

# Научное обоснование применения препарата Astarte\*

**\*В Украине эксклюзивные права на продвижение препарата Astarte под названием Флориум имеет компания Ananta\***

По материалам размещенным на официальном сайте препарата Astarte <http://www.astarte-probiotics.com/studies/>

## Микробиота влагалища в норме

pH влагалища здоровых женщин колеблется от 3.8 до 4.4. Данный уровень pH поддерживается микробиотой влагалища, преимущественно состоящей из лактобактерий, а также малым количеством анаэробных и аэробных бактерий, грибами рода *Candida*, которые в норме обитают на коже и в просвете кишечника.

По данным исследования *Antonio, 1999*, в микробиоте влагалища американских женщин преобладают такие лактобактерии как: *L. crispatus* (32%), *L. jensenii* (23%), ранее не описанный вид обозначенный как *L. 1086V* (15%), *L. gasseri* (5%), *L. fermentum* (0.3%), *L. oris* (0.3%), *L. reuteri* (0.3%), *L. ruminis* (0.3%). and *L. vaginalis* (0.3%). При этом обнаружена зависимость так женщины, у которых в микробиоте преобладали *L. crispatus* и *L. jensenii*, достоверно реже страдали бактериальным вагинозом ( $p < 0,001$ ).

*L. crispatus* также является преобладающей вагинальной лактобактерией, как и *L. gasseri* у японских женщин (*Song, 1999*).

Из 200 австрийских женщин, которые находились в конце первого триместра беременности и не имели симптомов вагинальной инфекции, у 126 женщин определена нормальная микробиота влагалища и наиболее часто встречающимися видами лактобактерий явились: *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. jensenii* и *L. rhamnosus* (*Kiss, 2007*)

## Вагинальный дисбактериоз или бактериальный вагиноз (БВ)

Бактериальный вагиноз (БВ) является наиболее распространенным микробиологическим нарушением среды влагалища у взрослых женщин. БВ характеризуется дисбалансом микрофлоры влагалища, а именно уменьшением количества лактобактерий и увеличением условно патогенной флоры, а также присутствием большого количества анаэробных бактерий (*Verhelst, 2004; Fredricks, 2005*).

Значительное сокращение лактобактерий сопровождается уменьшением концентрации H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (перекиси водорода) и увеличением pH выше 4,5. Оба данных фактора являются факторами риска развития инфекционной патологии и связаны в первую очередь с уменьшением колонизации влагалища лактобактериями.

Диагноз БВ основывается на критериях Амсея или на оценке по методу Нуджента в баллах.

Критериями Амсея (*Amsel, 1983*):

1. pH влагалища выше 4.5.
2. Однородные и не обильные выделения из влагалища
3. Появление запаха аминов (рыбного запаха) после добавления 10% гидроксида калия (тест на запах)
4. Наличие «ключевых клеток», которые можно обнаружить микроскопическим методом в мазке.

*Наличие трех из четырех критериев является поводом для постановки диагноза БВ.*

Оценка Нуджента (*Nugent, 1991*) является количественной оценкой содержания тех или иных бактерий в вагинальном мазке, окрашенного по методу Грамму и определяемых под микроскопом.

1. Лактобациллы.
2. Гарднерелла
3. Подсчет баллов, и выведения числа Нуджента.

***L. crispatus*, *L. jensenii* и *L. gasseri* не были обнаружены в мазках у женщин с бактериальным вагинозом**, тогда как *L. iners* обнаруживалась у большинства женщин с БВ. *G. vaginalis* определялась во всех мазках у женщин с БВ, тогда как *M. mulicris* была обнаружена только в одном мазке. *Clostridiales* также весьма специфична и указывает на наличие БВ (*Fredricks, 2005*) *G. vaginalis*, в норме присутствует в малых количествах, так по данным *Aroutcheva, 2001* только у 26,4% здоровых американских женщин с нормальной микробиотой высевается данная бактерия, тогда как при БВ она определяется в 3 раза чаще (87,5%). Обнаружение *Leptotrichia/Sneathia*, *Atopobium vaginae*, *Eggerthella*-подобных бактерий, *Megasphaera species* и трех новых видов бактерий из семейства

