

Uloga mikrobioma rodnice u spolno prenosivim infekcijama

The Role of Vaginal Microbiome in Sexually Transmitted Infections

Tomislav Meštrović

Poliklinika "Dr. Zora Profozić"

10000 Zagreb, Bosutka 19

Sažetak Mikrobiom rodnice složena je polimikrobna zajednica s brзом i učestalom fluktuacijom prisutnih bakterija. Na promjene u vaginalnom ekosustavu utječu dob, rasa, menstrualni ciklusi, hormonalne i mehaničke metode kontracepcije, anksioznost, pušenje, higijenske i spolne navike, kao i prateće infekcije. U održavanju stabilnosti tog mikrookoliša ključnu ulogu imaju laktobacili, čiji se broj u sindromu bakterijske vaginoze smanjuje te zamjenjuje velikim brojem različitih anaerobnih bakterijskih vrsta. Brojni epidemiološki dokazi povezuju stanje bakterijske vaginoze s olakšanim prijenosom spolno prenosivih infekcija, ali i drugim neželjenim ishodima (napose zdjelicom upalnom bolešću i prijevremenim porođajem). Informacije iz budućih longitudinalnih studija mogle bi uz pomoć molekularne dijagnostike dovesti do novih strategija sprječavanja spolno prenosivih infekcija temeljenih na protektivnim osobinama mikrobioma rodnice.

Ključne riječi: mikrobiom, vaginalna flora, bakterijska vaginoza, spolno prenosive infekcije

Summary Vaginal microbiome is a complex polymicrobial community characterized by rapid and frequent bacterial fluctuations. Changes in the vaginal ecosystem are influenced by age, race, menstrual cycles, hormonal and mechanical contraception, anxiety, smoking, hygiene, sexual habits and concomitant infections. The most important role in keeping this microenvironment stable belongs to lactobacilli, whose count is reduced in bacterial vaginosis syndrome and which are supplanted by a large number of diverse anaerobic bacterial species. A huge body of epidemiologic evidence links bacterial vaginosis with easier acquisition of sexually transmitted infections and other adverse outcomes (mainly pelvic inflammatory disease and preterm delivery). Information obtained from impending longitudinal molecular studies may create the foundation for novel strategies to prevent sexually transmitted infections based on the protective features of the vaginal microbiome.

Key words: microbiome, vaginal flora, bacterial vaginosis, sexually transmitted infections

Naše razumijevanje sastava mikrobniх zajednica u ljudi ima uporište ponajviše u istraživanjima temeljenim na kultivaciji različitih populacija mikroorganizama. Budući da većina bakterijskih vrsta nije pogodna za kultivaciju u laboratorijskim uvjetima, točno poznavanje odnosa između domaćina i mikroorganizama djelomično je ograničeno. Laboratorijska kultivacija bez sumnje je metoda od neprocjenjive važnosti za potpuni uvid u fiziologiju i fenotipska obilježja organizama; ipak, široko obuhvatne studije s pomoću kojih bi se procijenile interpersonalne i intrapersonalne varijacije u sastavu mikrobniх zajednica ili dali odgovori na složena epidemiološka pitanja zahtijevaju drugačiji pristup. Tu se ponajprije misli na metode kojima se relativno brzo mogu dobiti detaljne, kvalitetne i prethodno nepoznate informacije o mikrobnoj raznolikosti, a da su istodobno isplative.

Zbog toga je Američki nacionalni institut za zdravlje 2008. godine pokrenuo golemi projekt ljudskog mikrobioma (Hu-

man Microbiome Project – HMP), po uzoru na iznimno uspješni projekt ljudskoga genoma (1). Mikrobiom je pojam koji obuhvaća sve mikroorganizme, njihove genske elemente (genom) te međusobne interakcije u određenoj okolini. S obzirom na to da ljudsko tijelo sadržava 10 puta više mikroorganizama nego stanica, možemo govoriti o složenim i karakterističnim zajednicama prisutnim u različitim dijelovima tijela (primjerice, mikrobiom usne šupljine, mikrobiom crijeva, mikrobiom rodnice ili mikrobiom kože). U projektu ljudskog mikrobioma rabe se ponajprije metode za karakterizaciju koje ne zahtijevaju kultivaciju, kao što su metagenomika (za dobivanje širokog uvida u genetiku jedne mikrobne zajednice) i opsežno sekvencioniranje cijelog genoma (čime se otkrivaju detaljne informacije o pojedinim aspektima individualnih bakterijskih vrsta). Temeljni cilj projekta jest otkrivanje jesu li promjene unutar pojediniх mikrobioma povezane s pojavom određenih bolesti ili sindroma.

