



Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Formación médica continuada: Infecciones de transmisión sexual

Vaginosis. Microbiota vaginal[☆]

Fernando Vazquez^{a,b,c,d,e,*}, Ana Fernández-Blázquez^a y Beatriz García^{b,c,d}

^a Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo, España

^b Departamento de Biología Funcional, Universidad de Oviedo, Oviedo, España

^c Fundación de Investigación Oftalmológica, Instituto Oftalmológico Fernández-Vega, Oviedo, España

^d Fundación para la Investigación y la Innovación Biosanitaria del Principado de Asturias (FINBA), Oviedo, España

^e Grupo GEITS de la SEIMC



INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 1 de noviembre de 2018

Aceptado el 18 de noviembre de 2018

On-line el 26 de diciembre de 2018

Palabras clave:

Vaginitis aerobia
Vaginosis bacteriana
Microbiota vaginal

R E S U M E N

Los últimos avances en el microbioma vaginal y el diagnóstico molecular de la vaginosis bacteriana han permitido un mayor conocimiento de esta entidad caracterizando aspectos de su patogenia y el establecimiento de la biocapa vaginal, los modelos y nuevas teorías de la etiología de la misma, cómo se transmite al considerarse hoy como una probable infección de transmisión sexual, la separación de otras entidades como la vaginitis aerobia, el diagnóstico molecular de la misma y el tratamiento y nuevas moléculas que eviten las recaídas frecuentes. Esta entidad y el estudio del microbioma vaginal han permitido considerar estas infecciones como un síndrome polimicrobiano acabando con el dogma: un microorganismo, una enfermedad. Además, se actualiza una entidad menos conocida como es la vaginitis aerobia y los métodos para su detección.

© 2018 Elsevier España, S.L.U.

y Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Todos los derechos reservados.

Vaginosis. Vaginal microbiota

A B S T R A C T

The latest advances in the vaginal microbiome and molecular diagnosis of bacterial vaginosis have allowed for a better knowledge of this entity, characterising aspects of its pathogenesis and the establishment of the vaginal biolayer, the models and new theories of its aetiology, how it is transmitted, with it being considered nowadays as a probable sexually transmitted infection, the separation of other entities such as aerobic vaginosis, its molecular diagnosis and treatment with new molecules to prevent frequent relapses. This entity and the study of the vaginal microbiome have made it possible to consider these infections as a polymicrobial syndrome, putting an end to the dogma: one microorganism, one disease. In addition, a lesser-known entity such as aerobic vaginosis and the methods for its detection are updated.

© 2018 Elsevier España, S.L.U. and Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. All rights reserved.

Keywords:

Aerobic vaginitis
Bacterial vaginosis
Vaginal microbiota

Introducción

La vagina humana es un ecosistema balanceado y dinámico, con una población compleja de bacterias aerobias y anaerobias que alcanzan hasta 10^9 ufc/ml de líquido vaginal¹⁻³. Clásicamente

la presencia de *Lactobacillus* spp. se considera que tiene un efecto protector en este ecosistema por 3 mecanismos complementarios: a) exclusión mediante la formación de una biocapa que cubre los receptores de la célula epitelial y bloquea la unión de microorganismos patógenos; b) inhibición del crecimiento por generación de distintos compuestos antimicrobianos: b1) ácido láctico del catabolismo fermentativo de azúcares, especialmente de glucosa, que excreta glucógeno e hidrólisis que hace que el pH de la vagina sea de 3,5-4,5, b2) producción de peróxido de hidrógeno (H_2O_2), fundamentalmente de *Lactobacillus crispatus* y *Lactobacillus jensenii*, b3) bacteriocinas cuyo efecto solo se ha

[☆] Sección acreditada por el Consell Català de Formació Continuada de les Professions Sanitàries. Consultar preguntas de cada artículo en: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-formacion>

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: opsklins@gmail.com (F. Vazquez).

demostrado *in vitro*; y c) coagregación con patógenos. Estos efectos incrementan la función de barrera en las células epiteliales y estimulan la inmunidad innata.

La aparición de molestias genitales (exudado, prurito, dispareunia y mal olor) es común en las mujeres y son de etiología variada: vulvodinia, dermatitis de contacto, vaginitis atrófica o liquen escleroso. Dentro de las infecciones están las producidas por levaduras, tricomonas y la vaginosis bacteriana (VB), que representan el 19% de los diagnósticos en estas mujeres⁴. Estas infecciones producen una disbiosis en la que interviene también otra entidad clínica reconocida más recientemente: la vaginitis aerobia (VA), que se puede confundir a veces con la VB⁵.

