

Lactobacillus Probióticos: Sustancias Naturales Bioactivas para la Prevención de Infecciones Urogenitales

Heidy Pérez-Leonard

Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA). Vía Blanca 804 esquina Carretera Central, San Miguel del Padrón, AP.4026, Cuba. E-mail: heidy.perez@icidca.edu.cu

Palabras clave: Lactobacilos, probióticos, flora vaginal, infecciones urogenitales

RESUMEN

La necesidad de superar los problemas existentes en cuanto al uso de antibióticos, han impuesto a los investigadores una interesante e importante tarea en la búsqueda de productos o sustancias naturales bioactivas, como son los probióticos. En el área de ginecología, constituyen preparaciones con microorganismos vivos usadas intra-vaginalmente para prevenir infecciones y restaurar el balance ecológico microbiano afectado o desequilibrado. Dicha terapia se considera natural y sin efectos colaterales en contraste con los tratamientos farmacéuticos convencionales.

La flora microbiana normal de la vagina juega un papel importante en la prevención de infecciones en el tracto genital y urinario en mujeres. Las bacterias ácido lácticas son dominantes del tracto vaginal en mujeres saludables, específicamente los lactobacilos. Estos forman una barrera que protege la colonización de patógenos por distintos mecanismos y han sido enfocados para tratar pacientes con infecciones del tracto urogenital (UTI), vaginosis bacteriana (BV) y otro grupo de infecciones genitales, excluyendo candidiasis.

Sistemáticamente, los lactobacilos no han sido asociados con daños y por ende son considerados como miembros no patógenos de la flora intestinal y urogenital. Más recientemente, el uso de probióticos *per se* y lactobacilos reciben mayor atención como una alternativa natural para restaurar y mantener la salud. Ha sido observado que dos cepas de lactobacilos, GG (ATCC 53103) y GR-1 son efectivas para la colonización y protección del tracto intestinal y urogenital contra infecciones microbianas.

Esta revisión está dirigida hacia nuevas aplicaciones de la biotecnología, puesto que la perspectiva del uso de los lactobacilos probióticos contribuye al desarrollo de productos naturales para el riesgo a infecciones en el

tracto urogenital, lo cual alcanza gran importancia e impacto social en la calidad de vida de la mujer.

Key words: *Lactobacillus*, probiotics, vaginal flora, urogenital infections

ABSTRACT

The necessity to overcome the problems existing on antibiotics use, have attracted the attention of the research community to an interesting and important task in the seek for products or natural bioactive substances, namely probiotics. In the gynecological area, they constitute preparations with living microorganisms by intra-vaginal application to prevent infections and to restore the ecological microbial balance affected or unpaired. This therapy is considered natural and without side effects in contrast with the conventional pharmaceutical treatments.

The normal microbial flora of the vagina plays an important role in the prevention of infections in genital and urinary tracts in women. Lactic acid bacteria are dominant in the vaginal tract in healthy women, especially those of the lactobacilli genus. *Lactobacillus* species form a barrier that protects from pathogen colonization through different mechanisms. These bacteria have been used to treat patients with urogenital tract Infections (UTI), bacterial vaginosis (BV) and other genital infections, except candidiasis.

Systematically, lactobacilli have not been associated with damages and therefore they are considered as non pathogenic members of intestinal and urogenital microbiote. They are used in the industry of fermented food as probiotics for human and in animal nutrition, as well. More recently, the use of probiotics *per se* and particularly lactobacilli, have received bigger attention like a natural alternative to restore and to maintain the health. It has been found that two strains of *Lactobacillus*, GG (ATCC 53103) and GR-1 are effective to colonize and protect the intestinal and urogenital tract against microbial infections.

This revision is directed toward new applications of the biotechnology. The perspective of the use of the lactobacilli probiotics contributes to the development of

natural products to prevent the risk of infections in the urogenital tract, which has great importance and social impact in the quality of the woman's life.

