

# Dobór szczepów bakterii *Lactobacillus* a skuteczność dopochwowego probiotyku ginekologicznego

## Selection of *Lactobacillus* strains and the efficacy of intravaginal gynaecological probiotics

© GinPolMedProject 1 (23) 2012

Artykuł poglądowy/Review article

---

KATARZYNA PAWŁOWSKA

---

Adres do korespondencji/Address for correspondence:

Katarzyna Pawłowska

email: pawlowska.katarzyna1982@gmail.com

### Statystyka/Statistic

Liczba słów/Word count 1031/1280

Tabele/Tables 2

Ryciny/Figures 0

Piśmiennictwo/References 25

Received: 10.01.2012

Accepted: 13.03.2012

Published: 15.06.2012

### Streszczenie

W wydzielinie pochwy zdrowych kobiet bytuje około  $10^7$ - $10^8$  CFU/g bakterii. Wśród pałeczek *Lactobacillus* najczęściej izolowanymi z pochwy w polskiej populacji są *L. acidophilus* (w tym *L. gasseri*), *L. fermentum*, *L. plantarum*. W celu utrzymania zdrowia dróg moczowo-płciowych, czyli stałej pod względem ilościowym i jakościowym mikroflory pochwy, Polskie Towarzystwo Ginekologiczne rekomenduje stosowanie probiotyków. W niniejszym opracowaniu podjęto próbę odpowiedzi na pytanie, czy ilość szczepów zawartych w probiotyku ginekologicznym wpływa na skuteczność takiego preparatu. W światowej literaturze dostępne są informacje o różnicach występujących w składzie jakościowym, a także ilościowym w mikroflorze pochwy kobiet z różnych regionów geograficznych świata. Zaobserwowano, że ta różnorodność szczepów *Lactobacillus* w pochwie jest jednak ograniczona do kilku gatunków. Dlatego też, wydaje się słusznym użycie więcej niż jednego szczepu pałeczek kwasu mlekowego w preparacie probiotycznym. Tezę tę potwierdzają eksperci Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego, którzy zalecają zastosowanie w takim preparacie co najmniej 2 szczepów *Lactobacillus* stwierdzanych w fizjologicznej biocenozie pochwy w populacji Polek. Ponadto, w artykule zwrócono uwagę na stawiane przez komisje FAO/WHO wymagania jakie muszą spełniać szczepy *Lactobacillus* wchodzące w skład preparatów probiotycznych.

**Słowa kluczowe:** probiotyk ginekologiczny, szczep, *Lactobacillus*, mikroflora pochwy, waginoza

### Abstract

Vaginal discharge of healthy women is a habitat of approximately  $10^7$  -  $10^8$  CFU/g of bacteria. The most frequently isolated *Lactobacilli* in the vaginal discharge of the Polish population are: *L. acidophilus* (including *L. gasseri*), *L. fermentum*, *L. plantarum*. In order to preserve the healthy condition of urogenital tracts, i.e. the vaginal microflora with a constant quantitative and qualitative composition, the Polish Gynaecological Society recommends using probiotics. Our study is an attempt to answer the question whether the number of strains included in a gynaecological probiotic has an effect on its efficacy. World literature supplies information on differences in the qualitative and quantitative composition of vaginal microflora between different geographic regions of the world. It has been observed, however, that the diversity of vaginal *Lactobacillus* strains is limited to several species. Therefore, it appears reasonable to use more than one strain of lactic acid bacilli in a probiotic. The assumption has been confirmed by experts of the Polish Gynaecological Society, who recommend using in a probiotic at least 2 strains of *Lactobacillus* found in the physiological vaginal biocenosis of the Polish population. Moreover, the article takes into consideration the requirements of FAO/WHO commissions regarding *Lactobacillus* strains contained in probiotics.

**Key words:** gynaecological probiotic, strain, *Lactobacillus*, vaginal microflora, vaginosis

Pierwsze, pionierskie zastosowanie bakterii *Lactobacillus* w leczeniu waginozy bakteryjnej zostało opisane niecałe 80 lat temu w Stanach Zjednoczonych [1]. Od tego czasu prowadzonych jest szereg badań naukowych nad składem ilościowym i jakościowym probiotyków oraz ich bezpieczeństwem stosowania u człowieka. Coraz częściej zwraca się również uwagę na czynniki wpływające na skuteczność stosowanego probiotyku ginekologicznego.

