii*, tanto si se analiza el grado de homología de los ADN cromosómicos^{16,17}, se determina la huella genética (DNA fingerprinting)⁵ o las secuencias de los ARNr 16S^{18,19}. Por estos métodos también se detectan con frecuencia en la vagina otras especies como *L. iners*^{6,7} y *L. vaginalis*¹⁴.

La disparidad entre los métodos fenotípicos y genotípicos parece deberse a la diversidad bioquímica intraespecífica de los lactobacilos vaginales y a la ausencia de algunas especies en las bases de datos de las galerías comerciales (Boyd et al¹⁴, encontraron sólo el 4% de coincidencia en un estudio con 97 cepas de origen vaginal).

Bases de la interacción bacilo de Döderlein-hospedador

Como hemos visto, los lactobacilos son predominantes en la vagina de las mujeres fértiles e impiden la colonización de la mucosa por microorganismos indeseados, generadores de patología urogenital. Es cierto que mujeres colonizadas por bacterias alternativas como *Atopobium* u otras^{7,19} parecen estar también protegidas, lo que indica que el requerimiento de una microbiota dominada por *Lactobacillus* no es absoluto. Ahora bien, estos otros organismos aparecen esporádicamente, por lo que sigue considerándose que los lactobacilos son fundamentales para el mantenimiento de la homeostasis vaginal, y son los principales candidatos para ser usados en terapias de reposición en procesos patológicos que la afecten²⁰.

Las propiedades de la microbiota vaginal que le permiten colonizar la mucosa e impedir el establecimiento o la proliferación excesiva de microorganismos potencialmente patógenos son de dos tipos: a) la adherencia específica a las células epiteliales y a dichos patógenos, y b) la producción de compuestos antimicrobianos.

Adherencia al epitelio vaginal e inhibición de la colonización por organismos indeseados

La protección de la mucosa vaginal depende del reconocimiento específico entre las estructuras superficiales de los lactobacilos (adhesinas) y del epitelio (receptores).

Las adhesinas forman parte del glucocaliz o de la pared celular y su composición parece ser variada. Así se han descrito los ácidos lipoteicoicos²¹, proteínas extracelulares²², carbohidratos y glucoproteínas²³, aunque aún no se ha purificado ningún componente de las cubiertas bacterianas que se una específicamente a las células de la mucosa vaginal.

TABLA 2. Influencia de la presencia de *Lactobacillus* spp. en vagina y de la producción de peróxido de hidrógeno sobre la frecuencia de vaginosis bacteriana

	Número* y (%) de pacientes al inicio	% de pacientes con vaginosis al inicio	Riesgo de adquisición de vaginosis**
Lactobacilos H ₂ O ₂ ⁺	118 (65)	3	1,0
Lactobacilos H ₂ O ₂ ⁻	40 (22)	25	2,2
No lactobacilos	24 (13)	46	4,0

*Características de la muestra: 182 mujeres de entre 16 y 45 años (media 26 años).

**Visitas periódicas (cada cuatro meses) durante un máximo de dos años. Tomada de Hawes et al³⁶.

Respecto a los receptores localizados en la superficie del epitelio, aún se sabe menos. Se ha observado que la fibronectina, que es una glucoproteína que forma parte de la matriz extracelular, es reconocida específicamente por lactobacilos aislados de vagina, cuya unión se ve favorecida en condiciones de acidez; así, cepas que no se unen a pH neutro sí lo hacen a pH 4²⁴. Este hecho, unido a la baja capacidad de cepas de bacterias intestinales anaerobias para unirse a dicha macromolécula²⁵, tiene implicaciones ecológicas evidentes. La unión de los lactobacilos también podría ser directa a glucolípidos de la membrana de las células vaginales, en un proceso mediado por cationes divalentes²³.

El resultado de la asociación entre los lactobacilos y el epitelio vaginal es la formación de una biopelícula que lo protege frente a la colonización por microorganismos indeseados²⁴⁻²⁶. Este efecto se ve potenciado por la capacidad de los lactobacilos vaginales para coagregar con los patógenos potenciales. La mayoría de aislados vaginales autoagregan, propiedad que desaparece tras el tratamiento de las células con proteinasa K, por lo que se postula que dicho efecto sería dependiente de la producción de una proteína exocelular²⁶. La capacidad de agregación se manifiesta también respecto a otros microorganismos como *Escherichia coli*, *G. vaginalis* y *Candida albicans*, lo cual induce un efecto antimicrobiano notable, probablemente como consecuencia de que el contacto estrecho que se establece aumenta la efectividad del ácido láctico, el peróxido de hidrógeno y otros productos microbiocidas generados por los lactobacilos²⁶⁻²⁹.

Producción de compuestos antimicrobianos

Ácidos orgánicos

El pH fisiológico de la vagina es de aproximadamente 4. Este ambiente ácido inhibe parcial o totalmente el desarrollo de la mayor parte de las bacterias procedentes del tracto digestivo y de las de origen ambiental, siendo así un mecanismo de protección de la mucosa muy eficaz, hasta el punto de que un rasgo diferencial de la vaginosis es un exudado con un pH próximo a la neutralidad^{30,31}.

El origen de la acidez vaginal es el ácido láctico que se genera como producto final del metabolismo fermentativo de los glúcidos, que llevan a cabo los lactobacilos residentes y las propias células epiteliales.

Las células vaginales tienden a acumular glucógeno, especialmente durante el período comprendido entre la menarquia y la menopausia, por lo que se considera que

este glúcido es la fuente de la que deriva la acidez vaginal. Debido a ello, es creencia generalizada que los lactobacilos escinden el glucógeno a glucosa y ésta a ácido láctico. Sin embargo, no hay evidencia de que la degradación de glucógeno sea una característica general de estas bacterias. De hecho, en los artículos en los que se trata este tema, todos ellos muy antiguos, la evidencia es la contraria^{12,13,32}. Así pues, es probable que el glucógeno vaginal sea degradado hasta glucosa por las propias células del epitelio, de modo que el papel de los lactobacilos sería la fermentación de dicho azúcar para generar el ácido láctico responsable del antagonismo frente a la colonización por microorganismos indeseados. En apoyo de esta hipótesis está el hecho de que en la vagina aparecen los isómeros L y D del ácido láctico en proporciones semejantes. La generación de ambas formas quirales es característica de *Lactobacillus* spp., mientras que nuestras células sólo generan el isómero L^{33,34}.