INTRODUCCIÓN

Uno de los desafíos que presenta la Biotecnología, es la búsqueda de alternativas al uso de los antibióticos mediante sustancias naturales que disminuyan las infecciones que se presentan en el tracto urogenital provocados por bacterias patógenas. Sin duda, la situación que se ha creado entre los antibióticos y las bacterias debido a los problemas de resistencia entre ellos constituye una frontera a solucionar. Esto demuestra que la búsqueda de compuestos a partir de microorganismos continúa siendo la principal fuente de nuevos antimicrobianos.

Dentro de las bacterias patógenas más frecuentes en el tracto urogenital se enumeran: *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Gardnerella vaginalis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans* y *Klebsiella pneumoniae* (Heather, 2003).

Existe una amplia investigación acerca de los probióticos, dirigida fundamentalmente hacia los problemas intestinales y en menor medida aplicados en la flora respiratoria y bucal. Pocas investigaciones y grupos de investigadores se encuentran desarrollando estudios para prevenir las enfermedades del tracto génito-urinario, causado por las diversas infecciones vaginales, de transmisión sexual y el VIH.

El propósito de este artículo, consiste en destacar la necesidad de diseñar productos farmacéuticos en base de microorganismos probióticos que favorezcan la restauración de la microflora vaginal y/o prevenga el desarrollo de infecciones del tracto genital femenino, lo cual alcanza gran importancia e impacto social en la calidad de vida de la mujer.

LOS PROBIÓTICOS EN LA SALUD UROGENITAL

Ecosistema urogenital

El tracto urogenital de la mujer sana es un ecosistema dinámico, ecológicamente estable y

balanceado. Las condiciones normales y el equilibrio ecológico pueden ser modificados por cambios en su estructura y composición debido a la influencia de una serie de factores tanto del huésped como exógenos. Es caracterizado por una flora microbiana compleja, cuyo equilibrio sufre numerosas fluctuaciones debido a la interrelación entre la microflora endógena y los productos metabólicos del huésped, estrógeno y pH (Burton & Reid, 2002).

Los niveles de estrógeno juegan un papel importante en la regulación de la flora vaginal ya que estimula la secreción de glucógeno (Larsen, 1993). Muchos estudios confirman que las células de la vagina son ricas en glucógeno con algunas cepas de *Lactobacillus* capaces de fermentar directamente el glucógeno e incrementar (<http://www.cientec.or.cr/equidad/seres.html>) la acidez de la vagina.

Redondo *et al.* (1990) realizaron un estudio comparativo de la microflora urogenital de mujeres en buenas condiciones de salud y de mujeres con infecciones urinarias o vaginales y demostraron claramente que los episodios infecciosos se asocian a una disminución importante, o hasta desaparición, de los lactobacilos endógenos. Debido a esto, se evidencia que los lactobacilos endógenos representan, en la prevención de las infecciones urogenitales, un papel similar al que tienen en el intestino.

Flora vaginal normal

Fue una de las primeras en ser reconocida en 1892 por Döderlein quien identificó la presencia o ausencia de bacilos Gram-positivos en la flora vaginal normal y nombró a este organismo "*Bacillus Döderlein*", actualmente conocido como *Lactobacillus acidophilus*. El glucógeno es utilizado por *Lactobacillus* spp., siendo el ácido láctico el producto final de su metabolismo que ocasiona un descenso importante del pH que inhibe muchas bacterias (Juárez *et al.*, 2003). El ambiente ácido de la vagina con pH entre 4 y 5 es un mecanismo de defensa contra la colonización de patógenos, lo cual

contribuye al restablecimiento de la flora vaginal y la prevención de infecciones urogenitales.