*Clostridiales*, ассоциировалось с наличием БВ. Определение нескольких видов бактерий методом ПЦР является более надёжной диагностикой БВ, чем преобладание какой-либо одной бактерий, к примеру, ранее диагностику БВ связывали с количественным увеличением *Gardnerella vaginalis* (Fredricks, 2007). В Китае выделение таких бактерий как: *Gardnerella*, *Atopobium*, *Megasphaera*, *Eggerthella*, *Aerococcus*, *Leptotrichia/Sneathia*, *Prevotella* и *Papillibacter* достоверно указывало на наличие диагноза БВ ( $p < 0,05$ ) (Ling, 2010).

**БВ увеличивает риск возникновения таких гинекологических заболеваний как: эндометрит, сальпингит, тубоовариальный абсцесс** (Avonts, 1990; Hillier, 1996; Klebanoff, 2004; Larsson, 1990), **в то время как среди акушерских осложнений отмечаются: аборт на ранних сроках, преждевременное излитие околоплодных вод, преждевременные роды, послеродовой эндометрит** (Donders, 2000; Simhon, 2005; Hauth, 2003; Macones, 2004; Hillier, 1996; Swidsinski, 2013; Leitich, 2003; Krauss-Silva, 2014). Кроме того, БВ **увеличивается риск развития инфекций мочевыводящих путей** (Harmanli, 2000; Klebanoff, 2004; Larsson, 1990).

**Лечение БВ уменьшает риски возникновения вышеуказанных состояний и осложнений** (Kiss, 2004; Varma, 2006).

Высокий pH (>4.5) влагалища рассматривается как фактор риска развития инфекционных осложнений и абортов (Plate-Christensen, 1993). Параметры кислотности влагалища в пределах pH => 4,5 и выше 5,0 есть предикторы диагноза БВ в 82% и 100% случаев соответственно, превышение уровня pH выше 5 удваивает риск с 41% до 84%. Среди беременных женщин с БВ и при наличии pH => 4,5 распространенность спонтанных преждевременных родов в срок до 37 недель составила 3,8%. При определении pH более 4,5 у беременных женщин и при количестве баллов в пределах от 9 до 10 при оценке по шкале Ньюджента, **значительно увеличивается частота преждевременных родов (<37, <35 и <32 недель) и рождение детей с низкой массой тела (менее 2500 г)**. (Hauth, 2003). Вследствие вышеуказанной ассоциации «Немецкая ассоциация акушеров-гинекологов» (*Deutsch Gesellschaft für Geburtshelfer Gynäkologen, DGGG*) (*AWMF (of the joint Alliance for Women in Media Foundation). Bakterielle Vaginose in Gynäkologie und Geburtshilfe. AWMF - Leitlinien-Register Nr 015/028; Hoyme. 2005*) в случае роста показателя инфекционных осложнений в отделениях акушерства и гинекологии настоятельно рекомендует проводить мониторинг pH влагалища во время беременности (Kiss, 2004).

**Микробиота, включающая комплекс лактобацилл *L. crispatus* и *L. gasseri* в качестве доминирующего комплекса, профилактирует преждевременные роды**, тогда как превалирование *L.iners* коррелирует с увеличением преждевременных родов (Petricevic, 2014)

## **Рациональное применение пробиотиков с целью поддержания нормальной среды влагалища и лечения БВ**

Идея о применении пробиотиков (лактобактерии) для поддержания нормальной среды влагалища и лечения БВ появилась на основании того факта, что микробиота формируется с первых дней жизни ребенка и она играет важную роль на протяжении всей жизни женщины. Микробиота влагалища в основном состоит из постоянных и транзиторных лактобактерий, аэробных и анаэробных бактерий-комменсалов, различных видов гриба рода *Candida*. Большинство указанных микроорганизмов и грибов существуют в просвете кишечника, присутствуют на кожных покровах. Константа pH поддерживается микрофлорой, первостепенную роль в которой отводится лактобактериям.