Peróxido de hidrógeno

La producción de agua oxigenada parece ser común entre ciertas especies de lactobacilos como *L. crispatus* y *L. jensenii*, mientras que es excepcional en otras como *L. fermentum* y los lactobacilos que habitan preferentemente en el intestino, como *L. plantarum* y *L. casei*, incluso aunque se aislen de la vagina^{16,35}. Las cepas productoras de H₂O₂ son más estables en el ambiente vaginal¹⁷ y protegen mejor la mucosa frente a las alteraciones causadas por microorganismos indeseados (tabla 2)^{1,4,36}, incluyendo productos de infecciones de transmisión sexual (ITS) como *Neisseria gonorrhoeae*³⁷. Ahora bien, el efecto antagonista es mayor cuando se asocia a especies determinadas; así, en un estudio con 174 pacientes se encontró que la frecuencia de vaginosis era del 9% en mujeres que albergaban cepas de *L. crispatus* o *L. jensenii*, mientras que subía hasta el 44% en las colonizadas por otros lactobacilos productores de H₂O₂³⁵.

El efecto bactericida del agua oxigenada viene determinado por su capacidad oxidante y por la generación, a partir de ella, de metabolitos como el radical OH⁻, que dañan la integridad del ADN celular. Dicho efecto se potencia por la mieloperoxidasa y los radicales haluro, como el Cl⁻, que son abundantes en las secreciones biológicas y cuya elevada concentración en el mucus uterino es especialmente pertinente, sobre todo durante la ovulación^{38,39}.

Bacteriocinas

Son polipéptidos con actividad antimicrobiana que, al contrario que los antibióticos peptídicos, se sintetizan en los ribosomas. Las bacterias lácticas producen multitud de bacteriocinas, alguna de las cuales, como la nisina, se emplea como conservante alimentario. Suelen ser moléculas anfipáticas que originan la apertura de poros en las membranas e incluso la lisis celular, ya que algunas se unen al lípido II de la pared (el mismo que es reconocido por la vancomicina)^{40,41}. Aunque se han descrito múltiples actividades compatibles con la producción de bacteriocinas por lactobacilos de origen vaginal, sólo hay dos casos en los que existe evidencia; uno de ellos es un péptido de 3,8 kDa activo sobre cepas de *G. vaginalis*, mientras que el otro inhibe diversas cepas de *Enterococcus*^{42,43}. Ahora bien, el papel antagonista real de las bacteriocinas no se conoce, ya que su efecto bactericida sólo se ha comprobado *in vitro*.

Agentes tensioactivos

Son compuestos anfífilos que originan una disminución de la tensión superficial, favoreciendo la solubilización de sustancias hidrofóbicas. Se han descrito dos agentes tensioactivos, producidos respectivamente por una cepa de *L. acidophilus* y otra de *L. fermentum*, que inhiben la adhesión de *E. faecalis* y de *E. coli*, pero no la de *C. albicans*, a la goma de silicona de los catéteres^{44,45}. Desafortunadamente, no se ha probado si también inhiben la adherencia de bacterias indeseadas a las células del epitelio vaginal. Por otra parte, los agentes tensioactivos solubilizan lípidos, de manera que podrían ser letales para virus envueltos y para micoplasmas, los cuales serían especialmente susceptibles al carecer de pared celular^{46,47}.

Los lactobacilos en retirada: patología asociada

En ocasiones, la concentración de lactobacilos en la vagina disminuye por debajo de un nivel crítico, a pesar del enorme arsenal que acabamos de describir en el apartado anterior. Esta circunstancia es aprovechada por microorganismos que se encuentran habitualmente en la vagina sana y/o por otros de origen exógeno, que proliferarán hasta hacerse dominantes, comportándose así como patógenos oportunistas⁴⁸.

Los cuadros que se han asociado a la disminución de lactobacilos sobre el epitelio vaginal son cuatro: la vaginosis bacteriana, cuyos agentes etiológicos más habituales son *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Prevotella* y *Peptostreptococcus*^{49,50}; la candidiasis, producida por *Candida albicans* (en el 85% de los casos), *C. glabrata* y *C. tropicalis*⁵¹; la tricomoniasis, consecuencia de la proliferación de *Trichomonas vaginalis*⁵² y las infecciones del tracto urinario inferior, causadas sobre todo por enterobacterias de origen intestinal (*Escherichia coli* es responsable de al menos el 80% de los casos) aunque, en ocasiones, se aíslan cocos grampositivos como *Enterococcus faecalis*⁵³.

Ahora bien, la desaparición de los lactobacilos vaginales ¿es la causa o el efecto de la proliferación excesiva de los patógenos? Para responder a esta cuestión hemos de tener en cuenta que el hábitat vaginal sufre frecuentes cambios originados por su propia fisiología. Así, el aumento cíclico de la concentración de hormonas esteroideas, que ayuda al desarrollo de los lactobacilos, también es beneficioso para algunos de los patógenos potenciales. Por ejemplo, los estrógenos parecen favorecer la adherencia de *Candida* al epitelio⁵⁴ y la proliferación de *T. vaginalis*, hasta el punto de que este último organismo puede desarrollarse transitoriamente en la vagina de niñas recién nacidas debido a las hormonas recibidas por vía trasplacentaria, pero desaparece a las pocas semanas según se van metabolizando^{52,55}.