BENEFICIOS DE LOS PROBIÓTICOS EN EL ÁREA VAGINAL

Existe una marcada tendencia mundial acerca del empleo de productos probióticos con resultados altamente satisfactorios para la salud humana. Evidencias científicas, demuestran la efectividad de la administración de probióticos frente a situaciones clínicas o infecciones en el tracto urogenital. Su aplicación, particularmente como bioterapéuticos, ha alcanzado gran interés con vistas a diseñar productos farmacéuticos a base de microorganismos. Esto hace sumamente atractiva la búsqueda de productos naturales viables empleando la terapia con probióticos, definida como preparaciones con microorganismos vivos usadas intravaginalmente para prevenir infecciones y restaurar el balance ecológico microbiano afectado o desequilibrado. Dicha terapia se considera natural y sin efectos colaterales en contraste con los tratamientos farmacéuticos convencionales.

Las investigaciones que se han llevado a cabo en el mundo, ayudan a resolver los siguientes problemas: Favorecer la restauración de la microflora vaginal y/o prevención del desarrollo de infecciones del tracto genital femenino, incrementar la calidad de vida de la mujer favoreciendo su salud reproductiva, acortar el tratamiento farmacológico contra infecciones vaginales y disminuir patologías obstétricas y ginecológicas de importante impacto social y económico.

Lactobacilos en la vagina

Los grupos de microorganismos predominantes en el área de la vagina pertenecen a los géneros *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium* y *Bifidobacterium* (Klebanoff & Coombs, 1991). *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus fermentum* son las especies de lactobacilos más prevaletentes en la vagina (Suárez *et al.*, 1998). Las bacterias lácticas, específicamente los lactobacilos (ver Fig. 1), constituyen la flora endógena y habitual siendo los más frecuentes y

predominantes en la vagina en concentraciones de 10^7 - 10^8 UFC/g lo cual representa el 50 al 90% de la

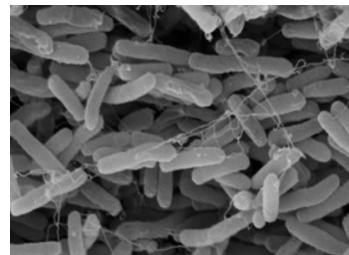


Fig. 1. *Lactobacillus*

microflora. *Lactobacillus acidophilus*, es la bacteria dominante en un ecosistema vaginal saludable (Cullins *et al.*, 1999). Alrededor de 80 especies diferentes de lactobacilos han sido identificadas (Cibley, 1991). Disminuyen el pH vaginal mediante la producción de productos ácidos, haciendo la vagina inhabitable a algunas especies bacteriales (Mardh, 1991) y mantiene la flora vaginal a pH de 3.8 a 4.2. Hawes *et al.* (1996) encontraron organismos de lactobacilos productores de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) que actuaron como protectores contra el desarrollo de vaginosis bacteriana, no siendo de esta manera en los no productores de H_2O_2 .

Infecciones del Tracto Vaginal

Un grupo de infecciones están involucradas en la mujer con alto porcentaje de prevalencias a nivel mundial y se destaca la frecuencia en que cada día ocurren estos trastornos. Las enfermedades que se manifiestan en esta área son: vaginosis bacteriana, candidiasis vaginal, cervicitis, de transmisión sexual e infecciones urinarias (Ferris *et al.*, 2002).

Dentro de los microorganismos productores de los distintos cuadros clínicos se encuentran *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *Enterococcus faecium*, *Gardnerella vaginalis*, *Enterobacterias* y estreptococos del grupo B (Atias, 1994). De éstas, la vaginosis bacteriana es la queja vaginal más común, seguida por la candidiasis y trichomoniasis (Cullins *et al.*, 1999). En la tabla 1 se muestran las enfermedades más recurrentes en

el tracto vaginal y que a continuación se brindarán detalles de las mismas.

Tabla 1. Enfermedades más frecuentes que provocan trastornos en la flora vaginal de mujeres.