Obecnie Polskie Towarzystwo Ginekologiczne rekomenduje stosowanie probiotyków w celu utrzymania zdrowia dróg moczowo-płciowych kobiet. Podobnie jak przewód pokarmowy, pochwa zasiedlona jest mikroorganizmami. W wydzielinie pochwowej zdrowych dojrzałych kobiet bytuje około  $10^7$ - $10^8$  CFU/g bakterii [2]. Wśród najczęściej izolowanych znajdują się gatunki *Lactobacillus* jak: *L. acidophilus* (35%) (w tym *L. gasseri*), *L. fermentum* (30%), *L. plantarum* (30%). W śladowych ilościach mogą występować takie gatunki, jak *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella bivia*, *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus faecalis*, które w pewnych okolicznościach znacznie namnażają się, powodując bakteryjne stany zapalne pochwy [3, 4, 5]. O skutecznym wyleczeniu m.in. bakteryjnego zapalenia pochwy możemy mówić, kiedy zostanie przywrócona fizjologiczna struktura ekosystemu pochwy kobiety. Proces ten mogą wspomagać probiotyki ginekologiczne. Preparaty te, stosowane w ginekologii to zarówno dopochwowe (Tab.1) jak i doustne środki zawierające w swym składzie pałeczki kwasu mlekowego z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*.

Szczepy wchodzące w skład takich preparatów ginekologicznych powinny spełniać warunki określone przez ekspertów Organizacji Narodów Zjednoczonych ds. Wyżywienia i Rolnictwa (FAO) i Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) [6, 7]. Po pierwsze muszą (a) pochodzić ze środowiska do którego są przeznaczone (czyli w przypadku probiotyków ginekologicznych z nabłonka pochwy), (b) posiadać potwierdzoną przynależność gatunkową wraz z określonym szczepem, (c) wykazywać silną adhezję do nabłonka pochwowego, (d) wykazywać działanie antagonistyczne wobec mikroorganizmów chorobotwórczych (jak produkcja kwasu mlekowego, bakteriocyn) oraz (e) posiadać oporność na antybiotyki swoiste dla swojego gatunku [8, 9]. Dodatkowo Polskie Towarzystwo Ginekologiczne zaleca zastosowanie w preparacie probiotycznym co najmniej 2 szczepów *Lactobacillus* stwierdzanych w fizjologicznej biocenozie pochwy w populacji Polek. Ponadto efektywność takiego preparatu powinna zostać potwierdzona badaniami klinicznymi. Eksperti PTG uważają, że w przypadku doustnych probiotyków ginekologicznych producent winien wykazać kolonizację pochwy i układu pokarmowego przez dane szczepy *Lactobacillus*, odporność na działanie soli żółci i kwasu solnego, jak również redukcję adhezji patogenów do nabłonka pochwy i jelit w wyniku działania tychże szczepów *Lactobacillus* zawartych w preparacie [10].

The first pioneering application of *Lactobacillus* bacteria in the treatment of bacterial vaginosis was described less than 80 years ago, in the U.S.A. [1]. Since that time, a number of studies have been conducted on the quantitative and qualitative composition of probiotics and the safety of their application in humans. An increasing attention is being paid also to the factors determining the efficacy of a gynaecological probiotic.

Nowadays, the Polish Gynaecological Society recommends using probiotics in order to retain a healthy condition of female urogenital tracts. Just like the alimentary tract, a vagina is a habitat of microorganisms. In the vaginal discharge of healthy adult women there are approximately  $10^7$  -  $10^8$  CFU/g of bacteria [2]. The most frequently isolated species are those of *Lactobacillus*, such as *L. acidophilus* (35%) (including *L. gasseri*), *L. fermentum* (30%), *L. plantarum* (30%). There may occur trace amounts of such species as *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella bivia*, *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus faecalis*, which in certain conditions may multiply intensely, causing bacterial inflammatory states of the vagina [3, 4, 5]. We can speak of an effective cure for e.g. bacterial vaginosis if the physiological structure of the vaginal ecosystem has been restored. The process may be supported by gynaecological probiotics. These are gynaecological products applied either intravaginally (Table 1) or orally, containing lactic acid bacilli of the *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* genus.