Por otro lado, la descarga menstrual o el semen tienen un pH próximo a la neutralidad, circunstancia en la que los lactobacilos tienen dificultades para crecer, y en este último caso el grado de acidez protector tarda varias horas en recuperarse^{56,57}. El uso de tampones coadyuvaría al mantenimiento de un pH excesivamente elevado durante períodos prolongados. Si unimos estos datos al hecho de que un pH vaginal superior a 4,7 es uno de los signos característicos de la vaginosis y de la tricomoniasis^{30,52}, po-

driamos postular que la disminución de la acidez vaginal es un factor predisponente importante para la proliferación excesiva de los patógenos oportunistas.

Ahora bien, la alcalinización del ambiente vaginal puede no ser la causa, sino la consecuencia del desarrollo excesivo de algunos patógenos. Por ejemplo, *G. vaginalis* y *T. vaginalis* presentan una potente actividad aminoácido descarboxilasa, por lo que generan aminas biógenas, las cuales, aparte de su efecto anafiláctico, originan la elevación del pH, favoreciendo la expansión de dichos organismos y la inhibición de los lactobacilos. Adicionalmente, las aminas son responsables del olor pútrido, típico de la secreción, que aumenta con la adición de KOH al 10% y que constituye otro signo de diagnóstico relevante^{30,52}. La descarboxilación de los aminoácidos genera, además, CO₂, lo que podría favorecer la sobreinfección por bacterias anaerobias como *Prevotella* y *Peptostreptococcus*.

Complementariamente, tanto los dispositivos intrauterinos como los espermicidas inhiben el desarrollo de los lactobacilos, favoreciendo así la aparición subsiguiente de vaginosis y vaginitis^{58,59}. Por último, los antibióticos usados en el tratamiento sistémico de infecciones y los agentes antineoplásicos (que suelen ser activos además frente a bacterias grampositivas) permean al exudado vaginal, provocando también, con frecuencia, una alteración sustancial de la microbiota de ocupación^{58,60,61}.

Los cuadros derivados de la disminución de los lactobacilos vaginales parecen inducir complicaciones importantes. Así, se han asociado con infecciones posquirúrgicas⁶² y como predisponentes para la adquisición de ITS producidas por *N. gonorrhoeae*, *Chlamydia* spp. y VIH^{63,64}. Ahora bien, estas últimas podrían no ser solamente consecuencia, sino también causa de la vaginosis y de la vaginitis; la inflamación, pus, mucosidad e incluso hemorragias cervicales que se asocian a las ITS podrían alterar el microambiente vaginal y causar la desaparición de los lactobacilos, lo que sería aprovechado por los patógenos oportunistas⁵⁷.

Aunque las infecciones del tracto urinario inferior (ITU) no son propiamente genitales, la colonización vaginal por parte de las bacterias causales, cuyo reservorio es el intestino grueso, parece ser un paso intermedio esencial en su migración a la región periuretral y, posteriormente, a la vejiga⁶⁵. Así, se ha encontrado que la frecuencia de ITU es inversamente proporcional a la presencia de una microbiota normal, dominada por lactobacilos, en la vagina de las mujeres sanas⁶⁶. Complementariamente, se ha determinado que la ITU iba prácticamente siempre precedida de la colonización vaginal por parte de los patógenos urinarios⁶⁷. Así podría explicarse también por qué dichos cuadros son predominantes en mujeres posmenopáusicas, que han perdido gran parte de los lactobacilos vaginales y son, por ello, más susceptibles a la colonización por *E. coli* y otras enterobacterias⁶⁸. También explicaría la relación entre la reducción de ITU y el tratamiento estrogénico en este grupo de pacientes, que induce la recolonización de la mucosa por *Lactobacillus* spp.⁶⁹.

Infecciones por *Lactobacillus*

En general se asume que los lactobacilos son bacterias inocuas y, de hecho, se les considera microorganismos GRAS (Generally Regarded As Safe) por la Food and Drug

Administration (FDA) debido a que se consumen de manera habitual como parte de los productos fermentados, sin que ello suponga ningún problema de Salud Pública.

Ahora bien, en algunas ocasiones se les ha asociado a procesos patológicos. Así, en una revisión reciente⁷⁰ se computaron los 241 casos aparecidos en la literatura médica entre 1950 y 2003 (aunque en ella refieren a una revisión anterior⁷¹ cuyos datos abarcan desde 1938). De ellos, 129 eran bacteriemias (53,5%); 73, endocarditis (30,3%) y 39, infecciones localizadas (16,2%). Entre estas últimas, la localización pulmonar era prevalente (38,5% de los casos), seguida de los abscesos (20,5%). Curiosamente, la infección digestiva es extremadamente rara y no se han descrito casos de afectación ginecológica.

Los agentes etiológicos se identificaron en 140 casos, y los más frecuentes fueron los lactobacilos heterofermentadores facultativos de los grupos *L. casei* - *L. paracasei* (42,8%), *L. rhamnosus* (22,9%) y *L. plantarum* (10%), cuyo hábitat preferencial es el ambiente externo. El conjunto de lactobacilos que aparecen habitualmente en la vagina (*L. acidophilus*, *L. gasseri*, *L. jensenii*, y *L. fermentum*) todos ellos homofermentadores estrictos, eran responsables del 15,7% de las infecciones (esto representa 22 casos en 53 años, lo que indica que la traslocación desde la vagina, si existe, es muy infrecuente).

En un estudio llevado a cabo en Finlandia, se encontró que la incidencia de bacteriemia por lactobacilos era de aproximadamente el 0,02% de todos los hemocultivos procesados entre 1995 y 2000, lo que supone una tasa de 0,3 casos/100.000 habitantes⁷². Por otra parte, diversos análisis de incidencia muestran bacilinemia en entre el 0,1 y el 0,4% de los hemocultivos positivos⁷¹⁻⁷³.

En alrededor del 40% de bacteriemias y de infecciones localizadas la afección era polimicrobiana, y los organismos acompañantes más comunes eran *Candida*, *Streptococcus* y *Enterococcus*. Como era de esperar, las infecciones mixtas se asocian a un peor pronóstico.