Enfermedades vaginales	Microorganismo patógeno	Riesgos y causas
Vaginosis bacteriana	<i>Gardnerella vaginalis</i>	Disminución de lactobacilos e incremento del pH de la vagina, partos prematuros, ruptura prematura de membranas ovulares, aborto espontáneo, infección del fluido amniótico endometritis post-parto (a).
Candidiasis vaginal	<i>Candida albicans</i>	Disminución de los niveles de glucógeno en el epitelio vaginal (b).
Trichomoniasis	<i>Trichomonas vaginalis</i>	En mujeres embarazadas: Ruptura prematura de las membranas de la placenta, infantes con bajo peso al nacer, además de infecciones post-quirúrgicas del tracto reproductor. Presencia de pH alcalino y disminución de los depósitos de glucógeno de la mucosa (c).

a)-Carey *et al.*, 2000

b)-Heather, 2003 (c)-Rojas *et al.*, 1998

MECANISMOS IMPLICADOS EN LA PROTECCIÓN CONTRA INFECCIONES UROGENITALES

Se ha discutido cuáles serían las condiciones de los microorganismos para ser usados en el tracto urogenital (McGroarty, 1993). Se agrupan un número de mecanismos por los cuales actúan estas preparaciones probióticas ejerciendo efectos positivos para la salud humana y con validez para realizar criterios de selección y ensayos “*in vitro*” con determinados organismos y cuyos mecanismos son:

1. *Presencia de microorganismos normales del área que actúa como barrera y ejerce resistencia a la colonización patógena y donde también es importante la congregación.*

Poco es conocido acerca de los mecanismos por los cuales los lactobacilos de la vagina de mujeres jóvenes saludables se adhieren a las células del epitelio vaginal, sin embargo, la variedad de estructuras superficiales en

estas bacterias implica que puede existir un espectro de los mecanismos de adherencia (Balotescu & Petrache, 2004). Además, la agregación por sí mismo puede aumentar substancialmente la colonización potencial de lactobacilos en el medio ambiente, con tiempos de residencia cortos. La adhesión puede ser detectada por reacciones de hemaglutinación (Ocaña & Nader, 2002).

2. *Producción de sustancias antagónicas y antimicrobianas tales como ácido orgánicos (ácido láctico, acético, fórmico).*

Estos ácidos orgánicos disminuyen el pH del medio y su principal mecanismo inhibitorio es la fracción no disociada de los mismos y el bajo pH del área, pues se ha considerado este mecanismo primario el papel protector contra infecciones vaginales y de dominancia ecológica. Estos ácidos generan un pH ácido en la vagina y son producidos por los lactobacilos, lo cual permite que este género resista la acidez y ocupen su predominancia en la microflora.

3. *Producción de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y metabolitos tóxicos del oxígeno.*

Algunos lactobacilos producen metabolitos secundarios como el H₂O₂ y especies citotóxicas del oxígeno como: el ión superóxido (O₂⁻), hidrógeno, iones hidroxilos (HO) y/o amonio. Este mecanismo influye en la colonización de los lactobacilos para inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos, pues se ha demostrado “*in vitro*” que los lactobacilos productores de H₂O₂ inhiben y eliminan a *G. vaginalis* y *P. bivio* (Strus *et al.*, 2002).

4. *Producción de bacteriocinas, sustancias similares a éstas y antibióticos.*

Las bacteriocinas son sustancias de origen proteico que poseen una marcada actividad antimicrobiana contra un determinado grupo de microorganismos (González *et al.*, 2003). Se acepta una hipótesis sugiriendo que la acción letal tiene lugar en dos fases: la bacteriocina se absorbe a receptores específicos en la envoltura celular y posteriormente tienen lugar una serie de lesiones bioquímicas letales en la membrana (Pérez *et al.*, 2000).

5. *Producción de sustancias biosurfactantes.*

Los lactobacilos han mostrado capacidad de producir sustancias adhesivas antipatógenos, es una mezcla cruda la cual es nombrada *biosurfactante*, cuyo efecto inhibitorio

puede extenderse a un amplio rango de patógenos virulentos (Reid & Bruce, 2001). Se presume, que estos biosurfactantes proteínicos principalmente son producidos *in situ*, quizás ayudado por el bajo pH.