El enfoque de esta revisión es actualizar aspectos de la entidad clínica conocida como VB, y se incluyen las características que permiten el diagnóstico y tratamiento de la VA en relación con el papel de la microbiota vaginal.

Vaginitis aerobia

Definición

El nombre de esta entidad fue dado en el año 2002 y se puede definir como una alteración de la microbiota (menos *Lactobacillus* y mayores cantidades de bacterias aerobias entéricas) con niveles variables de inflamación, deficiencia de maduración epitelial, y de respuesta inmune con elevación local de IL-1, IL-6 e IL-8. En mujeres embarazadas se asocia a riesgo de parto prematuro, corioamnionitis y funisitis del feto, o también en general a displasia cervical^{5,6}. Es importante diferenciar la VA de la VB (tabla 1), aunque a veces no es fácil. La mayoría de clínicos están de acuerdo con la puntuación de Nugent de 7 o más para VB y de 3 o menos para microbiota normal, pero no está claro el significado de la microbiota intermedia con puntuación de 4-6⁵. En este grupo intermedio, la VA puede explicar aspectos no claros de la VB: a) el concepto mismo de esta microbiota intermedia; b) la variabilidad de los síntomas con la puntuación de Nugent; c) la llamada VB inflamatoria, y d) el fallo de tratamiento con metronidazol para prevenir parto prematuro en muchas mujeres con VB⁵. Por lo tanto, este grupo intermedio se cree que puede ser un grupo mixto que puede incluir mujeres con VA asociadas a VB.

Prevalencia

No hay datos muy fiables por la escasez de trabajos realizados, pero se calcula en entre un 5-10% en mujeres no embarazadas y un 4-8% en embarazadas⁷, aunque puede variar entre el 7 y 26%⁶. Los factores de riesgo son similares a los de la VB.

Clínica

Se produce un exudado purulento amarillo-verdoso con inflamación y alteración epitelial. Los signos son una vagina enrojecida, inflamatoria, con flujo maloliente, quemazón con sangrado equimótico, erosiones y dispareunia. La sintomatología puede prolongarse hasta 12 meses o más y a veces es indistinguible de la vaginitis inflamatoria descamativa⁵.

Diagnóstico

El método más preciso y preferido es el examen en fresco con microscopio de contraste de fases ($\times 400$) (tabla 2)⁶, aplicando una puntuación como en los criterios de Nugent: de 0 a 2 significa ausencia de VA; entre 3 y 4, ligera VA; entre 5 y 6, moderada VA; y de 7 a 10, severa. Algunos estudios consideran patológica una puntuación de entre 5 y 10 puntos.

Tabla 1
Características diferenciales entre vaginitis aerobia y vaginosis bacteriana

Característica	Vaginitis aerobia	Vaginosis bacteriana
Microorganismos implicados	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Enterococcus</i> (están incrementados en 3-5 veces). No se sabe si son causa o asociación debido a que alteran el estado inmunitario que influyen la microbiota	GV y anaerobios (ver en VB)
<i>Lactobacillus</i>	Disminuidos o ausentes	Disminuidos o ausentes
Producción de pH alto	Aumentado (más que en VB)	Aumentado
Lactato	Disminuido	Disminuido
Succinato	Normal	Aumentado
Prevalencia	No clara: 5-10% y 4-8% en embarazadas (entre el 7-26%)	Clara: 12% a >50% (7-77%)
Características clínicas		
Inflamación	Sí; vagina roja, edematosa con pequeñas erosiones o ulceraciones	No
Exudado	Aumentado con olor maloliente Color: amarillento-verdoso, espeso y mucoso	Aumentado con olor a pescado Color: blancuzco o gris y delgado y homogéneo
Dispareunia	Sí	No
Asociado a otros cuadros clínicos	VB, candidiasis, otras ITS (VPH, VIH, CT)	A VA y el resto lo mismo que VA
Diagnóstico	Examen en fresco con contraste de fases ($\times 400$) (ver en tabla 2)	Criterios de Amsel, C. de Nugent y C. de Hay-Ison (ver en tabla 4)
Tratamiento	Recomendaciones no claras	Recomendaciones claras (ver en tabla 7)

Este método no está muy extendido y se suelen emplear métodos alternativos, como PCR cuantitativa (se desconoce su sensibilidad [S] y su especificidad [E]), cultivos para detectar *Streptococcus pyogenes* y/o *Trichomonas vaginalis* (TV) o el análisis histológico. La observación de la microbiota cocoide al microscopio es una técnica rápida, pero solo recoge un subgrupo de pacientes con VA⁶.