Лактобактериям отводится роль защитников против патогенов, так пробиотики определяются как «живые микроорганизмы которые при приеме в адекватных дозах приносят пользу для здоровья реципиента» (ВОЗ, 2001). Возможность приема пробиотиков уже была описана в мета-анализах для эффективного лечения диареи, респираторных инфекций, некротизирующего энтероколита, илеита и рецидивов язвенного колита, а также в качестве профилактики и лечения ангины, кариеса, при состояниях характерных для метаболического синдрома и при других заболеваниях.

В двойном слепом плацебо контролируемом исследовании пероральный прием средств содержащих штаммы *L. rhamnosus* и *L. reuteri* повышал эффективность 7 дневной стандартной терапии

метронидазолом у нигерийских женщин имеющих диагноз БВ. Показатель излечения при оценке по шкале Ньюджента был достоверно выше (88%,  $p < 0,001$ ) после 30 дней в группе приема пробиотика по сравнению с группой приема плацебо (40%) (Anukam, 2006). Данные результаты подобны результатам, полученным в исследовании Martinez 2009. В этой же работе те же штаммы применялись перорально в течение 28 дней, в сочетании с однократным введением тинидазола (2 000 мг) у бразильских женщин с БВ. На основании критериев Амсея и при оценке по шкале Ньюджента, показатель излечения в группе приема пробиотика составил 87,5% тогда как в группе приема плацебо 50% ( $p < 0,05$ ). В другом двойном слепом плацебо контролируемом исследовании лактобактерии *L. gasseri* и *L. rhamnosus* применялись в виде вагинальных капсулах в течение 10 суток как дополнение к терапии 2% - гелем клиндамицина в течение 7 дней норвежскими женщинами с БВ. Исследование продолжалось на протяжении 3 менструальных цикла подряд, а прием пробиотика начинался после менструаций. Таким образом, лечение включало четыре курса приема пробиотика и один курс с использованием геля клиндамицина. Показатель излечения после первой менструации не показал существенного различия между группами, так в группе приема лактобактерий он составил 74% (37/50), тогда как в группе приема плацебо 78% (39/50) ( $p=0,82$ ). Однако, при наблюдении за состоянием 76 женщин, классифицируемых изначально как вылеченные, на протяжении 6 менструальных циклов было обнаружено, что частота рецидива заболевания достоверно выше в группе приема плацебо по сравнению с группой приема лактобактерий ( $p = 0,06$ ), (Larsson, 2008). В работе Petricevic u Witt, 2008 женщины с БВ в группе плацебо лечились по стандартной схеме принимая перорально клиндамицина в течение 7 дней, в группе контроля в дополнение к клиндамицину было рекомендовано использование вагинальных капсул содержащих *L. rhamnosus* L (Lcr35). Лактобактерии применялись на протяжении 7 дней непосредственно после лечения антибиотиками. Как результат терапии, снижение на 5 баллов и более при оценке по шкале Нуджента было отмечено у 83% женщин в группе контроля и у 35% женщин в группе приема плацебо ( $P < 0,001$ ).

Мета-анализ включивший 1304 женщин (12 исследований) продемонстрировал, что прием пробиотиков значительно улучшал исходы лечение женщин с БВ [отношение рисков (OR) 1.53; 95% CI 1.19-1.97]. Результаты незначительно отличались, когда в анализ были включены только 9 исследований соответствующих высоким стандартам качества проведения клинических исследований (RR 1.60; 95% CI 1.16-2.22) (Huang, 2014).