The strains used in gynaecological products of that type should conform to the requirements specified by experts of the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) and the World Health Organization (WHO) [6, 7]. They must (a) come from the environment for which they are designed (i.e. in the case of gynaecological probiotics, from vaginal epithelium), (b) have a confirmed species affiliation, with an identification of a particular strain, (c) display strong adherence to vaginal epithelium, (d) display antagonistic action against pathogenic microorganisms (such as the production of lactic acid, bacteriocins), and (e) show resistance to antibiotics specific for their species [8, 9]. Additionally, the Polish Gynaecological Society recommends using in a probiotic at least 2 *Lactobacillus* strains found in the physiological vaginal biocenosis of the Polish population. The efficacy of a product should also be confirmed by clinical trials. In the opinion of the experts of the Polish Gynaecological Society, a manufacturer of oral gynaecological probiotics should supply evidence confirming the colonization of vagina and alimentary system by *Lactobacillus* strains in question, their resistance to the action of bile salts and hydrochloric acid, as well as the reduction of pathogen adhesion to vaginal and intestinal epithelium resulting from the action of *Lactobacillus* strains present in the product [10].

Wartym zastanowienia jest również jeden z proponowanych wymogów FAO/WHO dla probiotyków ginekologicznych- skojarzenie dwóch lub więcej szczepów w preparacie, min.: ze względu na wrażliwość drobnoustrojów na działanie środków plemnikobójczych. Według ekspertów FAO/WHO połączenie szczepów, z których jeden produkowałby nadtlenek wodoru a pozostałe były odporne na działanie środków plemnikobójczych.

One of the requirements suggested by FAO/WHO for gynaecological probiotics also deserves consideration; namely, the need to combine two or more strains in a product, partly due to the sensitivity of microorganisms to spermicides. According to FAO/WHO experts, a combination of strains of which one would produce hydrogen peroxide and the others would be resistant to spermicides appears to be a better therapeutic option [6, 7].

**Tab. 1.** Skład jakościowy i ilościowy wybranych preparatów dopochwowych obecnych na polskim rynku probiotyków ginekologicznych

nazwa handlowa	producent	składniki probiotyczne preparatu	żywołność szczepów	ilość szczepów	pochodzenie szczepów
inVag	Biomed Kraków	<i>L. fermentum</i> 57A, <i>L. plantarum</i> 57B, <i>L. gasseri</i> 57C (1x10 <sup>9</sup> CFU)	liofilizat	3	Polska
Lactovaginal	Biomed Kraków	<i>L. rhamnosus</i> 573 (1x10 <sup>8</sup> CFU)	liofilizat	1	Polska
Floragyn	So.Se.Pharm (Włochy)	<i>L. delbrueckii</i> , <i>L. bifidus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. thermophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. plantarum</i>	lizat (martwe)	6	nieznane brak danych
Gyntima probiotic	Herb Pharma (Szwajcaria)	<i>L. acidophilus</i> LA-5, <i>Bifidobacterium</i>	BB-12 lizat (martwe)	2	nieznane brak danych
Ecovag	Bifodan A/S (Dania)	<i>L. gasseri</i> DSM 14869, <i>L. rhamnosus</i> DSM 14870 (2x10 <sup>8</sup> CFU)	liofilizat	2	Norwegia
Gyno-Lact	Vitalbans (Finlandia)	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. rhamnosus</i> (2x10 <sup>9</sup> CFU)	liofilizat	3	nieznane brak danych
Gynophilus	Laboratoires Lyocentre S.A. (Francja)	<i>L. casei</i> (1x10 <sup>9</sup> CFU)	liofilizat	1	nieznane brak danych
Lactobalance	NTC SRL (Włochy)	<i>L. acidophilus</i> (5x10 <sup>8</sup> CFU)	liofilizat	1	nieznane brak danych
Gynoflor	Merck (Niemcy)	<i>L. acidophilus</i> (1x10 <sup>7</sup> CFU)	liofilizat	1	nieznane brak danych

**Tab. 1.** The qualitative and quantitative composition of selected intravaginal products offered at the Polish market of gynaecological probiotics