S napretkom tehnologije sekvencioniranja DNK naše znanje o mikrobiomu rodnice jako je napredovalo. Danas je poznato da vaginalna flora igra važnu ulogu u reproduktivnom zdravlju žene, a jedno od stanja koje može dovesti do različitih neželjenih posljedica jest bakterijska vaginoza. Ukratko, radi se o pojavi nepoznate etiologije gdje dolazi do poremećaja u ekosustavu rodnice zbog smanjenja broja korisnih laktobacila i povećanja količine različitih anaerobnih bakterija (2). S obzirom na to da se bakterijska vaginoza često povezuje s povećanim rizikom od zaraze uzročnicima spolno prenosivih bolesti (što se kasnije može manifestirati zdjelničnom upalnom bolešću i prijevremenim porođajem), nužno je procijeniti epidemiološke dokaze o ulozi mikrobioma rodnice u lancu prijenosa tih infekcija.

Mikrobne zajednice u rodnici

Jedan od glavnih ciljeva proučavanja ljudskog mikrobioma jest utvrditi postoji li neki temeljni raspored mikroorganizama jednak u tijelima svih ljudi. Hipoteza je da bi promjene u takvom "temeljnem mikrobiomu" mogle dovesti do poremećene funkcije organizma i razvoja bolesti. Ipak, molekularna istraživanja pokazala su da se skupine bakterija u rodnici zdravih žena međusobno jako razlikuju s obzirom na sastav vrsta (3), stoga se očekuje i različit odgovor u kontekstu bolesti urogenitalnog sustava te različitih vanjskih čimbenika kao što su spolna aktivnost ili higijena spolovila. *Ravel* i suradnici u nedavnoj su studiji na 396 asimptomatskih žena iz SAD-a (uz obuhvaćanje četiriju glavnih etničkih grupa) utvrdili pet glavnih skupina bakterijskih zajednica (4). Za razliku od bilo kojega drugog anatomskeg sijela, u većini zajednica rodnice dominira jedna ili više vrsta roda *Lactobacillus*. Tako je u I. skupini najzastupljenija bakterija bila *L. crispatus* te je takav odnos pronađen u 26,2% ispitanica. U II. skupini najzastupljenija vrsta bila je *L. gasseri* (6,3%), u III. skupini *L. iners* (34,1%), a u V. skupini *L. jensenii* (5,3% ispitanica). IV. skupinu čini velika heterogena zajednica bakterija prisutnih kod preostalih 27% žena, a karakterizirana je većim udjelom striktno anaerobnih bakterija, uključujući vrste rodova *Prevotella*, *Megasphaera*, *Atopobium*, *Fingoldia*, *Peptoniphilus*, *Eggerthella* i *Mobiluncus*. Važno je naglasiti da su se u svim navedenim skupinama mogli pronaći rodovi organizama za koje je poznato da proizvode mliječnu kiselinu, uključujući *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Megasphaera* i *Atopobium*. To upućuje na činjenicu da se važna katabolička funkcija, kao što je u konkretnom slučaju stvaranje mliječne kiseline, može zadržati u zajednicama prisutnim na određenim anatomskim sjelima unatoč razlikama u sastavu vrsta.