**Основанием для включения определенных штаммов лактобактерий в препарат «Флориум» явилось обнаружение именно данных штаммов в микрофлоре влагалища здоровых беременных женщин в первом триместре беременности (Kiss, 2007).**

После всестороннего изучения 168 штаммов лактобактерий, проведения фено- и генотипирования штаммов, а также тестирования на безопасность (включая скрининг на резистентность к антибиотикам, деградацию муцином, отсутствие  $\beta$ -гемолиза, гликозидазной и ариламидазной активности) были селекционированы 4 вида лактобактерий: *L.crispatus* LbV 88 (DSM 22566), *L.jensenii* LbV 116 (DSM 22567), *L.gasseri* LbV 150N (DSM 22583), *L.rhamnosus* LbV 96 (DSM 22560) (Domig u др., 2014).

Наиболее часто у здоровых американок и японок определяются следующие лактобактерии: *L.crispatus*, *L.jensenii*, *L.gasseri* (Antonio, 1999; Song, 1999).

У австрийских женщин в конце первого триместра беременности без признаков вагинальной инфекции, преобладающей флорой является: *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. jensenii* и *L. rhamnosus* (Kiss, 2007)

**Доминирование *L. crispatus* или *L. jensenii* ассоциировалось с достоверно меньшей частотой развития бактериального вагиноза ( $p < 0,001$ ) (Antonio, 1999).**

*L. gassenii* и *L rhamnosus* — это лактобактерии штаммы которых обладают свойства пробиотиков. Все 4 вида лактобактерий вырабатывают молочную кислоту, которая подкисляет вагинальную среду, выделяют перекись водорода, а также замедляют рост патогенных микроорганизмов, включая *G. vaginalis*. В процессе селекции значимое внимание уделялось устойчивости лактобактерий к желчным кислотам и кислой агрессивной среде желудка, что немаловажно для выживания лактобактерий при их прохождении по желудочно-кишечному тракту. Важным фактором мощной колонизации является возможность приспособлений лактобактерий к условиям, которые формируются в среде влагалища, а именно: аэробные и анаэробные условия, кислая среда, возможность утилизации гликогена. Все вышеуказанные факторы и критерии являлись неотъемлемой частью в выборе наиболее перспективных лактобактерий (Domig et al., 2014).

**Использование более чем одного штамма лактобактерий, а именно комплекса лактобактерий, может считаться разумным подходом, основываясь на том, что диверсифицированная микробиота лактобактерий (2 и более штаммов) доказано снижает риск преждевременных родов (Petricevic, 2014), которые связаны с наличием урогенитальной инфекции.**

Различные штаммы лактобактерий уже давным-давно используются в пище, так *L.crispatus*, *L.jensenii*, *L.gasseri* в качестве закваски, *L.rhamnosus* для ферментации овощей и мяса, в ферментированных пищевых добавках (Bourdichon, 2012)

Штаммы лактобактерий содержащиеся в препарате «Astarte» были протестированы в двойном слепом исследовании у 60 транссексуалов, которым искусственно создали влагалище (неовлагалище). В микробиоте неовлагалища преобладают аэробные и анаэробные штаммы бактерий при значительно сниженном количестве лактобактерий. Подобный дисбаланс характерен и для БВ (Weyers, 2009; Weycrs, 2010). Группа приема «Astarte» составила 33 транссексуала, которые получали пробиотик в капсулах, каждая из которых гарантированно содержала *L. crispatus* LbV88 (DSM 22566) –  $1 \times 10^9$ , *L. rhamnosus* LbV96 (DSM 22560) –  $1 \times 10^9$ , *L. jensenii* –  $0,2 \times 10^9$ , *L. gasseri* –  $0,3 \times 10^9$  и 27 транссексуалов в контрольной группе, которые получали плацебо. Длительность приема пробиотика как и плацебо составила 7 дней. В группе приема пробиотика было отмечено достоверное улучшение показателя Ньюджента у 16 транссексуалов (48 5%) по сравнению с группой плацебо 4 (14 8%) ( $p < 0,006$ ). Отмечался достоверный рост количества лактобактерий в микрофлоре неовлагалища после приема пробиотика по сравнению с группой приема плацебо, на  $10\ 000 \pm 600$  колониеобразующих единиц(КОЕ) и  $1600 \pm 100$  КОЕ, соответственно ( $p < 0,0001$ ). Пероральный прием «Astarte» достоверно улучшает микробиоту влагалища (Kaufmann, 2013).