Trade name	Manufacturer	Probiotic components	Strain viability	Number of strains	Origin of strains
inVag	Biomed Kraków (Poland)	<i>L. fermentum</i> 57A, <i>L. plantarum</i> 57B, <i>L. gasseri</i> 57C (1x10 <sup>9</sup> CFU)	lyophilisate	3	Poland
Lactovaginal	Biomed Kraków	<i>L. rhamnosus</i> 573 (1x10 <sup>8</sup> CFU)	lyophilisate	1	Poland
Floragyn	So.Se.Pharm (Italy)	<i>L. delbrueckii</i> , <i>L. bifidus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. thermophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. plantarum</i>	lysate (dead)	6	unknown no data
Gyntima probiotic	Herb Pharma (Switzerland)	<i>L. acidophilus</i> LA-5, <i>Bifidobacterium</i>	BB-12 lysate (dead)	2	unknown no data
Ecovag	Bifodan A/S (Denmark)	<i>L. gasseri</i> DSM 14869, <i>L. rhamnosus</i> DSM 14870 (2x10 <sup>8</sup> CFU)	lyophilisate	2	Norway
Gyno-Lact	Vitalbans (Finland)	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. rhamnosus</i> (2x10 <sup>9</sup> CFU)	lyophilisate	3	unknown no data
Gynophilus	Laboratoires Lyocentre S.A. (France)	<i>L. casei</i> (1x10 <sup>9</sup> CFU)	lyophilisate	1	unknown no data
Lactobalance	NTC SRL (Italy)	<i>L. acidophilus</i> (5x10 <sup>8</sup> CFU)	lyophilisate	1	unknown no data
Gynoflor	Merck (Germany)	<i>L. acidophilus</i> (1x10 <sup>7</sup> CFU)	lyophilisate	1	unknown no data

kobójczych wydaje się być lepszą opcją terapeutyczną [6, 7].

W dostępnej literaturze naukowej dotyczącej mikroflory pochwy istnieje wiele doniesień dotyczących obecnej liczby kolonizujących szczepów *Lactobacillus*. Według Redondo-Lopez i in. [11] liczba szczepów kolonizujących nabłonek pochwy zdrowych kobiet waha się od zera do czterech, zmieniają się również kombinacje, w jakich występują szczepy w czasie. W badaniach przy użyciu nowoczesnych metod biologii molekularnej wykazano, że różnorodność szczepów *Lactobacillus* w pochwie jest ograniczona do 3-7 gatunków i ściśle zależna od badanej populacji kobiet [12, 13]. Natomiast meksykańscy naukowcy, Hernandez-Rodriguez i in. [14] zwracają uwagę na występowanie w pochwie ciężarnych kobiet „triad” bakterii probiotycznych. Około 43% badanych kobiet była skolonizowana przez jeden, dwa lub trzy różne gatunki *Lactobacillus*. W Tabeli 2 podano liczbę szczepów *Lactobacillus* izolowanych od zdrowych kobiet z różnych regionów świata na wybranych przykładach dostępnych w światowej literaturze.

Biorąc pod uwagę powyższe fakty, można hipotezować, że efektywniejszy w swoim działaniu będzie probiotyk ginekologiczny naśladujący w składzie ilościowym i jakościowym mikroflorę pochwy, czyli zawierający więcej niż jeden szczep pałeczek kwasu mlekowego. Taki preparat szybciej i skuteczniej, na zasadzie komplementarności dostarczy właściwych mikroorganizmów do docelowego nabłonka pochwy [22]. 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 [23, 24]. Jak wynika z badań przeprowadzonych przez Antonio i in. [25], bakterie probiotyczne *Lactobacillus* „obcego szczepu” nie są w stanie kolonizować nabłonka pochwy na stałe i po zaprzestaniu ich suplementowania są z organizmu usuwane. Zjawisko redukcji ilości pałeczek obcego szczepu prawdopodobnie następuje wskutek mechanizmów samoregulacji zachodzących w ekosystemie pochwy.

**Tab. 2.** Liczba szczepów bakterii kwasu mlekowego obecnych w wymazach pochwowych zdrowych kobiet z przykładowych regionów geograficznych świata

kraj	liczba szczepów występujących w istotnej większości w mikroflorze pochwy	źródło
Polska	3	[3]
Szwecja	4	[15]
Włochy	4	[16]
Belgia	4	[17]
Brazylia	1	[18]
Indie	1	[19]
Japonia	4	[20]
Chiny	3	[21]

In the available scientific literature on vaginal microflora there are numerous reports referring to the number of colonizing *Lactobacillus* strains present. According to Redondo-Lopez et al. [11], the number of strains colonizing vaginal epithelium of healthy women ranges from zero to four, and the combinations of strains change in time, too. Research using modern methods of molecular biology indicated that the diversity of vaginal *Lactobacillus* strains is limited to 3 - 7 species and depends strictly on the population under study [12, 13]. Mexican scientists, Hernandez-Rodriguez et al. [14] pointed to the fact that „triads” of probiotic bacteria occurred in vaginas of pregnant women. Approximately 43% of women under study were colonized by one, two, or three different species of *Lactobacillus*. Table 2 presents the number of *Lactobacillus* strains isolated from healthy women in different regions of the world, on selected examples available in world literature.