También existe otra prueba para la medición de 5 indicadores enzimáticos⁶: a) actividad de peroxidasa de hidrógeno (indicador de *Lactobacillus* productores de H₂O₂); b) actividad de la leucocito estearasa (indica inflamación); c) actividad de la sialidasa (por alta producción en VA por *Streptococcus agalactiae* y en VB por *Atopobium vaginae* [AV], *Gardnerella vaginalis* [GV] y *Prevotella bivia*); d) actividad de la betaglucuronidasa (específica de *Escherichia coli*), y e) actividad de la coagulasa (de *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*); mediante estos 5 indicadores se consigue una S del 90%, pero su E no se ha estudiado.

Otros métodos menos comunes son: medir el contenido de estrógeno en sangre (en vagina un estrógeno bajo sugiere la presencia de células epiteliales inmaduras o parabasales, pero no es relevante al medirse en suero); la prueba de pH, por autotoma, para cribado (S del 90% pero baja E porque aumenta también el pH en TV, VB, levaduras, por esperma o por sangre menstrual) y la secuenciación NGS.

Tabla 2
Diagnóstico de la vaginitis aerobia mediante examen en fresco con microscopio de contraste de fases ($\times 400$)

Puntuación	Microbiota/ <i>Lactobacillus</i>	Microbiota de fondo	N.º de leucocitos	Proporción de leucocitos tóxicos	Proporción de células parabasales
0	I (microbiota normal con predominancia de <i>Lactobacillus</i> y pocos o ausencia de cocos) IIa (ligera mezcla de <i>Lactobacillus</i> con otros microorganismos)	No característica o citólisis	≤ 10	Ninguno o esporádico	Ninguna o $< 1\%$
1	IIb (moderada alteración de la microbiota)	Bacilos coliformes pequeños	> 10 ($y \leq 10$ células epiteliales)	$\leq 50\%$	$\leq 10\%$
2	III (no <i>Lactobacillus</i> y numerosas bacterias)	Cocos o cadenas	> 10	$> 50\%$	$> 10\%$

Células epiteliales parabasales: células epiteliales inmaduras, redondeadas, pequeñas, con una proporción alta de núcleo a citoplasma.
Leucocitos tóxicos: leucocitos con abundantes gránulos de secreción.

Tratamiento

No está claro y no hay datos concluyentes con el uso de los antibióticos. Se pueden usar: a) antisépticos como el cloruro de decualinio o nifuratel 500 mg intravaginal 10 días; y b) antibióticos como clindamicina, kanamicina en óvulos de 100 mg 6 días, rifaximina vaginal 6 días o moxifloxacino oral 400 mg durante 6 días en una dosis. El metronidazol no es adecuado al no cubrir los microorganismos implicados en VA. Las guías de tratamiento aconsejan: cuando hay atrofia, pautar estradiol con o sin probióticos; si hay inflamación, pautar corticoides locales; y cuando hay infección clara (grado IIb o III [tabla 2] y/o crecimiento abundante de *E. coli*, *S. pyogenes*, *S. agalactiae* o estafilococos en cultivo) incluir antibióticos. Durante el embarazo parece mejor usar clindamicina, que es activo para VA y VB además de reducir el parto prematuro, pero de nuevo esta pauta es controvertida⁶.

Vaginosis bacteriana

Introducción

Hasta la aparición de las técnicas moleculares, el concepto de «un microorganismo, una enfermedad» fue un dogma, así como que los microorganismos estaban en forma planctónica y como una sola especie, cuando en realidad son comunidades complejas polimicrobianas formando biofilm o bicapas⁸. Desde 1892, año en que Albert Döderlein descubrió los bacilos que llevan su nombre o *Lactobacillus*, estos son considerados microbiota vaginal normal¹. Este microbioma normal consiste en bacterias aerobias y anaerobias, con *Lactobacillus* representando $> 95\%$ de todos ellos. Así, mantienen un pH ácido asegurando que el H_2O_2 esté presente en el ambiente⁹.