A través de los lactobacilos se pueden llevar a cabo estos mecanismos de acción de gran importancia para el buen funcionamiento de la flora vaginal y su ecosistema. Dentro de ellos, se le ha dado particular interés a aquellos que producen H_2O_2 por su capacidad de restaurar el equilibrio ecológico y protector, así como su efecto antagonico. Por esta razón, es necesario realizar estudios en cuanto a la producción de H_2O_2 por lactobacilos y optimización de las condiciones de producción de este metabolito.

MÉTODOS PARA LA DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE PERÓXIDO DE HIDRÓGENO

La formación del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) depende generalmente de la ausencia o bajos niveles de catalasa. Una vez formado es de interés detectarlo y cuantificarlo para explicar el efecto antimicrobial. Existen ensayos para la liberación celular de H_2O_2 que incluyen:

-Oxidación dependiente de catalasa de formato a CO_2 , generación de productos fluorescentes debido a la reacción oxidativa mediada por el H_2O_2 , pérdida de la fluorescencia en la oxidación de escopoletina, cambio en la absorbancia en la oxidación de fenol rojo y formación de un complejo enzima-sustrato con peroxidasa, especialmente peroxidasa horseradish (HRP) (Rabe & Hillier, 2003).

Este último ensayo es el más empleado para medir H_2O_2 usando peroxidasa, los cuales son susceptibles a interferencias por reducción de co-sustratos que compite con el indicador y ha sido utilizado por diferentes autores. Dentro de los sustratos más comunes a utilizar se encuentran: benzidina, o-tolidina, o-toluidina, o-dianisidina y tetrametilbenzidina (TMB).

FACTORES QUE INFLUYEN EN LA PRODUCCIÓN DE PERÓXIDO DE HIDRÓGENO

El estudio de selección de cepas de lactobacilos y screening productoras de H_2O_2 conlleva a emplear

métodos de detección y cuantificación selectivos, así como determinar la influencia de diferentes factores citados a continuación:

-Factores nutricionales: El nutriente esencial presente en el área de la vagina es el glucógeno, el cual constituye el principal hidrato de carbono y la glucosa está presente en el fluido vaginal en concentraciones de 100 $\mu g/mL$, mientras que las proteínas como la albúmina es otro nutriente necesario que se encuentra en una concentración de 50 $\mu g/mL$,

-Factores hormonales: En este caso, se debe tener en cuenta el estrógeno y sus niveles en la vagina, pues se plantea que los niveles de estrógeno influyen en el contenido de glucógeno en la pared vaginal "*in vivo*" jugando un papel importante en la regulación de la flora vaginal. Se sugiere por otros autores que la administración de estrógeno aumenta el contenido de glucógeno, pero también la proliferación celular por lo que la concentración de glucógeno por células permanecería constante. Además no se han reportado estudios sobre el efecto hormonal.

-Factores físico-químicos: a)-pH vaginal: El pH de esta área en condiciones saludables es entre 3.8 y 4.5. Por encima de este rango comienza un desequilibrio que propicia que se produzcan las enfermedades. Un ejemplo, es la infección de vaginosis bacterial que se manifiesta a pH 4.7. b)-Producción de ácido láctico: Crea un medio ambiente ácido que ayuda a la flora con mecanismos que permiten la colonización de los lactobacilos y no de los microorganismos patógenos.

EFFECTIVIDAD DE LOS PROBIÓTICOS EN MEDICINA HUMANA

Antes de iniciar los estudios en humanos, *L. rhamnosus* GR-1 fue encontrado ser el mejor de 34 cepas de lactobacilos en cuanto a células uroepiteliales transicionales, exclusión competitiva de patógenos y producción de inhibidores del crecimiento de uropatógenos (Reid *et al.*, 1987).