### **Заключение**

*В норме показатель pH среды влагалища у взрослых женщин находится в пределах от 3.8 до 4.4.*

*Уровень pH поддерживается микробиотой влагалища, львиную долю которой составляют лактобактерии. У здоровых женщин наиболее часто встречаются такие виды лактобактерий: *L.crispatus*, *L.jensenii*, *L.gasseri* и *L.rhamnosus*.*

*Доминирование *L. crispatus* или *L. jensenii* ассоциировалось с достоверно меньшей частотой развития бактериального вагиноза ( $p < 0,001$ ).*

*Бактериальный вагиноз (БВ) - является наиболее распространенным микробиологическим нарушением вагинальной среды у взрослых женщин. БВ характеризуется дисбалансом микрофлоры влагалища: уменьшением количества лактобактерий и значительным ростом количества разнообразных анаэробных бактерий на эпителии влагалища. Снижение количества колоний лактобактерий сопровождается уменьшением продукции перекиси водорода и увеличением pH выше 4,5. Оба данных показателя pH  $> 4,5$  и низкая концентрация перекиси водорода во влагалище, являются факторами риска развития инфекционной патологии.*

БВ увеличивает риск возникновения таких гинекологических заболеваний как: эндометрит, сальпингит, tuboовариальный абсцесс, а также увеличивается риск развития инфекций мочевыводящих путей.

Среди акушерских осложнений БВ отмечаются: аборт на ранних сроках, преждевременное излитие околоплодных вод, преждевременные роды, послеродовой эндометрит.

Лечение БВ уменьшает риски возникновения вышеуказанных состояний и осложнений.

Использование более чем одного штамма лактобактерий, а именно комплекса лактобактерий, может считаться разумным подходом, основываясь на том, что диверсифицированная микробиота лактобактерий (2 и более штаммов) доказано снижает риск преждевременных родов, в то время как преобладание *L. iners* ассоциируется с преждевременными родами.

Несколько двойных слепых исследований показали, что пероральный прием средств содержащих лактобактерии сопоставим по эффективности в лечении БВ с вагинальным применением средств содержащих лактобактерии

У европейских здоровых женщин значимо чаще определяется такие лактобактерии как *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. jensenii* и *L. rhamnosus*. Именно эти лактобактерии входят в состав «Astarte». Селекция данных лактобактерий и их штаммов осуществлялась на основании их свойств, а именно: подкисления среды влагалища и поддержание pH на должном уровне, выработка перекиси водорода, замедление роста патогенных микроорганизмов, включая *Gardnerella vaginalis*, хорошей выживаемости при прохождении через желудочно-кишечный тракт и доказанных возможностей колонизации влагалища.

Astarte® является единственным коммерчески доступным и клинически доказанным препаратом, способным профилактировать развитие БВ. Astarte® содержащим наиболее распространенные штаммы лактобактерий, которые были определены в ходе клинических и эпидемиологических исследований у здоровых женщин.

**\*В Украине эксклюзивные права на продвижение препарата Astarte под названием **Флориум** имеет компания **Ananta**\***

По материалам размещенным на официальном сайте препарата Astarte <http://www.astarte-probiotics.com/studies/>