Laktobacili se već dugo smatraju dominantnom bakterijom rodnice s važnom protektivnom ulogom, stoga rezultati istraživanja *Ravela* i suradnika ne iznenađuju. Ipak, specifični mehanizmi kako oni točno ograničavaju rast stranih mikroorganizama te na koji način sudjeluju u očuvanju svoje mikrookoline još nisu poznati. Smatra se da laktobacili razgradnjom ugljikohidrata dovode do nakupljanja mliječne kiseline te posljedičnog snižavanja pH-vrijednosti rodnice na obrambenu razinu nižu od 4,5 (5). Svako jedinično

smanjenje pH-vrijednosti dovodi do porasta oksidacijsko-redukcijskog potencijala za 60 mV, pri čemu se dodatno inhibira rast anaerobnih bakterija. Oni također stvaraju i bakteriocine, proteine male molekularne težine koji mogu spriječiti rast velikog broja mikroorganizama, uključujući i bakteriju *Gardnerella vaginalis* (6). U aerobnim uvjetima neki laktobacili mogu stvarati vodikov peroksid, još jedan od inhibitora anaerobnih i drugih (posebice katalaza-negativnih) mikroorganizama.

Otkriće *Ravela* i suradnika da laktobacili nisu dominantna vrsta u 27% ispitanica važan je i zanimljiv nalaz budući da žene uključene u istraživanje prilikom ispitivanja nisu navele nikakve vaginalne tegobe (uključujući iscjedak i neugodan miris), unatoč tomu što je sastav njihove vaginalne flore nalikovao sastavu flore žena s klinički definiranom bakterijskom vaginozom. Ustanovljeno je da te žene imaju relativno veći udio bakterijskih vrsta roda *Atopobium* koje također produciraju mliječnu kiselinu. *Forney* je sa suradnicima već prije srušio dogmu da je rodnica zdravih žena nužno kolonizirana velikim brojem laktobacila (7). Zaključili su da bakterijske zajednice s malim brojem ili bez laktobacila imaju veći udio ostalih bakterija koje stvaraju mliječnu kiselinu, kao što su bakterijski rodovi *Atopobium*, *Leptotrichia* i *Megasphaera* te da na taj način održavaju kiseli milje rodnice.

Treba naglasiti da su ovakva istraživanja vaginalne flore komplicirana rapidnom fluktuacijom mikroorganizama prisutnih na tom području. U studijama temeljenim na molekularnoj dijagnostici, kultivaciji i mikroskopiji zabilježena je brza i učestala promjena sastava bakterijskih zajednica rodnice. Proučavanjem vaginalne flore trudnica opaženo je da *L. crispatus* održava stabilnost mikrookoliša, dok su *L. gasseri* i *L. iners* povezani s pojavom abnormalne flore na preparatima obojenim po *Gramu* (8). Na molekularnoj razini dokazano je da su laktobacili glavni kolonizatori žena bez bakterijske vaginoze, no njihov se broj drastično mijenja unutar perioda od jednog mjeseca; udio bakterije *G. vaginalis* također se značajno povećava tijekom mjesečnice (9). Prema istraživanjima baziranim na mikroskopiji i kultivaciji, čimbenici koji dokazano utječu na dinamiku vaginalnog ekosustava jesu fluktuacija hormona tijekom menstrualnog ciklusa, higijena spolovila, novi spolni partneri, seksualne navike, prehrana, pa i sam sastav bakterijske zajednice u rodnici (10-12).

S obzirom na to da bi takve brze fluktuacije (kao i povećanje njihove učestalosti i trajanja) mogle dovesti do epizoda povećanog rizika od zaraze spolnoprenosivim bolestima, potpunije razumijevanje dinamike vaginalnog ekosustava pružilo bi nam bolji uvid u to koji sve čimbenici igraju važnu ulogu u takvim složenim međudodnosima. S obzirom na mjesečne varijacije u sastavu bakterijskih zajednica rodnice, buduće longitudinalne studije na velikom broju žena trebale bi u svojem dizajnu svakako obratiti pozornost na što češće uzimanje uzoraka te prikupljanje detaljnih podataka o menstrualnom ciklusu i spolnom ponašanju.