Se han descubierto 5 cepas de lactobacilos capaces de producir biosurfactantes que le confieren acción probiótica contra uropatógenos (Velraeds *et al.*, 1996). *Lactobacillus acidophilus* RC-14 manifestó una variedad de proteínas con masas moleculares desde 14.4 a 140

kDa (Velraeds *et al.*, 1997). La actividad biosurfactante es resistente a tripsina y pepsina, sensible a α -amilasa y lisozima y resistente a 75°C. Se detectó un componente activo, el cual fue un colágeno unido a proteína (Heinemann *et al.*, 2000).

Estudios *in vitro* describieron la inhibición de ciertos grupos de bacterias y VIH por lactobacilos productores de H₂O₂, efecto que disminuye o se elimina por la adición de catalasa, poniendo en evidencia la acción del H₂O₂ (Klebanoff *et al.*, 1991). Un número de estudios clínicos con lactobacilos mostraron la prevención de recurrencias de Infecciones en el tracto urogenital (UTI). En pacientes con estos síntomas se realizó la inserción intravaginal y la implantación perineal de la cepa de lactobacilo GR1 semanalmente. Se obtuvo un período libre de infección de 4 semanas a 6 meses (Bruce & Reid, 1988). Otro estudio aplicado a 55 mujeres con las cepas *Lactobacillus* GR-1 y B-54, redujo la principal incidencia de UTI en un 79% (Reid *et al.*, 1995). Reid *et al.*, 1992 demostraron que la administración de lactobacilo como supositorio vaginal después del tratamiento con agentes antimicrobiales disminuyó la velocidad de recurrencia a 21% comparado con el 47% en el grupo control.

Se reporta que la administración oral de *L. rhamnosus* GR-1 y *L. fermentum* RC-14 diariamente mejoró la flora vaginal, lo cual disminuyó el conteo de levaduras y coliformes (Reid *et al.*, 2003). Durante la ingestión oral, estos microbios pasan mediante el intestino y ascienden desde el recto hasta la vagina donde colonizan (Reid *et al.*, 2001).

Se ha realizado en mujeres el estudio comparativo sobre profilaxis de vaginitis candidiasis y vaginosis bacteriana, ambas recurrentes, entre grupos que toman yogurt enriquecido con lactobacilos productores de H₂O₂ y yogurt pasteurizado. Después de una semana de estudio el 25% de mujeres en el grupo enriquecido tuvo un episodio de vaginosis bacteriana comparado con un 50% en el grupo con yogurt pasteurizado (p=0.04). Sin embargo, la reducción en el porcentaje de mujeres con cultivos positivos de candida en ambos grupos fue el mismo, lo cual indica que quizás cultivos de yogurt no viable también tengan un efecto anticandida (Shalev *et al.*, 1996).

Hilton *et al.*, 1992 administraron lactobacilos por un período largo y estudiaron la incidencia de la infección vaginal por candida. Un grupo de pacientes consumió lactobacilos productores de H₂O₂ y otro grupo no consumió yogurt por 6 meses y entonces ambos grupos se entrecruzan mutuamente. El número de infecciones vaginales por candida fue de 0.38 por paciente en el grupo de yogurt y 2.54 durante el período de ausencia de yogurt (p=0.001).

Por otra parte, Hillier *et al.*, 1992 encontraron que la incidencia de infección vaginal en mujeres embarazadas estuvo inversamente relacionada a la presencia intravaginal de lactobacilos productores de H₂O₂.

CONCLUSIONES

Existen evidencias científicas en el mundo que indican que la administración de lactobacilos representa una alternativa interesante a las largas terapias antibióticas actualmente prescritas en presencia de trastornos infecciosos repetidos. La presencia de lactobacilos en la vagina está asociada con un reducido riesgo de vaginosis bacteriana e infecciones del tracto urinario debido a la producción de ácido láctico y H₂O₂. La introducción de este probiótico en el mercado enmarca lograr favorecer la salud reproductiva de la mujer y disminuir patologías obstétricas y ginecológicas de importante impacto social y económico.