#### Литература:

- 1 Amsel R. Totten PA, Spiegel CA. Chen KCS, Eschenbach DA. Holmes KK. Nonspecific vaginitis Diagnostic criteria and microbial and ctpdcriobgc associations. Am J Med 1983: 74:14-22
2. Antonio MAD. Hawes SE and Hillier SL The Identification of Vaginal LactobaaDus Species and the Demographic and Microbiologic Characteristics of Women Colonized by These Species. JID 1999:180'1950-6
3. Anukam K, Osazuwa E. Ahonkhai I, Ngwu M, Osemcne G. Bruce AW. Reid G. Augmentation of antimicrobial metronidazole therapy of bacterial vaginosis with oral probiotic Lactobacillus rhamnosus GR- 1 and Lactobacillus reuteri RC-14: randomized, double-blind, ptacebo controlled trial Microbes and Infection 2006:8-1450-54
4. Avonts D. Sercu M, Heyerick P, Vandermeeren I, Meheus A, Piot P. Incidence of uncomplicated genital infections in women using oral contraception or an intrauterine

- device' a prospective study. *Sex Transm Dis* 1990. 17: 23-9
5. AWMF. Bakterielle Vaginose in Gynäkologie und Geburtshilfe. AWMF - Leitlinien-Register Nr. 015/028
  - 6 Bourdichon F, Boyaval P, Casaregola S, Farrokhi C, Frisvad JC, Gerds ML, Hammes WP, Harnett J, Huys G, Laulund S, Ouwehand A, Powell IB, Prajapati JB, Seto Y, Ter Schure E, Van Booven A, Vankerkhoven V, Zgoda A, Tuijthuis S, Hansen EB Food fermentations. Microorganisms with technological beneficial use *Int J Food Microbiology* 154 (2012) 87-97
  7. Bourdichon F, Casaregola S, Farrokhi C, Frisvad JC, Hammes WP, Huys G, Jany JL, Laulund S, Ouwehand A, Soto Y, Zgoda A, Hansen EB The 2012 inventory of microbial species with technological beneficial role in fermented food products *Bulletin of the IDF* 2012; 455 22-63
  8. De Seta F. Effect of Astartin intake combined with conventional treatment for BV or WC (Abstract 2014)
  - 9 Domig KJ, Kiss H, Petricevic L, Viernstein H, Unger F, Kneifel W. Strategies for the evaluation and selection of potential vaginal probiotics from human sources: an exemplary study *Beneficial Microbes*, 2014. 5. 263-272
  - 10 Donders GGG, van Bulk B, Caudron J, Londres L, Vereecken A, Spritz B. Relationship of bacterial vaginosis and mycoplasmas to the risk of spontaneous abortion. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:43 1-7
  11. EFSA Scientific Opinion on the maintenance of the list of QF+S microorganisms intentionally added to food or feed (2009 update)<sup>1</sup>. *EFSA Journal* 2009, 7(12):1431
  - 12 Food and Agricultural Organization of the United Nations and World Health Organization Joint FAO.WHO working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food Food and Agricultural Organization of the United Nations [online], (200?)
  - 13 Fedricks DN, Giedler TL Molecular identification of bacteria suggests a strong association between *Atopobium vaginae*, *Gardnerella vaginalis* and bacterial vaginosis. *N Engl J Med* 2005;353:1899-911
  - 14 Harmanli OH, Cheng GY, Nyirjesy P, Chatwani A, Gaughan JP. Urinary tract infections in women with bacterial vaginosis. *Obstet Gynecol* 2000. 95. 710-2
  15. Hauth JC, MacPherson C, Carey JC, Klebanoff MA, Hillier SL, Ernest JM, Leveno KJ, Wapner R, Varner M, Trout W, Moawad A, Sibani B Early pregnancy threshold vaginal pH and Gram stain scores predictive of subsequent preterm birth in asymptomatic women. *Am J Obstet Gynecol* 2003;188: 831-5
  16. Hillier SL, Kiviat NB, Hawes SE, Hasselquist MB, Hanssen PW, Eschenbach DA Role of bacterial vaginosis associated microorganisms in endometritis *Am J Obstet Gynecol* 1996;175: 435-41
  17. Froyen UB, Schwalbe N, Sating E. Die Effizienz der Thüringer Frühgeburtenvermeidungs-Aktion 2000 wird durch die Perinatalstatistik der Jahre 2001-2003 bestätigt *L Geburtsh Frauenheilk* 2005
  - 18 Huang H, Song L, Zhao W. Effects of probiotics for the treatment of bacterial vaginosis in adult women- a meta-analysis of randomized clinical trials *Arch Gynecol Obstet* 2014; 289:1225-1234
  19. Kaufmann U, Domig KJ, Lippitsch CI, Kraler M, Marschalek J, Kneifel W, Kiss H, Petricevic L. Ability of an orally administered lactobacilli preparation to improve the quality of the neovaginal microflora in male to female transsexual women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2014; 172: 102-105
  20. Kiss H, Petricevic L, Husslein P Prospective randomized controlled trial of an infection screening program to reduce the rate of preterm delivery *BMJ* 2004. 329: 371-5
  21. Kiss H, Kogler B, Petricevic L, Sauerzapf I, Klayraung S, Domig KJ, Viernstein H, Kneifel W Vaginal *Lactobacillus* microbiota of healthy women in the late first trimester of pregnancy *BJOG* 2007;114: 1402-1407
  - 22 Klebanoff MA, Schwebke JR, Zhang J, Nansel TR, Yu K-F, Andrews WW. Vulvovaginal symptoms in women with bacterial vaginosis. *Obstet Gynecol* 2004. 104:267-72
  23. Krauss-Silva L, Ajmada-Horta A, Alves MB, Camacho KG, Moreira MEL, Braga A. Basic vaginal pH, bacterial vaginosis and aerobic vaginitis prevalence in early pregnancy and risk of spontaneous preterm delivery, a prospective study in a low socioeconomic and