Taking the above facts into consideration, we may hypothesize that a greater efficacy may be attributed to a gynaecological probiotic whose quantitative and qualitative composition will reproduce the vaginal microflora, i.e. will contain more than one strain of lactic acid bacillus. That type of product will supply the right microorganisms to the target vaginal epithelium in a faster and more effective way, according to the principle of complementarity [22]. The efficacy of colonization by exogenous bacilli depends on the endogenous microflora occupying the vaginal environment. It is desirable that the supplemented lactic acid bacteria should come from the vaginal biocenosis of the women for whom they are designed [23, 24]. As Antonio et al. indicated in their study [25], probiotic *Lactobacillus* bacteria of a „foreign strain” are not capable of permanent colonization of vaginal epithelium and they are eliminated from the system after their supplementation has been discontinued. The phenomenon of reduction of the number of foreign strain bacilli is most probably due to the mechanisms of self-regulation, active in the vaginal ecosystem.

**Tab. 2.** The number of lactic acid bacteria strains present in vaginal swabs of healthy women from selected geographic regions of the world

Country	Number of strains present in a significant majority in the vaginal microflora	Source
Poland	3	[3]
Sweden	4	[15]
Italy	4	[16]
Belgium	4	[17]
Brasil	1	[18]
India	1	[19]
Japan	4	[20]
China	3	[21]

Istotnym czynnikiem wpływającym na skuteczność probiotyku ginekologicznego jest działanie w szerokim spektrum pH pochwy. Prawidłowy odczyn środowiska pochwy jest kwaśny, znajdujący się w granicach pH 3,5-4,3. W sytuacji kiedy nadmiernie namnażają się mikroorganizmy chorobotwórcze pH ulega zmianie, tj. powyżej 4,5 w waginozie bakteryjnej i rzęsistkowicy. Ważne jest, aby zastosowany w takich warunkach probiotyk ginekologiczny był skuteczny. Z badań Ocana i Nader-Macias [24] wynika, że stosowanie probiotyku zawierającego więcej niż jeden szczep *Lactobacillus* zwiększa prawdopodobieństwo szybkiego jego zadziałania w środowisku pochwy, ze względu na różne optimum działania bakterii probiotycznych obecnych w mieszaninie. Natomiast ważną informacją wynikającą z badania Antonio i in. [23] jest fakt, iż u amerykańskich kobiet skolonizowanych dwoma (prawdopodobnie komplementarnymi w działaniu) szczepami *Lactobacillus*: *L. crispatus* i *L. jensenii* nie diagnozowano bakteryjnej waginosis. Natomiast w przypadku kolonizacji pochwy jednym z powyższych szczepów *Lactobacillus*, obserwowano epizody bakteryjnego zapalenia dolnych dróg rodnych. Taka kooperacja działania szczepów *Lactobacillus* jest obserwowana w ich naturalnym środowisku bytowania. Jak podaje Strus [4], obecne w pochwie gatunki pałeczek kwasu mlekowego nie wykazują równocześnie wszystkich pożądanych własności cech probiotyków (m.in. antybiotykooporność, antagonizm wobec typowych patogenów, adhezja do nabłonka), gdyż najczęściej dochodzi wśród nich do kooperacji kilku gatunków występujących w danej mikroflorze pochwy. Symbioza między poszczególnymi szczepami zwiększa szansę w hamowaniu rozwoju bakterii chorobotwórczych. Ciekawym przykładem takiej komplementarnej współpracy szczepów są wyniki badań klinicznych nad trzema szczepami: *Lactobacillus fermentum* 57A, *Lactobacillus plantarum* 57B, *Lactobacillus gasseri* 57C [5]. W niepublikowanych dotąd badaniach klinicznych przeprowadzonych przez firmę IBSS Biomed wykazano, że szczepy te tworzą koagregaty, dzięki czemu wykazują zwiększoną zdolność do skutecznej kolonizacji i przetrwania w niekorzystnych warunkach. Zaobserwowano również, że badane bakterie probiotyczne wykazywały zróżnicowany zakres działania wobec grzybów z rodzaju *Candida*. Jedynie szczep *Lactobacillus fermentum* 57A był w stanie zapobiegać adhezji *C. albicans*, a właściwość ta została zachowana dla badanej mieszaniny szczepów [raport z badań, IBSS Biomed Kraków].