Bakterijska vaginoza

Bakterijska vaginoza definira se kao stanje u kojem dolazi do narušavanja ravnoteže vaginalne flore. Dominacija različitih bakterijskih vrsta roda *Lactobacillus* u ekosustavu rodnice zamjenjuje se velikim brojem striktnih i fakultativnih anaerobnih bakterija, uključujući uzročnike kao što su *Gardnerella vaginalis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Mobiluncus* spp., *Prevotella* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Propionibacterium* spp. te brojne druge anaerobne koke i štapiće (2). Napretkom molekularne dijagnostike i analizom slijeda gena za 16S rRNA identificiran je velik broj vrsta koje se ne mogu kultivirati u laboratoriju. Tako je nedavnim molekularnim istraživanjima dokazano da su *Atopobium vaginae*, *Megasphaera*, *Eggerthella*-like bakterije te tri novoopisana člana reda *Clostridiales* visoko specifični za bakterijsku vaginozu (13). Navedene bakterije samo su dio raznolikog mikrobioma prisutnog kod žena s ovim stanjem, no još se ne može reći je li za njegovu pojavu odgovoran samo jedan uzročnik ili je nužno međudjelovanje složene bakterijske zajednice.

Stoga ne čudi što je etiopatogeneza bakterijske vaginoze još nerazjašnjena i predmet mnogih rasprava. Na promjene u vaginalnom ekosustavu mogu utjecati dob, menstrualni ciklusi, prateće infekcije, hormonalna kontracepcija, anksioznost i stres, nemogućnost eliminacije mikroorganizama povezanih s ovim stanjem, ponovna inokulacija uzročnicima iz egzogenog izvora (npr. tijekom spolnih aktivnosti), higijenske navike, neuspjeh laktobacila da rekoloniziraju ili održe vaginalno područje kiselim te prisutnost bakteriofaga koji napadaju laktobacile. Neki od dodatnih faktora rizika su pušenje, unutar maternični ulošci, crna rasa, rano stupanje u spolne odnose i velik broj različitih partnera (4).

Dijagnoza bakterijske vaginoze postavlja se na temelju kliničkih kriterija ili preparata obojenih po Gramu, što u principu zbog subjektivnosti tih metoda otežava istraživanje i samu kliničku praksu. Metoda mikroskopiranja direktnih preparata obojenih po Gramu rabi se već 25 godina te omogućuje procjenu morfologije i bojenja bakterija. Klasična metoda bodovanja po Nugentu otkriva koliko je u uzorku prisutno gram-pozitivnih štapića (laktobacili), gram-negativnih i gram-varijabilnih štapića i koka (*G. vaginalis*, *Peptostreptococcus*, *Porphyromonas*, *Prevotella*) i zakrivljenih gram-negativnih štapića (*Mobiluncus*) (14). Osim količine i vrste prisutnih bakterija tom se tehnikom može procijeniti broj polimorfonuklearnih stanica, gljivičnih spora i hifa te spermatozoida. Bodovanje se temelji na linearnoj skali od 0 do 10; 0-3 se smatra zdravim, 4-6 umjereno promijenjenim, dok vrijednost 7-10 upućuje na bakterijsku vaginozu. Slična je metoda po Hayu i Isonu koja je razvijena proučavanjem trudnica, a razlikuje tri stupnja: normalni (predominacija laktobacila), intermedijarni (miješana flora uz prisutnost laktobacila, ali i određenih morfotipova karakterističnih za *Mobiluncus* ili *Gardnerellu*) te pravu bakterijsku vaginozu (dominiraju *Gardnerella* i *Mobiluncus*) (15).