Invariablemente, los pacientes presentaban enfermedades de base graves o condiciones que deprimían significativamente el sistema inmune, y las más frecuentes eran cáncer, diabetes, infección previa tratada con antibióticos de amplio espectro y trasplantes, especialmente hepático.

El factor predisponente más importante en casos de endocarditis es la cardiopatía previa seguida de la manipulación dental. Las infecciones mixtas son muy escasas en esta localización.

Así pues, podemos concluir que los lactobacilos son organismos oportunistas que únicamente producen infección en personas con enfermedades subyacentes graves, especialmente las que inducen inmunodepresión^{71,74}. Esto hizo que se planteara la conveniencia o no de eliminar de la dieta de estos pacientes los productos fermentados, especialmente los que contienen organismos probióticos, ya que éstos suelen ser resistentes a la acidez estomacal y a la bilis. Sin embargo, son numerosos los estudios que no encuentran una relación entre el consumo de estos alimentos y un incremento en la incidencia de las infecciones por lactobacilos en inmunodeprimidos^{72,75}, incluyendo a afectados de SIDA⁷⁶. A pesar de ello, en un estudio reciente sobre bacteriemias se encontró que en casi el 50% de las infecciones causadas por *L. rhamnosus* el perfil genómico era indistinguible del de *L. rhamnosus* GG, una bacteria de origen intestinal que se usa como probiótica desde 1990⁷⁷.

Perspectivas terapéuticas: los lactobacilos vaginales como agentes probióticos

El término probiótico designa “microorganismos vivos que, administrados en cantidades adecuadas, ejercen un efecto beneficioso sobre la salud”⁷⁸. El concepto deriva de la observación de Metchnikoff⁷⁹ de que las poblaciones que consumían leche fermentada tenían una esperanza de vida superior a la del resto. Esto le llevó a postular que las bacterias responsables de la fermentación desplazarían a los “organismos putrefactivos” del intestino grueso, eliminándose así la generación de sustancias tóxicas como las aminas biógenas, el indol, la urea y el ácido sulfídrico.

Sin embargo, la asunción de que la administración de bacterias en grandes cantidades causaría su establecimiento sobre las mucosas resultó ser excesivamente optimista, ya que pasó por alto una de las principales características de los ecosistemas complejos: la homeostasis, por la que cada miembro de la comunidad tiene un papel complementario al de todos los demás, lo que impide en la práctica la sustitución de cualquier miembro autóctono por los organismos que se administran desde el exterior^{2,80}.

Ahora bien, el ecosistema vaginal es mucho menos complejo que el intestinal y los lactobacilos son dominantes en él, por lo que, en principio, debería ser más sencillo promover la reposición de una microbiota normal después de su alteración por un proceso patológico o como consecuencia de un tratamiento quimioterápico.

El uso de lactobacilos para tratar infecciones del tracto genitourinario data de 1915, cuando Newman los inyectó en la vejiga urinaria para tratar la cistitis⁸¹. El advenimiento de la antibioticoterapia relegó estas prácticas hasta que, hacia 1970, empezó a evidenciarse que dichos tratamientos eran parcialmente ineficaces, con altos porcentajes de recidivas que obligaban, en ocasiones, al uso profiláctico continuado de los quimioterápicos, lo que, a su vez, inducía la aparición de efectos secundarios y la selección de mutantes resistentes.

Todas estas razones hicieron renacer el interés en la terapia de reposición microbiana. Sin embargo, no parece que la instilación de lactobacilos haya dado resultados satisfactorios hasta muy recientemente^{65,82}. Esta falta de éxito podría estar motivada por una selección deficiente de las cepas (en algunos casos tenían origen ambiental, lácteo o animal) y el hecho de que casi siempre se administraban cepas únicas, lo que probablemente no proporcione el abanico de propiedades necesario para que se genere un ecosistema maduro, en el que sus componentes establezcan una relación a largo plazo entre sí y con la mujer hospedadora. Por último, los lactobacilos silvestres, tanto los indígenas de la propia vagina como los de origen rectal, parecen tener una gran capacidad de recolonización de la mucosa vaginal, por lo que competirán con las cepas presentemente probióticas^{35,83}.

La mayor parte de los trabajos realizados en los últimos años para seleccionar cepas con propiedades probióticas han partido de muestras de mucosa vaginal, en general procedentes de mujeres sanas. Lógicamente, este origen aumenta las posibilidades de que las células se adhieran bien a la mucosa, lo que facilitaría su implantación, y de que sean capaces de coagregar eficientemente con los pa-

tógenos más habituales, para maximizar el efecto del ácido láctico, el agua oxigenada y otros agentes antimicrobianos sobre ellos.

Ahora bien, ninguna de estas propiedades manifestadas *in vitro* garantiza una buena implantación y antagonismo frente a los microorganismos indeseados. Por ello, es necesario llevar a cabo ensayos clínicos bien diseñados, incluyendo la metodología a doble ciego, para evaluar adecuadamente el potencial de las cepas candidatas a convertirse en probióticos urogenitales.

En realidad, este segundo filtro ha sido superado tan sólo por la administración conjunta de *L. rhamnosus* GR1 y *L. reuteri* B-54 o *L. reuteri* RC-14. La primera de estas cepas se eligió por su capacidad de inhibir el desarrollo de algunas bacterias gramnegativas y por su resistencia a los espermicidas, mientras que las dos restantes son productoras de H₂O₂⁸⁴. Parece, además, que GR1 podría inhibir la respuesta inflamatoria de la mucosa y que RC14 estimularía la secreción de mucina, lo que podría actuar como una barrera frente al establecimiento de patógenos sobre el epitelio⁸⁵.