Wobec przedstawionych powyższych danych, ilość szczepów wchodzących w skład probiotyku ginekologicznego ma znaczenie. W sytuacji, kiedy działanie preparatu dąży do naśladowania naturalnych mechanizmów występujących w naturze, pożądane jest aby probiotyk ginekologiczny zawierał więcej niż jeden szczep pałeczek kwasu mlekowego.

A significant factor affecting the efficacy of a gynaecological probiotic is its action within the wide pH spectrum of the vagina. The normal pH of the vaginal environment is acidic, within 3.5 - 4.3. When pathogenic microorganisms multiply excessively, pH changes, reaching over 4.5 in bacterial vaginosis and trichomoniasis. It is important that a gynaecological probiotic used in these conditions should be effective. Studies conducted by Ocan and Nader-Macias [24] indicate that using a probiotic containing more than one *Lactobacillus* strain increases the probability of its fast action in the vaginal environment thanks to different optima of efficacy of the probiotic bacteria present in the mixture. The study conducted by Antonio et al. [23] implies an important fact that in American women colonized by two (probably complementary in their action) *Lactobacillus* strains: *L. crispatus* and *L. jensenii*, bacterial vaginosis was not diagnosed. In the case of vaginas colonized by only one of the aforementioned *Lactobacillus* strains, though, episodes of bacterial inflammation of lower genital tracts were recorded. The co-operation in the action of *Lactobacillus* strains is observed in their natural habitat. According to Strus [4], the species of lactic acid bacillus present in the vagina do not display simultaneously all the desirable properties of probiotics (e.g. resistance to antibiotics, antagonism against typical pathogens, adherence to epithelium) because usually a co-operation of several species in a given vaginal microflora takes place. Symbiosis between particular strains increases the chances of inhibiting the development of pathogenic bacteria. An interesting example of complementary co-operation of strains was provided in the results of clinical trials of three strains: *Lactobacillus fermentum* 57A, *Lactobacillus plantarum* 57B, *Lactobacillus gasseri* 57C [5]. As yet unpublished clinical trials conducted by IBSS Biomed demonstrated that the strains form co-aggregates, which results in their increased ability of effective colonization and survival in adverse conditions. It was also observed that the probiotic bacteria under study displayed diverse ranges of action against fungi of the *Candida* genus. Solely the strain of *Lactobacillus fermentum* 57A was capable of preventing the adherence of *C. albicans*, and the ability was retained in the tested mixture of strains [trial report, IBSS Biomed, Cracow].

From the data presented above a conclusion may be drawn that the number of strains included in a gynaecological probiotic is relevant. In the situation when the action of a product strives to follow natural mechanisms, it is desirable that a gynaecological probiotic should contain more than one strain of lactic acid bacilli.

**Podziękowania**

Dziękuję Instytutowi Biotechnologii Surowic i Szczepionek BIO-MED za udostępnienie literatury dotyczącej badań klinicznych nad szczepami *Lactobacillus fermentum* 57A, *Lactobacillus plantarum* 57B, *Lactobacillus gasseri* 57C.

**Acknowledgements**

I would like to thank the Institute of Biotechnology, Sera and Vaccines (IBSS) BIOMED for providing the literature on clinical trials of the strains: *Lactobacillus fermentum* 57A, *Lactobacillus plantarum* 57B, *Lactobacillus gasseri* 57C. I also inform herby that there is a financial dependence between the author of the article and IBSS Biomed.