Inicijalni simptom bakterijske vaginoze najčešće je specifično promijenjen miris vaginalnog iscjetka, nerijetko

upravo nakon spolnog odnosa budući da alkalna sjemena tekućina potiče otpuštanje hlapljivih amina. Ipak, treba imati na umu da je čak 50 posto žena s visokim Nugentovim skorom potpuno asimptomatsko (16), ali zbog sastava mikrobioma rodnice i dalje pod povećanim rizikom od prijenosa infekcija i drugih neželjenih posljedica. Klinička procjena ovog stanja temelji se na prisutnosti barem triju od navedenih *Amselovih* kriterija (17):

1. Tanki, ali profuzni sivobijeli iscjedak
2. pH-vrijednost veća od 4,5
3. Karakterističan miris "po ribi" (posebice nakon dodatka 10% kalijeva hidroksida)
4. "Clue cells" ili stanice "ključne za dijagnozu" (vaginalne epitelne stanice s nepravilnim rubovima zbog velikog broja adherentnih bakterija)

U populaciji koja odlazi u klinike za spolno prenosive bolesti rasprostranjenost bakterijske vaginoze, prema *Amselovim* kriterijima, kreće se u rasponu od 24 do 30% (18-20). Prema skoru po Nugentu uočljivije su razlike između određenih zemalja – tako se u Ujedinjenom Kraljevstvu raspon kreće od 9 do 18%, u SAD-u doseže 29%, dok je u ruralnom dijelu Ugande zahvaćeno više od 50% ispitanica (6). Usporedba kliničkih kriterija i preparata obojenih po Gramu otkriva nam da su obje metode učinkovite u postavljanju dijagnoze bakterijske vaginoze. Ipak, *Amselovi* kriteriji uopće ne pružaju informacije o sastavu vaginalne flore, dok se pregledom preparata dobiva samo djelomičan (katkad i pogrešan) uvid budući da se radi o metodi baziranoj na morfologiji. Dakle, svakako postoji potreba za razvojem molekularne dijagnostike kako bi se mogle detektirati promjene u mikrobiomu rodnice koje bi mogle ugroziti reproduktivno zdravlje žene.

Vaginalna flora i spolno prenosive infekcije

Brojne longitudinalne studije upućuju na to da je bakterijska vaginoza povezana s povećanim rizikom od zaraze spolno prenosivim infekcijama. U najvećoj studiji Američkog nacionalnog instituta za zdravlje pronađeno je da su srednje i visoke vrijednosti Nugentova skora povezane s 1,5 do 2 puta većim rizikom od trihomonijaze, gonokokne i/ili klamidijske infekcije (21). Ograničenje ove studije jest podatak da je stanje vaginalne flore evaluirano tri mjeseca prije otkrivanja spolno prenosive infekcije. U rigoroznije dizajniranim studijama sastav vaginalne flore trebalo bi proučavati u dnevnim ili tjednim razmacima tijekom produljenog razdoblja te na dovoljnom broju žena, što je ograničeno velikom količinom sredstava potrebnih za tako ekstenzivno istraživanje. Ipak, omjer rizika u rasponu od 1,5 do 2 puta dobiven u ovoj studiji može se grubo proširiti na razinu čitave populacije te zaključiti da su žene s velikim brojem bodova na skali po Nugentu pod povećanim rizikom od zaraze.

Takvi rezultati podudaraju se s rezultatima drugih sličnih longitudinalnih istraživanja. U studiji na prostitutkama u

Keniji koje su praćene šest mjeseci visoka vrijednost Nugentova skora povezana je s češćom pojavom trihomonijaze, a odsutnost vaginalnih laktobacila u kulturi korelirala je s učestalijom zarazom gonokokom i HIV-om (22). Podaci iz studije na 670 žena u području Pittsburga upućuju na to da je visoki Nugentov skor povezan s dvostruko većim rizikom od serokonverzije za virus Herpes simplex tipa 2, a također se dovodi u vezu s razvojem zdjelične upalne bolesti (23). Nadalje, pokusi u uvjetima *in vitro* otkrivaju da parazit *Trichomonas* bolje raste kod povišene pH-vrijednosti, što je jedan od kriterija za kliničko definiranje bakterijske vaginoze (6).