Inicialmente, la administración se hacía por vía vaginal, en cápsulas de gelatina que se instilaban una o dos veces por semana y contenían alrededor de 10⁹ bacterias viables liofilizadas. Se consiguió así hacer descender la frecuencia de recurrencias de ITU desde 6 a 1,6 episodios al año, un valor semejante al observado cuando se llevaba a cabo un tratamiento profiláctico continuado con nitrofurantoina u otros antimicrobianos^{85,86}.

El hecho de que el recto actúe como un reservorio para los lactobacilos vaginales³⁵ sugiere que la ingestión de cepas probióticas podría ser una ruta de administración alternativa a la vaginal. Basándose en este principio, se observó que la ingestión continuada de dosis elevadas de *L. rhamnosus* GR1 y de *L. reuteri* RC14 resultaba en su aislamiento de vagina a partir de una semana de tratamiento, aunque su persistencia variaba según las pacientes después de interrumpir la administración⁸⁷. Complementariamente, un estudio semejante con 64 mujeres asintomáticas reveló que las que habían ingerido las cepas probióticas presentaban un incremento significativo del grado de colonización por lactobacilos (aunque no se determinó si era debido al establecimiento de dichas cepas o bien a la recuperación de cepas indígenas de las pacientes). Dicho incremento se acompañaba de la reducción de la colonización por *Candida* y uropatógenos⁸⁴. Estos datos son esperanzadores, pero requieren de una evaluación de la capacidad de las cepas probióticas administradas oralmente para, por si solas, revertir la sintomatología asociada a la infección genitourinaria.

También presenta un especial interés determinar si la administración de cepas de lactobacilos inmediatamente después de un tratamiento antibiótico incide en las tasas de curación y en la prevención de recurrencias y de infecciones oportunistas. En un primer trabajo se sometió a mujeres tratadas con cotrimoxazol durante tres días, a una terapia de reposición, por vía vaginal, con la mezcla de *L. rhamnosus* GR1 y *L. reuteri* B54, como consecuencia de la cual se observó una disminución significativa de las recurrencias de ITU⁸⁸. En un segundo estudio, se partió de una muestra de 360 mujeres afectadas de tricomoniasis (76%), candidiasis (17%), vaginosis (5,5%) o infección polimicrobiana (1,5%). A las que presentaban tricomoniasis y

vaginosis se las trató con metronidazol, mientras que a las que sufrían candidiasis se les administró fluconazol (en ambos casos por vía sistémica). Dos días después de finalizado el tratamiento se inició la terapia de reposición con tabletas vaginales contenedoras de, al menos, 10⁷ lactobacilos viables y 30 µg de estradiol, que se mantuvo durante al menos 6 días. Las muestras tomadas una y seis semanas después de la finalización de este tratamiento indicaron que la colonización por lactobacilos era mayoritaria en alrededor del 70% de las mujeres tratadas, mientras que no llegaba al 50% en las que recibieron placebo. Diferencias semejantes se observaban respecto a la resolución clínica del problema y al número de recaídas en los dos años siguientes. Es una pena que los datos aportados no nos permitan discriminar entre el papel desempeñado por la cepa probiótica y el debido al estrógeno que la acompañaba⁸³.

Hasta el momento sólo existe un estudio en el que se hayan usado cepas probióticas por vía oral como terapia de reposición tras un tratamiento antibiótico. En él, 125 mujeres con vaginosis sintomática fueron tratadas con metronidazol y una mezcla de lactobacilos durante una semana. La preparación probiótica se les administró durante 23 días más y se determinó el grado de reversión vaginal a la normalidad. El 96% de las tratadas y el 53% de las control presentaban una microbiota dominada por *Lactobacillus* spp., lo que se correspondía con un porcentaje de curación del 88 y del 40%, respectivamente. Ninguna de las mujeres del grupo que recibió las cepas probióticas presentaba una vaginitis franca, situación que se observó en el 30% de las que recibieron placebo⁸⁹.

Consideración final

Como hemos visto, la microbiota de ocupación es esencial para el mantenimiento de la salud vaginal. Habitualmente, cuando ésta se ve alterada como consecuencia de la infección por microorganismos indeseables, el tratamiento incluye el uso de inhibidores del desarrollo microbiano, lo que, en ocasiones, altera aún más el ecosistema, dificultando la recuperación y abriendo las puertas a procesos crónicos recidivantes. Por ello, hace ya algunos años se planteó que una alternativa de tratamiento más juiciosa sería tratar de devolver la homeostasis al ecosistema vaginal, dotándolo de nuevo de los mecanismos de refractividad frente a la infección que habían actuado hasta ese momento. Aunque el reto es importante, los datos que empiezan a acumularse indican que ésta puede ser una alternativa terapéutica fiable y efectiva, de fácil administración y sin efectos secundarios notables.

Agradecimientos

Queremos agradecer el apoyo financiero a nuestra investigación que se realiza con cargo al proyecto SAF2004-00033 de CICYT y a los contratos CN-05-048 y CN-05-049 con la empresa Mercadona S.A. Rebeca Martín es becaria predoctoral de la FICYT (Principado de Asturias).

Bibliografía

1. Eschenbach DA, Davick PR, Williams BL, Klebanoff SJ, Young-Smith K, Critchlow CM, et al. Prevalence of hydrogen peroxide-producing *Lactobacillus* species in normal women and women with bacterial vaginosis. *J Clin Microbiol.* 1989;27:251-6.