El término vaginosis aparece en la literatura en 1964, pero hasta 1981 no se emplea el término VB, que actualmente se cuestiona por el de vaginosis polimicrobiana. En la tabla 3 se exponen los hitos históricos de la VB^{10,11}.

Definición

Desde hace tiempo se considera a la VB un síndrome con distintas etiologías. Con métodos actuales como la hibridación *in situ* por fluorescencia (FISH) se ha comprobado las características de estas biocapas en el caso de la VB¹². La VB representa una disbiosis

Tabla 3
Hitos históricos de la vaginosis bacteriana

Año	Hito
Años 50	Descripción de <i>Gardnerella vaginalis</i>
1955	Descubrimiento como agente causal de vaginosis no específica
1964	Introducción del término vaginosis
1981	Introducción del término vaginosis bacteriana
2016	Se sugiere el término vaginosis polimicrobiana

de la microbiota vaginal¹³, y en este síndrome polimicrobiano disminuye la concentración de *Lactobacillus* y aumenta la de bacterias patógenas⁹. A pesar de que no hay un solo microorganismo cuya presencia confirme potencialmente el diagnóstico, GV y AV son fuertes indicadores de VB¹⁴.

Aunque es aceptado que la VB está producida por un conglomerado de microorganismos, se debate acerca del desencadenante o *trigger* que iniciaría las alteraciones: si el microorganismo fundador de esta microbiota alterada es GV, si se trata de un consorcio de microorganismos, o si es debido a otros factores como el uso de la ducha vaginal.

Prevalencia

Afecta al 12% de mujeres en Australia, 29% en los EE.UU. y $> 50\%$ en mujeres de la zona subsahariana¹⁵, aunque hay una gran variación entre el 7-70% de las mujeres^{16,17}.

Epidemiología

VB es la disbiosis vaginal más común en mujeres en edad reproductiva¹ y la causa más común de vaginitis con exudado vaginal abundante y olor en embarazadas y no embarazadas⁹. Por otro lado, es más común en mujeres que tienen sexo con mujeres (MSM) o mixto que en mujeres que tienen sexo con hombres (MSH). El mecanismo podría ser por compartir objetos sexuales, pero no se sabe si el líquido vaginal compartido entre mujeres es más eficiente que la penetración masculina. Además, la transmisión de anaerobios es menos eficiente, por lo que iría a favor de la hipótesis de transmisión primaria de GV¹⁸.

Se debate si se puede definir como una verdadera infección de transmisión sexual (ITS). Ya se planteó históricamente en los años 50 cuando Gardner y Dukes vieron la transmisión de mujeres infectadas a no infectadas, pero se abandonó esta teoría ya que: a) no había la contrapartida en hombres; b) el tratamiento de los hombres no disminuía la VB en las parejas (aunque estos estudios fueron de baja calidad metodológica), y c) la presencia de varios patógenos iba en contra de esta posibilidad.

Actualmente se ha retomado la teoría a favor de una ITS por varios aspectos destacables y de mucho peso¹⁵:

- Hay muchos estudios transversales y longitudinales ligados a la actividad sexual.
- Se asocia a bajo uso del preservativo.
- Las mujeres con VB tienen un número de parejas sexuales mayor que las mujeres sin VB.
- Aparece más tempranamente en las mujeres activas sexualmente.
- Hay un reservorio en el hombre, que alberga los microorganismos implicados en el surco subprepuccial y uretra distal.
- Solo el tabaco (y no las duchas vaginales, factores dietéticos y estrés) se ha asociado consistentemente.

- g) Se ha asociado a transmisión sexual entre mujeres, a una pareja femenina con síntomas o historia de VB, y al sexo oral receptivo.
- h) Hay concordancia de biotipos y oligotipos entre hombres y mujeres que son pareja.
- i) La circuncisión disminuye la probabilidad en las mujeres que son pareja de estos hombres.
- j) La uretritis no gonocócica (UNG) es más frecuente en hombres parejas de mujeres con VB, pero solo se ha encontrado *Sneathia*, bacterias asociadas a VB (BVAB) como BVAB2 y BVAB3 de forma no estadísticamente significativa.
- k) Se asocia a balanopostitis por GV en los hombres.