Za razliku od navedenih opservacijskih studija, randomizirani klinički pokus daje mogućnost aktivnog upletanja i promjene vaginalnog mikrobioma te promatranja hoće li to utjecati na smanjenje infekcija. Tako su Schwabe i suradnici na uzorku od 107 žena s visokim Nugentovim skorom – ali bez pojave iscjетка ili neugodnog mirisa – odlučili ispitati učinak profilaktičnog uzimanja metronidazola (24). Nakon 12 mjeseci praćenja otkrili su da je skupina koja je tretirana metronidazolom imala značajno manju incidenciju infekcije bakterijom *Chlamydia trachomatis* u usporedbi s promatranom skupinom (dakle, bez antibiotske terapije). Premda se dosad nije preporučivalo tretiranje bakterijske vaginoze osim u iznimnim slučajevima, ovakva saznanja otvaraju mogućnost eventualnog propisivanja profilakse kako bi se smanjila mogućnost zaraze.

Bakterijska vaginoza definirana prema Amselovim kliničkim kriterijima također je povezana sa značajnom ekspresijom HIV-1 RNK u ženskome genitalnom traktu, u usporedbi s HIV-pozitivnim ženama bez bakterijske vaginoze, što upućuje na povećani rizik od prijenosa virusne infekcije (25). Postoje i dokazi da žene s reduciranim brojem laktobacila u preparatima po Gramu imaju 15,8 puta veći broj kopija HIV-1 RNK u endocerviksu nego žene s normalnom razinom ovih bakterija (26). U istraživanju gdje su lančanim reakcijom polimerazom (PCR) kvantificirane bakterije u cervikovaginalnom lavatu količina bakterijskih vrsta *G. vaginalis* i *M. hominis*, bodovanje po Nugentu i prisutnost neke druge infekcije donjega genitalnog trakta pokazali su značajnu povezanost s povišenom razinom HIV RNK u lavatu (27).

Nedavno objavljena velika metaanaliza potvrdila je povezanost između bakterijske vaginoze i infekcije HPV-om s ukupnim omjerom šansa od 1,43, za što je predloženo nekoliko hipoteza (28). U žena s bakterijskom vaginozom dolazi do smanjenja razine sekretornoga leukocitnog inhibitora proteaze (SLPI) koji u uvjetima *in vitro* može blokirati infekciju HIV-om i HPV-om. Ulogu bi mogli igrati i enzimi koji razgrađuju mucin (poput sijalidaza) preko uništavanja zaštitne sluznične barijere; na taj način dolazi do povećane susceptibilnosti za infekciju HPV-om te olakšane adhezije, invazije i posljedične ugradnje virusnih onkogenata

u genomu stanica prisutnih u transformacijskoj zoni. Moguće je i da bakterijska vaginoza djeluje kao kofaktor uključen u primoinfekciju i reaktivaciju infekcije HPV-om putem utjecaja na imunosnu ravnotežu unutar tkiva vrata maternice (ponajviše zbog promjena u produkciji citokina interleukina 1β i interleukina 10).

Longitudinalne molekularne studije još nam nisu dostupne, a postoji samo nekoliko istraživanja na molekularnoj razini koja istražuju utjecaj vaginalne flore na zarazu spolno prenosivim uzročnicima. Pirosekvencioniranjem slijeda gena 16S rRNK pokazano je da postoji sklonost prema većoj raznolikosti mikroorganizama u sekretima rodnice žena s bakterijskom vaginozom koje su HIV-pozitivne ako ih usporedimo s HIV-negativnim ispitanicama (29). Presečnom studijom na 396 asimptomatskih žena iz SAD-a ustanovljena je veća učestalost pozitiviteta na *T. vaginalis* među ženama kojima je genetičkom analizom utvrđena niska razina laktobacila (30). Već i sam početak proučavanja ove problematike na molekularnoj razini potvrđuje dokazanu korelaciju između mikrobioma rodnice i odgovora organizma na spolno prenosive infekcije.

U budućnosti se svakako treba okrenuti randomiziranim kliničkim pokusima jer ovako ostaje otvoreno pitanje jesu li bakterijska vaginoza i spolno prenosive infekcije povezane zbog međusobnog biološkog utjecaja ili zbog nespecifične pojave obaju entiteta kod seksualno aktivnijih žena. Pozitivna korelacija može se objasniti činjenicom da se rizično seksualno ponašanje i promiskuitet češće javljaju u žena s bakterijskom vaginozom nego u usporedivim skupinama.