2. Zoetendal EG, Vaughan EE, De Vos WM. A microbial world within us. *Mol Microbiol.* 2006;59:1639-50.
3. Bayó M, Berlanga M, Agut M. Vaginal microbiota in healthy pregnant women and prenatal screening of group B streptococci (GBS). *Int Microbiol.* 2002;5:87-90.
4. Álvarez-Olmos MI, Barousse MM, Rajan L, Van Der Pol BJ, Fortenberry D, Orr D, et al. Vaginal lactobacilli in adolescents: presence and relationship to local and systemic immunity, and to bacterial vaginosis. *Sex Trans Dis.* 2004;31:393-400.
5. Matsumiya Y, Kato N, Watanabe K, Kato H. Molecular epidemiological study of vertical transmission of vaginal *Lactobacillus* species from mothers to newborn infants in Japanese, by arbitrarily primed polymerase chain reaction. *J Infect Chemother.* 2002;8:43-9.
6. Burton JP, Cadieux PA, Reid G. Improved understanding of the bacterial vaginal microbiota of women before and after probiotic instillation. *Appl Environ Microbiol.* 2003;69:97-101.
7. Zhou X, Bent S, Schneider M, Davis C, Islam M, Forney L. Characterization of vaginal microbial communities in adult healthy women using cultivation-independent methods. *Microbiology.* 2004;150:2565-73.
8. Döderlein ASG. Das Scheidensekret und seine bedeutung für das puerperalfieber. Leipzig: O. Durr; 1892.
9. Redondo-López V, Cook RL, Sobel JD. Emerging role of lactobacilli in the control and maintenance of the vaginal bacterial microflora. *Rev Infect Dis.* 1990;12:856-72.
10. Boris S, Barbés C. Role played by lactobacilli in controlling the population of vaginal pathogens. *Microbes Infect.* 2000;2:543-6.
11. Lepargneur JP, Rousseau V. Rôle protecteur de la flore de Doderlein. *J Gynecol Obstet Biol Reprod.* 2002;31:485-94.
12. Wylie JG, Henderson A. Identity and glycogen-fermenting ability of lactobacilli isolated from the vagina of pregnant women. *J Med Microbiol.* 1969;2:363-6.
13. Rogosa M, Sharpe ME. Species differentiation of human vaginal lactobacilli. *J Gen Microbiol.* 1960;23:197-201.
14. Boyd MA, Antonio MA, Hillier SL. Comparison of API 50 CH strips to whole-chromosomal DNA probes for identification of *Lactobacillus* species. *J Clin Microbiol.* 2005;43:5309-11.
15. Song YL, Kato N, Matsumiya Y, Liu CX, Kato H, Watanabe K. Identification of *Lactobacillus* species of human origin by a commercial kit, API50CHL. *Rinsho Biseibutshu Jinsoku Shindan Kenkyukai Shi.* 1999;10:77-82.
16. Song Y, Kato N, Matsumiya Y, Liu C, Kato H, Watanabe K. Identification of and hydrogen peroxide production by fecal and vaginal lactobacilli isolated from Japanese women and newborn infants. *J Clin Microbiol.* 1999;37:3062-4.
17. Vallor AC, Antonio MA, Hawes SE, Hillier SL. Factors associated with acquisition of, or persistent colonization by, vaginal lactobacilli: role of hydrogen peroxide production. *J Infect Dis.* 2001;184:1431-6.
18. Pavolva S, Killic A, Killic S, So J, Nader-Macias M, Simões J, et al. Genetic diversity of vaginal lactobacilli from women in different countries based on 16S rRNA gene sequences. *J Appl Microbiol.* 2002;92:451-9.
19. Hyman R, Fukushima M, Diamond L, Kumm J, Giudice L, Davis R. Microbes on the human vaginal epithelium. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;102:7952-7.
20. Reid G, Burton J, Devillard E. The rationale for probiotics in female urogenital healthcare. *Med Gen Med.* 2004;29:6-49.
21. Chan RC, Reid G, Irvin RT, Bruce AW, Costerton JW. Competitive exclusion of uropathogens from human uroepithelial cells by *Lactobacillus* whole cells and cell wall fragments. *Infect Immun.* 1985;47:84-9.
22. Reid G, Servin AL, Bruce AW, Busscher HJ. Adhesion of three *Lactobacillus* strains to human urinary and intestinal epithelial cells. *Microbios.* 1993;75:57-65.
23. Boris S, Suárez JE, Barbes C. Characterization of the aggregation promoting factor from *Lactobacillus gasseri*, a vaginal isolate. *J Appl Microbiol.* 1997;83:413-20.
24. Nagy E, Froman G, Mardh PA. Fibronectin binding of *Lactobacillus* species isolated from women with and without bacterial vaginosis. *J Med Microbiol.* 1992;37:38-42.
25. Szoke I, Pascu C, Nagy E, Ljung A, Wadstrom T. Binding of extracellular matrix proteins to the surface of anaerobic bacteria. *J Med Microbiol.* 1996;45:338-43.
26. Boris S, Suárez JE, Vázquez F, Barbés C. Adherence of human vaginal lactobacilli to vaginal epithelial cells and interaction with uropathogens. *Infect Immun.* 1998;66:1985-9.
27. Chan RC, Bruce AW, Reid G. Adherence of cervical, vaginal and distal urethral normal microbial flora to human uroepithelial cells and the inhibition of adherence of gram-negative uropathogens by competitive exclusion. *J Urol.* 1984;131:596-601.
28. Osset J, García E, Bartolomé RM, Andreu A. Role of *Lactobacillus* as protector against vaginal candidiasis. *Med Clin.* 2001;117:285-8.
29. Osset J, Bartolomé RM, García E. Assessment of the capacity of *Lactobacillus* to inhibit the growth of uropathogens and block their adhesion to vaginal epithelial cells. *J Infect Dis.* 2001;183:485-91.