REFERENCIAS

- Atias A (1994) Parasitología clínica. 3 ed., España: *Publicaciones Técnicas Mediterráneo*, pp. 367-373.
- Balotescu MC & Petrache LM (2004) Adherence of lactobacilli to intestinal mucosa and their antagonistic activity against pathogens. *Roumanian Biotechnol. Lett.* 9: 1737-1749.
- Bruce AW & Reid G (1988) Intravaginal instillation of lactobacilli for prevention of recurrent urinary tract infections. *Can. J. Microbiol.* 34: 339-343.
- Burton JP & Reid G (2002) Evaluation of the bacterial vaginal flora of 20 postmenopausal women by direct (nugent score) and molecular (polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis) techniques. *J. Infect. Dis.* 186: 1770-1780.

- Carey JC, Klebanoff MA, Hauth J C, Hillier SL, Thom EA & Ernest JM (2000) Metronidazole to prevent preterm delivery in pregnant women with asymptomatic bacterial vaginosis. *New Eng. J. Med.* 342: 534-540.
- Cibley LJ (1991) Cytolytic vaginosis. *Am. J. Obst. Gynec.* 165: 1245-1249.
- Cullins VE, Dominguez L, Guberski T, Secor RM & Wysocki SJ (1999) Treating vaginitis. *Nurse Practitioner* 24: 46-60.
- Doderlein A (1892) Die scheidensekretuntersuchungen. *Zentralblatt Gynakologie* 18: 10-14.
- Ferris DG, Nyirjesy P, Sobel JD, Soper D, Pavletic A & Litaker MS (2002) Over-the counter antifungal drug misuse associated with patient-diagnosis of vulvovaginal candidiasis. *Obst. Gynecol.* 99: 419-425.
- González BE, Gómez M & Jiménez Z (2003) Bacteriocinas de prebióticos. *Rev. Salud Pú. Nutr.* <http://www.respyn.uanl.mx/iv/2/ensayos/bacteriocinas.htm>
- Hawes SE, Hillier SL, Benedetti J, Stevens CE, Koutsky LA & Wolner-Hanssen P (1996) Hydrogen peroxide-producing lactobacilli and acquisition of vaginal infections. *J. Infec. Dis.* 174: 1058-63.
- Heather SJ (2003) Prevention and treatment of vulvovaginal candidiasis using exogenous *Lactobacillus*. *JOGNN* 32: 287-296.
- Heinemann C, van Hylckama Vlieg JE, Janssen DB, Busscher HJ, van der Mei HC & Reid G (2000) Purification and characterization of a surface-binding protein from *Lactobacillus fermentum* RC-14 that inhibits adhesion of *Enterococcus faecalis* 1131. *FEMS Microbiol. Lett.* 190: 177-180.
- Hillier SL, Krohn MA, Klebanoff SJ & Eschenbach DA (1992) The relationship of hydrogen peroxide-producing lactobacilli to bacterial vaginosis and genital microflora in pregnant women. *Obstet. Gynecol.* 79: 369-373.
- Hilton E, Isenberg HD, Alperstein P, France K & Borenstein MT (1993) Ingestion of yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* as prophylaxis for candidal vaginitis. *Ann. Intern. Med.* 116: 353-357
- Juárez MS, Ocaña V, Wiese B & Nader ME (2003) Growth and lactic acid production by vaginal *Lactobacillus acidophilus* CRL 1259, and inhibition of uropathogenic *Escherichia coli*. *J. Med. Microbiol.* 52: 1117-1124.
- Klebanoff S & Coombs W (1991) Viricidal effect of *Lactobacillus acidophilus* on human immunodeficiency virus-type I: role in heterosexual transmission. *J. Exp. Med.* 174: 289-292.
- Larsen B (1993) Vaginal flora in health and disease. *Clin. Obst. Gynec.* 36: 107-121.
- Mardh PA (1991) The vaginal ecosystem. *Am. J. Obst. Gynec.* 165: 1163-1168.
- McGroarty J (1993) Probiotic use of lactobacilli in the human female urogenital tract. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 6: 251-264.
- Ocaña VS & Nader ME (2002) Vaginal lactobacilli: Self- and co-aggregating ability. *British J. Biomed. Sci.* 59: 183-190.
- Pérez H, Brizuela MA, Serrano P & Iglesias I (2000) Evaluación de propiedades fisiológicas de interés tecnológico en cepas de "*Lactobacillus*", Tesis de Diploma: Universidad de la Habana Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL), pp. 8-10.
- Rabe LK & Hillier SL (2003) Optimization of media for detection of hydrogen peroxide production by *Lactobacillus* species. *J. Clin. Microbiol.* 41: 3260-3264.
- Redondo V, Cook RL & Sobel JD (1990) Emerging role of lactobacilli in the control and maintenance of the vaginal bacterial microflora. *Rev. of Inf. Dis.* 12: 856-872.
- Reid G, Cook RL & Bruce AW (1987) Examination of strains of lactobacilli for properties which may influence bacterial interference in the urinary tract. *J. Urol.* 138: 330-335.
- Reid G, Bruce AW & Taylor M (1992) Influence of three-day antimicrobial therapy and *Lactobacillus* vaginal suppositories on recurrence of urinary tract infections. *Clin. Ther.* 14: 11-16.
- Reid G, Bruce AW & Taylor M (1995) Instillation of *Lactobacillus* and stimulation of indigenous organisms to prevent recurrence of urinary tract infections. *Microecol. Ther.* 23: 32-45.