Zaključak

Bez obzira na to definiramo li bakterijsku vaginozu kliničkim kriterijima, mikroskopijom ili molekularnim metodama (te unatoč eventualnoj odsutnosti simptoma), velik broj dokaza upućuje na to da je ovo stanje neovisni čimbenik rizika od brojnih neželjenih učinaka – prijevremenog porođaja i niske tjelesne težine novorođenčeta, razvoja zdjelične upalne bolesti te posebice olakšanog prijenosa spolno prenosivih bolesti (uključujući i HIV). Ipak, još nije potpuno jasno kojim se točno mehanizmima održava protektivna vaginalna flora, zbog čega dolazi do učestalih promjena u sastavu prisutnih mikroorganizama te na koji način one dovode do razvoja infekcije i drugih navedenih posljedica. Situaciju dodatno komplicira činjenica da žene s bakterijskom vaginozom samo neznatno češće prijavljuju simptome u usporedbi sa ženama koje imaju velik broj laktobacila. To znači da je bakterijska vaginoza relativno nespecifičan biomarker rizika od zaraze, stoga se očekuje da će nam Projekt ljudskog mikrobioma omogućiti neke nove biomarkere uz pomoć kojih ćemo lakše moći pratiti i utjecati na stanje mikrobioma rodnice.