30. Amsel R, Totten PA, Spiegel CA, Chen KC, Eschenbach D, Holmes KK. Nonspecific vaginitis. Diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. *Am J Med.* 1983;74:14-22.
31. Hay AD, Fahey T. Clinical diagnosis of urinary tract infection. *JAMA.* 2002;288:1229; author reply 1230-1.
32. Steward-Tull BA. Evidence that vaginal lactobacilli do not ferment glycogen. *Am J Obstet Gynecol.* 1964;88:676-9.
33. Dellaglio F, De Roissart H, Torriani S, Curk MC, Janssens D. Caractéristiques générales des bactéries lactiques. En: de Roissart H, Luquet FM, editors. *Bactéries Lactiques. Vol. I. Uriag: Loric; 1994.* p. 25-116.
34. Boskey ER, Cone RA, Whaley KJ, Moench TR. Origins of vaginal acidity: high D/L lactate ratio is consistent with bacteria being the primary source. *Hum Reprod.* 2001;16:1809-13.
35. Antonio MA, Rabe LK, Hillier SL. Colonization of the rectum by *Lactobacillus* species and decreased risk of bacterial vaginosis. *J Infect Dis.* 2005;192:394-8.
36. Hawes SE, Hillier SL, Benedetti J, Stevens CE, Koutsky LA, Wolner-Hanssen P, et al. Hydrogen peroxide-producing lactobacilli and acquisition of vaginal infections. *J Infect Dis.* 1996;174:1058-63.
37. Amant DC, Valentin-Bon IE, Jerse AE. Inhibition of *Neisseria gonorrhoeae* by *Lactobacillus* species that are commonly isolated from the female genital tract. *Infect Immun.* 2002;70:7169-71.
38. Klebanov S, Belding M. Virucidal activity of H₂O₂-generating bacteria: requirement for peroxidase and halide. *J Infect Dis.* 1974;129:345-8.
39. Klebanov SJ, Waltersdorff AM. Prooxidant activity of transferrin and lactoferrin. *J Exp Med.* 1990;172:1293-303.
40. Nes IF, Diep DB, Havarstein LS, Brurberg MB, Eijsink V, Holo H. Biosynthesis of bacteriocins in lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 1996;70:113-28.
41. Wiedemann I, Bottiger T, Bonelli RR, Schneider T, Sahl HG, Martínez B. Lipid II-based antimicrobial activity of the lantibiotic plantaricin C. *Appl Environ Microbiol.* 2006;72:2809-14.
42. Aroutcheva AA, Simões JA, Faro S. Antimicrobial protein produced by vaginal *Lactobacillus acidophilus* that inhibits *Gardnerella vaginalis*. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2001;9:33-9.
43. Ocaña VS, Pesce De Ruiz Holgado AA, Nader-Macias ME. Characterization of a bacteriocin-like substance produced by a vaginal *Lactobacillus salivarius* strain. *Appl Environ Microbiol.* 1999;65:5631-5.
44. Velraeds MM, Van de Belt-Gritter B, Van der Mei HC, Reid G, Busscher HJ. Interference in initial adhesion of uropathogenic bacteria and yeasts to silicone rubber by a *Lactobacillus acidophilus* biosurfactant. *J Med Microbiol.* 1998;47:1081-5.
45. Velraeds MM, Van de Belt-Gritter B, Busscher HJ, Reid G, Van der Mei HC. Inhibition of uropathogenic biofilm growth on silicone rubber in human urine by lactobacilli—a teleologic approach. *World J Urol.* 2000;18:422-6.
46. Vollenbroich D, Ozel M, Vater J, Kamp RM, Pauli G. Mechanism of inactivation of enveloped viruses by the biosurfactant surfactin from *Bacillus subtilis*. *Biologicals.* 1997;25:289-97.
47. Vollenbroich D, Pauli G, Ozel M, Vater J. Antimycoplasma properties and application in cell culture of surfactin, a lipopeptide antibiotic from *Bacillus subtilis*. *Appl Environ Microbiol.* 1997;63:44-9.
48. García-Rodríguez JA, Muñoz JL. Vaginosis bacteriana ¿enfermedad infecciosa o alteración ecológica? *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 1991;9:265-7.
49. Sobel JD. Bacterial vaginosis. *Annu Rev Med.* 2000;51:349-56.
50. Thorsen P, Jensen IP, Jeune B, Ebbesen N, Arpi M, Bremmelgaard A, et al. Few microorganisms associated with bacterial vaginosis may constitute the pathologic care: a population-based microbiologic study among 3596 pregnant women. *Am J Obstet Gynecol.* 1998;169:450-4.
51. Rein MF. Vulvovaginitis y cervicitis. En: Mandel GL, Bennet JE, Dolin R, editores. *Enfermedades infecciosas: Principios y práctica, 4.ª ed.* Buenos Aires; Panamericana, 1997. p. 1197-214.
52. Rein MF. Tricomoniasis. En: Mandel GL, Bennet JE, Dolin R, editores. *Enfermedades Infecciosas: Principios y práctica, 4.ª ed.* Buenos Aires: Panamericana; 1997. p. 2796-801.
53. Reid G, Bruce AW. Urogenital infections in women: can probiotics help? *World J Urol.* 2003;24:28-32.
54. Sobel JD. Candidal vulvovaginitis. *Clin Obstet Gynecol.* 1993;36:153-65.
55. Soriano F, Fernández R. Infección en la embarazada. Infección en obstetricia y ginecología. En: García-Rodríguez JA, Picazo JJ, editores. *Microbiología Médica, 2 Microbiología Clínica.* Madrid: Mosby; 1996. p. 345-61.
56. Boskey ER, Telsh KM, Whatey KI, Moench TR, Cone RA. Acid production by vaginal flora in vitro is consistent with the rate and extent of vaginal acidification. *Infect Immun.* 1999;67:5170-5.
57. Hay P. Life in the littoral zone: lactobacilli losing the plot. *Sex Transm Infect.* 2005;81:100-2.