- multi-ethnic South American population. *BMC Pregnancy and Childbirth* 2014. 14:107
- 24 Larsson PG, Bergman B, Forsum U, Platz-Christensen JJ, Pahlson C Mobiluncus and Clue cells as predictors of PID after first-trimester abortion. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1989;68:217-20
  25. Larsson PG, Bergmann B, Forsum U, Pahlson C. Treatment of bacterial vaginosis in women with vaginal bleeding complications or discharge and harboring Mobiluncus. *Gynecol Obstet Invest* 1990;29: 296-300
  - 26 Larsson PG, Forsum U. Bacterial vaginosis of disturbed bacterial flora and treatment enigma. *APMIS* 2005; 113:305-16
  27. Larsson PG, Stry-Pedersen B, Rytting KR, Larsen S. Human lactobacilli as supplementation of clindamycin of patients with bacterial vaginosis reduce the recurrence rate; a 6 month, double-blind, randomized, placebo-controlled study *BMC Women's Health* 2008;8:3-10
  - 28 Leilich H, Bodner-Adler B, Brunbauer M, Kaidler A, Egarter C, Husslein P: Bacterial vaginosis as a risk factor for preterm delivery, a meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 189:139-147.
  29. Macones GA, Pam/ S, Elkousy M, Clothier B, Ural S, Strauss JF. Apolymorphism in the promoter region of TNF and bacterial vaginosis in pregnancy: Preliminary evidence of gene-environment interaction in the etiology of spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2004. 190:1504-8
  30. Martinez RCR, Francoeschim SA, Patta MC, Quintana SM, Gomes BC, De Martinis ECP, Reid G Improved cure of bacterial vaginosis with single dose of tinidazole (2g), *Lactobacillus rhamnosus* GR-1, *Lactobacillus reuteri* RC-14; a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Can J Microbiol* 2009; 55: 133-138
  31. Nugent RP, Krohn MA, Hillier SI Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of Gram stain interpretation. *J Clin Microbiol* 1991;29: 297-301
  32. Petncevic I. and Witt A. The role of *Lactobacillus casei rhamnosus* Lcr35 in restoring the normal vaginal flora after antibiotic treatment of bacterial vaginosis. *BJOG* 2008. 115:1369-1374
  - 33 Petncevic L, Domig KJ, Nierscher FJ, Sandhofer MJ, Fidesser M, Krondorfer I, Husstem P, Kneifel W, Kiss H. Characterisation of the vaginal *Lactobacillus rhamnosus* associated with preterm delivery. *Scientific Reports* 2014. 4 : 5136; DOI: 10.1038/srep05136
  34. Platz-Christensen JJ, Pemevi P, Hagmar B, Andersson E, Brandberg A, Wiqvist N. A longitudinal follow-up of bacterial vaginosis during pregnancy. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica* 1993. 72: 99-102
  35. Reid G, Burton J, Devillard E. The rationale for probiotics in female urogenital healthcare. *MedGenMed* 2004 . 29: 49
  36. Schrezenmeir J, de Vrese M Probiotics, prebiotics, and synbiotics—approaching a definition. *Am J Clin Nutr* 2001 ;73(suppl) 3B1 S-4S
  - 37 Simhan HN, Caritis SN, Krohn M, Hillier SL The vaginal inflammatory milieu and the risk of early preterm rupture of membranes *Am J Obstet Gynecol* 2005: 192: 2 13-8
  38. Song YL, Kato N, Matsumiya Y et al Identification of and Hydrogen Peroxide production by Fecal and vaginal *Lactobacilli* isolated from Japanese Women and Newborn Infants. *JCM* 1999: 37:3062
  39. Swidsinski A, Dorffel Y, Loening-Baucke V, Mendling W, Verstraelen H, Dieterle S, Schlotz J. Desquamated epithelial cells covered with a polymicrobial biofilm typical for bacterial vaginosis are present in randomly selected cryopreserved semen FFMS *Immunol Med Microbiol* 2010b; 59:399- 404
  - 40 Swidsinski A, Dorffel Y, Loening-Baucke V, Swidsinski S, Verstraelen H, Vaneeboutte M, Lamm V, Schilling J, Mendling W *Gardnerella* Biofilm Involves Females and Males and is Sexually Transmitted *Gynecol Obstet Invest* 2010a; 70: 25 6-63
  - 41 Swidsinski A, Mendling W, Loening-Baucke V et al Adherent biofilms in bacterial vaginosis. *Obsist Gynecol* 2005.106:1013-1023
  - 42 Swidsinski A, Mendling W, Loening-Baucke V, Swidsinski S, Dorffel Y, Schotze J, Lochs H, Verstraelen H An adherent *Gardnerella vaginalis* biofilm persists on the vaginal epithelium after standard therapy with oral metronidazole. *Am J Obstet Gynecol* 2008: 198: 97-99
  43. Swidsinski A, Verstraelen H, Loening-Baucke V, Swidsinski S, Mendling W, Hafwani Z.