Literatura

1. The NIH HMP working group, PETERSON J, GARGES S i sur. The NIH Human Microbiome Project, Genome Research 2009,19:2317-23.
2. HILLIER SL, HOLMES KK, MARRAZZO JM. Bacterial vaginosis. U: Holmes K i sur. Sexually Transmitted Diseases. New York, USA: McGraw-Hill, Health Professions Division 2008:737-68.
3. VERHELST R, VERSTRAELEN H, CLAEYS G i sur. 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 Microbiology 2004,4:16.
4. RAVEL J, GAJER P, ABDO Z i sur. Vaginal microbiome of reproductive-age women. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 2011,108:4680-7.
5. BOSKEY ER, TELSCH KM, WHALEY KJ, 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.
6. BROTMAN RM. Vaginal microbiome and sexually transmitted infections: an epidemiologic perspective. J Clin Invest 2011, 121:4610-7.
7. FORNEY LJ, FOSTER JA, LEDGER W. The vaginal flora of healthy women is not always dominated by lactobacillus species. J Infect Dis 2006,194:1468-9.
8. VERSTRAELEN H, VERHELST R, CLAEYS G, DE BACKER E, TEMMERMAN M, VANECHOUTTE M. Longitudinal analysis of the vaginal microflora in pregnancy suggests that *L. crispatus* promotes the stability of the normal vaginal microflora and that *L. gasseri* and/or *L. iners* are more conducive to the occurrence of abnormal vaginal microflora. BMC Microbiology 2009,9:116.
9. SRINIVASAN S, LIU C, MITCHELL CM i sur. Temporal variability of human vaginal bacteria and relationship with bacterial vaginosis. PLoS ONE 2010,5:e10197.
10. ESCHENBACH DA, THWIN SS, PATTON DL i sur. Influence of the normal menstrual cycle on vaginal tissue, discharge, and microflora. Clin Infect Dis 2000,30:901-7.
11. BROTMAN RM, KLEBANOFF MA, NANSEL TR i sur. A longitudinal study of vaginal douching and bacterial vaginosis - a marginal structural modeling analysis. American Journal of Epidemiology 2008,168:188-96.
12. NEGGERS YH, NANSEL TR, ANDREWS WW i sur. Dietary intake of selected nutrients affects bacterial vaginosis in women. Journal of Nutrition 2007,137:2128-33.
13. FREDRICKS DN, FIEDLER TL, MARRAZZO JM. Molecular identification of bacteria associated with bacterial vaginosis. NEJM 2005,353:1899-911.
14. NUGENT RP, KROHN MA, HILLIER SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. Journal of Clinical Microbiology 1991,29:297-301.
15. ISON CA, HAY PE. Validation of a simplified grading of Gram stained vaginal smears for use in genitourinary medicine clinics. Sexually Transmitted Infections 2002,78:413-5.
16. KLEBANOFF MA, SCHWEBKE JR, ZHANG J, NANSEL TR, YU KF, ANDREWS WW. Vulvovaginal symptoms in women with bacterial vaginosis. Obstetrics & Gynecology 2004,104:267-72.
17. 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.
18. BROTMAN RM, ERBELDING EJ, JAMSHIDI RM, KLEBANOFF MA, ZENILMAN JM, GHANEM KG. Findings associated with recurrence of bacterial vaginosis among adolescents attending sexually transmitted diseases clinics. J Ped Adoles Gyn 2007,20:225-31.
19. HALLEN A, PAHLSON C, FORSUM U. Bacterial vaginosis in women attending STD clinic: diagnostic criteria and prevalence of *Mobiluncus* spp. Genitourinary Medicine 1987,63:386-9.
20. JOHNSON HL, GHANEM KG, ZENILMAN JM, ERBELDING EJ. Sexually transmitted infections and adverse pregnancy outcomes among women attending inner city public sexually transmitted diseases clinics. Sexually Transmitted Diseases 2011,38:167-71.
21. BROTMAN RM, KLEBANOFF MA, NANSEL TR i sur. Bacterial vaginosis assessed by gram stain and diminished colonization resistance to incident gonococcal, chlamydial, and trichomonal genital infection. J Infect Dis 2010,202:1907-15.
22. MARTIN HL, RICHARDSON BA, NYANGE PM. Vaginal lactobacilli, microbial flora, and risk of human immunodeficiency virus type 1 and sexually transmitted disease acquisition. J Infect Dis 1999,180:1863-8.
23. CHERPES TL, MEYN LA, KROHN MA, LURIE JG, HILLIER SL. Association between acquisition of herpes simplex virus type 2 in women and bacterial vaginosis. Clin Infect Dis 2003,37:319-25.
24. SCHWEBKE JR, DESMOND R. A randomized trial of metronidazole in asymptomatic bacterial vaginosis to prevent the acquisition of sexually transmitted diseases. American Journal of Obstetrics & Gynecology 2007,196:517.
25. CU-UVIN S, HOGAN JW, CALIENDO AM i sur. Association between bacterial vaginosis and expression of human immunodeficiency virus type 1 RNA in the female genital tract. Clin Infect Dis 2001,33:894-6.
26. COLEMAN JS, HITTI J, BUKUSI EA i sur. Infectious correlates of HIV-1 shedding in the female upper and lower genital tracts. AIDS 2007,21:755-9.
27. SHA BE, ZARIFARD MR, WANG QJ i sur. Female genital-tract HIV load correlates inversely with *Lactobacillus* species but positively with bacterial vaginosis and *Mycoplasma hominis*. J Infect Dis 2005,191:25-32.
28. GILLET E, MEYS JF, VERSTRAELEN H i sur. Bacterial vaginosis is associated with uterine cervical human papillomavirus infection: a meta-analysis. BMC Infect Dis 2011,11:10.
29. SPEAR GT, SIKAROODI M, ZARIFARD MR, LANDAY AL, FRENCH AL, GILLEVET PM. Comparison of the diversity of the vaginal microbiota in HIV-infected and HIV-uninfected women with or without bacterial vaginosis. J Infect Dis 2008,198:1131-40.
30. BROTMAN RM, JONES LL, SAKAMOTO J i sur. Association between *Trichomonas vaginalis* and the vaginal microbiota among asymptomatic reproductive-age women in the United States: a cross-sectional study. Sexually Transmitted Infections 2011,87:A33-A34

Adresa za dopisivanje:

Tomislav Meštrović, dr. med.
 Poliklinika "Dr. Zora Profožić"
 10000 Zagreb, Bosutska 19
 e-mail: tomislav.mestrovic@gmail.com

Primljeno/Received:

15. 2. 2012.
 February 15, 2012

Prihvaćeno/Accepted:

24. 2. 2012.
 February 24, 2012