58. Wilson J. Managing recurrent bacterial vaginosis. *Sex Transm Infect.* 2004; 80:8-11.
59. Schreiber CA, Meyn LA, Creinin MD, Barnhart KT, Hillier SL. Effects of long-term use of nonoxonyl-9 on vaginal flora. *Obstet Gynecol.* 2006;107: 136-43.
60. Reid G, Bruce AW, Cook RL, Llano M. Effect on urogenital flora of antibiotic therapy for urinary tract infection. *Scand J Infect Dis.* 1990;22:43-7.
61. Carta G, Di Stefano L, Porzio G, Caserta D, Mascaretti G. Bacterial vaginosis during chemotherapy for gynecological neoplasms. A therapeutic proposal. *Minerva Ginecol.* 1995;47:5-8.
62. Penney GC, Thomson M, Norman J, McKenzie H, Vale L, Smith R, et al. A randomised comparison of strategies for reducing infective complications of induced abortion. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95:8739-43.
63. Sweankambo N, Gray NH, Wawer MJ, Paxton L, McNaim D, Wabwire-Mangen F, et al. HIV infection associated with abnormal vaginal flora morphology and bacterial vaginosis. *Lancet.* 1997;350:546-50.
64. Wiesenfeld HC, Hillier SL, Krohn MA, Landers DV, Sweet RL. Bacterial vaginosis is a strong predictor of *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* infection. *Clin Infect Dis.* 2003;36:663-8.
65. Reid G, Bruce AW. Probiotics to prevent urinary tract infections: the rationale and evidence. *World J Urol* 2006;24:28-32.
66. Bruce AW, Chadwick P, Hassan A, Van Cott GF. Recurrent urethritis in women. *Can Med Assoc J.* 1973;108:973-6.
67. Stamey TA. The role of introital enterobacteria in recurrent urinary infections. *J Urol.* 1973;109:467-72.
68. Raz R, Gennesin Y, Wasser J, Stoler Z, Rosenfeld S, Rottensterich E, et al. Recurrent urinary tract infections in postmenopausal women. *Clin Infect Dis.* 2000;30:152-6.
69. Raz R. Hormone replacement therapy or prophylaxis in postmenopausal women with recurrent urinary tract infection. *J Infect Dis.* 2001;183:S74-6.
70. Cannon JP, Lee TA, Bolanos JT, Danziger LH. Pathogenic relevance of *Lactobacillus*: a retrospective review of over 200 cases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2005;24:31-40.
71. Gasser, F. Safety of lactic acid bacteria and their occurrence in human clinical infections. *Bull Inst Pasteur.* 1994;92:45-67.
72. Salminen MK, Tynkkynen S, Rautelin H, Saxelin M, Vaara M, Ruutu P, et al. *Lactobacillus bacteremia* during a rapid increase in probiotic use of *Lactobacillus rhamnosus GG* in Finland. *Clin Infect Dis.* 2002;35:1155-60.
73. Saxelin M, Chuang NH, Chassy B, Rautelin H, Makela PH, Salminen S, et al. *Lactobacilli* and bacteremia in southern Finland, 1989-1992. *Clin Infect Dis.* 1996;22:564-6.
74. Borriello SP, Hammes WP, Holzappel W, Marteau P, Schrezenmeir J, Vaara M, et al. Safety of probiotics that contain *lactobacilli* or *bifidobacteria*. *Clin Infect Dis.* 2003;36:775-80.
75. Álvarez-Olmos MI, Oberhelman RA. Probiotic agents and infectious diseases: a modern perspective on a traditional therapy. *Clin Infect Dis.* 2001;32: 1567-76.
76. Cunningham-Rundles S, Ahrne S, Bengmark S, Johann-Liang R, Marshall F, Metakis L. Probiotics and immune response. *Am J Gastroenterol.* 2000; 95(1 Suppl):S22-5.
77. Salminen MK, Rautelin H, Tynkkynen S, Poussa T, Saxelin M, Valtonen V, Jarvinen A. *Lactobacillus bacteremia*, species identification, and antimicrobial susceptibility of 85 blood isolates. *Clin Infect Dis.* 2006;42:35-44.
78. Sanders ME. Probiotics: considerations for human health. *Nutr Rev.* 2003; 61:91-9.
79. Metchnikoff E. *The Prolongation of Life: Optimistic Studies.* London: William Heinemann; 1907.
80. Tannock GW. A special fondness for *lactobacilli*. *Appl Environ Microbiol.* 2004;70:3189-94.
81. Newman D. The treatment of cystitis by intravesical injections of lactic bacillus cultures. *Lancet.* 1915 ii, 330.
82. Andreu A. *Lactobacillus* as a probiotic for preventing urogenital infections. *Rev Med Microbiol.* 2004;15:1-6.
83. Ozkinay E, Terek MC, Yayci M, Kaiser R, Grob P, Tuncay G. The effectiveness of live *lactobacilli* in combination with low dose oestriol (Gynoflor) to restore the vaginal flora after treatment of vaginal infections. *BJOG.* 2005; 112:234-40.
84. Reid G, Charbonneau D, Erb J, Kochanowski B, Beuerman D, Poehner R, et al. Oral use of *Lactobacillus rhamnosus GR-1* and *L. fermentum RC-14* significantly alters vaginal flora: randomized, placebo-controlled trial in 64 healthy women. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2003;35:131-4.
85. Reid G, Bruce AW, Taylor M. Instillation of *Lactobacillus* and stimulation of indigenous organisms to prevent recurrence of urinary tract infections. *Microecol Ther.* 1995;23:32-45.
86. Brumfitt W, Hamilton-Miller JM, Walker S, Roberts D. Cefaclor as a prophylactic agent for recurrent urinary infections: a comparative trial with macrocrystalline nitrofurantoin. *Drugs Exp Clin Res.* 1992;18:239-44.
87. Reid G, Bruce AW, Fraser N, Heinemann C, Owen J, Henning B. Oral probiotics can resolve urogenital infections. *Immunol Med Microbiol.* 2001;30: 49-52.
88. Reid G, Bruce AW, Taylor M. Influence of three-day antimicrobial therapy and *lactobacillus* vaginal suppositories on recurrence of urinary tract infections. *Clin Ther.* 1992;14:11-6.
89. Anukam K, Osazuwa E, Ahonkhai I, Ngwu M, Osemene G, Bruce AW, et al. Augmentation of antimicrobial metronidazole therapy of bacterial vaginosis with oral probiotic *Lactobacillus rhamnosus GR-1* and *Lactobacillus reuteri RC-14*: randomized, double-blind, placebo controlled trial. *Microbes Infect.* 2006;8:1450-4.