Presence of a Polymicrobial Endometrial Biofilm in Patients with Bacterial Vaginosis PLoS One 2013; 8(1): e 53997

44. Varma R Gupta JK. Antibiotic treatment of bacterial vaginosis in pregnancy: Multiple meta-analysis and dilemmas in interpretation. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2036; 124:10-4
45. Verhelst R, Verstraelen H, Claeys G et al. Cloning of 16S rRNA genes amplified from normal and disturbed vaginal microflora suggests a strong association between *Atopobium vaginae*, *Gardnerella vaginalis* and bacterial vaginosis BMC Microbiol 2004;4:16
46. Verstraelen H, Verhelst R Bacterial vaginosis- an update on diagnosis and treatment Expert Rev Anti Infect Ther 2009; 7:1109-24
47. Weyers S, Verstraelen H, Gerris J, et al Microflora of the penile skin-lined neovagina of transsexual women. BMC Microbiol 2009;9:102
48. Weyers S, Lambein K, Sturtewagen Y, Verstraelen H, Gerris J, Praet M. Cytology of the 'penile' neovagina in transsexual women. Cytopathology 2010;21: 111-5
49. Ya W, Reifer C, Miller LE Efficacy of vaginal probiotic capsules for recurrent bacterial vaginosis: a double blind, randomized, placebo controlled study Am J Obstet Gynecol 2010;203:120.C1-6