- Reid G & Bruce A W (2001) Selection of *Lactobacillus* for urogenital probiotic applications. *J. Infect. Dis.* 183: 77-80.
- Reid G, Bruce AW, Fraser N, Heininamm C, Owen J & Henning B (2001) Oral probiotics can resolve urogenital infections. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 30: 49-52.
- Reid G, Charbonneau D, Erb J, Kochanowski B, Beurman D & Poehner R (2003) Oral use of *Lactobacilli* GR-1 and *L. fermentum* RC-14 significantly alters vaginal flora: randomized placebo controlled trial in 64 healthy women. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 35: 131-4.
- Rojas L, Sarria C, Sariego I, Goicolea A & Morales E (1998) Trichomonosis en pacientes con patología de cuello uterino. *Rev. Mex. Patol. Clin.* 45: 177-180.
- Shalev E, Battino S, Weiner E, Colodner R & Keness Y (1996) Ingestion of yogurt containing *Lactobacilli* acidophilus compared with pasteurized yogurt as prophylaxis for recurrent candidal vaginitis and bacterial vaginosis. *Arch. Fam. Med.* 5: 593-596.
- Strus M, Malinowska M & Heczko PB (2002) In vitro antagonistic effect of *Lactobacillus* on organisms associated with bacterial vaginosis. *J. Reprod. Med.* 47: 41-46.
- Suárez BS, Vasquez JE & Barbes C (1998) Adherence of human vaginal lactobacilli to vaginal epithelial cells and interaction with uropathogens", *Infec. Immun.* 66: 1985-1989.
- Velraeds MC, van der Mei HC, Reid G & Busscher HJ (1996) Inhibition of initial adhesion of uropathogenic *Enterococcus faecalis* by biosurfactants from *Lactobacillus* isolates. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 1958-1963.
- Velraeds MM, van der Mei HC, Reid G & Busscher H.J (1997) Inhibition of initial adhesion of uropathogenic *Enterococcus faecalis* to solid substrate by an adsorbed biosurfactant layer from *Lactobacillus acidophilus*. *Urology*, 49: 790-794.