**Piśmiennictwo / References:**

1. **Molher RW, Brown CP.** Doderlein's bacillus in the treatment of vaginitis. *Am J Obstet Gynecol* 1933; 25: 718-23.
2. **Sobel JD.** Vaginitis. *NEJM* 1997; 337:1896-1903.
3. **Strus M, Malinowska M.** Zakres antagonistycznego działania bakterii z rodzaju *Lactobacillus* na czynniki etiologiczne waginazy bakteryjnej. *Med Dośw Mikrobiol* 1999; 51: 47-57.
4. **Strus M.** Podstawy stosowania probiotyków dopochwowych w zakażeniach narządu moczowo-płciowego. *Zakażenia* 2005; 4: 40-43.
5. **Strus M, Kochan P, Chelmicki Z i wsp.** Wpływ doustnego podawania trzech probiotycznych szczepów *Lactobacillus* na poprawę odczynu i składu mikroflory pochwy u kobiet w wieku reprodukcyjnym. *Gin Dypl* 2008; 3: 53-59.
6. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Raport a Joint FAO/WHO Working Group, London, Ontario, Canada, 2002
7. Health and nutritional properties of probiotics in food including milk with live lactic acid bacteria, Raport of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. Cordoba, Argentina, 2001.
8. **Kochan P.** Wybrane schorzenia dróg moczowo-płciowych kobiety i leczenie wg CDC. Kryteria WHO/FAO dla probiotyków i ich zastosowanie w ginekologii w świetle najnowszych badań. *Gin Prakt* 2005, 87: 11-18.
9. **Reid G, Hammond JA** Probiotics. Some evidence of their effectiveness. *Can Fam Physician* 2005; 51: 1487-93.
10. **Dębski R, Heczko PB, Jakimiuk A. i wsp.** Opinia Zespołu Ekspertów Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego dotycząca stosowania preparatów inVag, prOVag i prOVag żel w ginekologii i położnictwie. 2012 [w druku]
11. **Redondo-Lopez V, Cook RL and Sobel, J.D.** (1990) Emerging role of lactobacilli in the control and maintenance of the vaginal bacterial microflora. *Reviews of Infectious Diseases* 12, 856-872.
12. **Pavlova SI, Kilic AO, Kilic SS. i wsp.** Genetic diversity of vaginal lactobacilli from women in different countries based on 16S rRNA gene sequences. *J Appl Microbiol* 2002; 92(3): 451-459.
13. **Jin L, Tao L, Pavlova SI. i wsp.** Species diversity and relative abundance of vaginal lactic acid bacteria from women in Uganda and Korea. *J Appl Microbiol* 2007; 102(4): 1107-15.
14. **Hernandez-Rodriguez C, Romero-Gonzales R, Albani-Campanario M. i wsp.** Vaginal microbiota of healthy pregnant mexican women is constituted by four *Lactobacillus* species and several vaginosis-associated bacteria. *Inf Dis Obst Gynecol* 2011; 1-9.
15. **Vasquez A, Jakobsson T, Ahrne S. i wsp.** Vaginal lactobacillus flora of healthy Swedish women. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 2746-49.
16. **Giorgi A, Torriani S, Dellaglio F. i wsp.** Identification of vaginal lactobacilli from asymptomatic women. *Microbiol* 1987; 10: 377-84.
17. **Vitali B, Pugliese C, Biagi E. i wsp.** 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* 2007; 73: 5731-41.
18. **Martinez RC, Franceschini SA, Patta MC. i wsp.** Analysis of vaginal lactobacilli from healthy and infected Brazilian women. *Appl Environ Microbiol* 2008; 74: 4539-42.
19. **Garg KB, Ganguli I, Das R. i wsp.** Spectrum of *Lactobacillus* species present in healthy vagina of Indian women. *Indian J Med Res* 2009; 129: 652-7.
20. **Zhou X, Hansmann MA, Davis CC, Suzuki H. i wsp.** The vaginal bacterial communities of Japanese women resemble those of women in other racial groups. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2010; 58: 169-81.
21. **Shi Y, Chen L, Tong J. i wsp.** Preliminary characterization of vaginal microbiota in healthy Chinese women using cultivation-independent methods. *J Obstet Gynecol Res* 2009; 35(3): 525-32.
22. **Maggi, L, Brigidi P, Matteuzzi D. i wsp.** Pharmaceutical formulations for the vaginal administration of viable microorganisms. *Europ J Pharm Biopharm* 1994; 40: 176-8.
23. **Antonio MAD, Hawes SE, Hillier SL.** The identification of vaginal *Lactobacillus* species and the demographic and microbiologic characteristics of women colonized by these species. *J Infect Dis* 1999; 180: 1950-6.
24. **OcanaV, Nader-Macias ME.** Adhesion of *Lactobacillus* vaginal strains with probiotic properties to vaginal epithelial cells. *Biocell* 2001; 25: 265-73.
25. **Antonio MA, Meyn LA, Murray PJ i wsp.** Vaginal colonization by probiotic *Lactobacillus crispatus* CTV-05 is decreased by sexual activity and endogenous *Lactobacilli*. *J Infect Dis* 2009; 199: 1506-13.