Diagnóstico

El concepto de VB viene condicionado por el método diagnóstico que se realice:

- a) Clínico, usando los criterios de Amsel¹⁷.
- b) De investigación, usando los criterios de Nugent¹⁶ o su modificación de los criterios de Hay-Ison¹⁹.

En estudios clínicos se han utilizado los criterios de Amsel, mientras que en estudios de investigación se han empleado los criterios de Nugent basados en la tinción de Gram (tabla 4): 0-3 normal, 4-6 intermedios con morfotipos de GV/*Bacteroides* y de 7-10 con numerosos GV/*Bacteroides* y aparición de bacilos curvados anaerobios (*Mobiluncus* y posiblemente BVAB1) en 9-10.

Los criterios de Amsel generan problemas de sobrediagnóstico, ya que habría muchas mujeres asintomáticas diagnosticadas de VB. En un estudio en el cual un 29% de mujeres presentaban VB

según los criterios de Amsel, solo el 15,7% eran sintomáticas²⁰. Sin embargo, este grupo de mujeres presentaron más complicaciones asociadas con VB, independientemente de si tenían o no sintomatología.

Los criterios de Nugent tienen alta precisión y fiabilidad diagnósticas, con alta reproducibilidad tanto inter- e intracentro como interobservador. Sin embargo, la identificación de microorganismos en las células pista o clave en la tinción de Gram no siempre es precisa. Se ha demostrado mediante PCR cuantitativa y FISH que los bacilos gramnegativos curvos que se creía que representaban *Mobiluncus* spp., es más probable que sean (en un factor de 100 a 1) BVAB1²¹. Además, no se ha observado una correlación entre una mayor puntuación según los criterios de Nugent y la presencia de más síntomas en mujeres, aunque hay pocos estudios realizados al respecto¹⁸.

Debido a esto, el grupo de trabajo del *National Institute of Healthcare* (NIH) recomienda para la definición de VB emplear una combinación de los criterios de Nugent con al menos una puntuación de 7 y un criterio de Amsel positivo, independientemente de los síntomas²².

c) Otra alternativa es la visualización con FISH de la biocapa en células descamativas en el sedimento urinario con precisión diagnóstica del 0,94, una S del 83%, una E del 97%, un valor predictivo positivo del 83% y un valor predictivo negativo del 97%²¹. Este método resulta adecuado para estudios clínicos y epidemiológicos, ya que la muestra es fácil de obtener.

d) No se recomienda el cultivo de GV ni el empleo de sondas específicas para GV actualmente. La tinción de Gram ha demostrado mayor E que el cultivo en ensayos recientes basados en el estudio de microbioma. El cultivo de GV no sugiere ni prueba VB o la necesidad de su tratamiento, ya que el 50% de mujeres asintomáticas presentan un cultivo positivo. La FDA recientemente ha aprobado el Max Vaginal panel (Becton-Dickinson, New Jersey, EE. UU.) para el estudio del microbioma, el cual permite realizar de 2 a 24 pruebas simultáneamente. Permite la detección de *L. crispatus*, *L. jensenii*, GV, AV, BVAB2, *Megasphaera* 1, *Candida* grupo (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. dubliniensis*, *C. glabrata* y *C. krusei*) y TV²³.

Tabla 4
Criterios de Amsel, criterios de Nugent y criterios de Hay-Ison

Criterios de Amsel (clínicos) ^a	Características (%)
Flujo vaginal	Filante, homogéneo, blanco, adherido a las paredes y uniforme
pH vaginal	> 4,5 (90%)
KOH al 10%	Olor a pescado
Células clave o pista (×40)	> 20% (> 90%)
Criterios de Nugent (tinción de Gram) ^b	Recuento por campo inmersión (valor)
Bacilos grampositivos tipo <i>Lactobacillus</i>	> 30 (0) 5-30 (1) 1-4 (2) < 1 (3) 0 (4)
Bacilos gramnegativos tipo GV y <i>Bacteroides</i>	> 30 (4) 5-30 (3) 1-4 (2) < 1 (1) 0 (0)
Bacilos gram variables curvos	> 5 (2) < 1-4 (1) 0 (0)
Criterios de Hay-Ison (tinción de Gram)	Grado
Predominio de bacilos grampositivos tipo <i>Lactobacillus</i>	1. Normal
Microbiota mixta de algún <i>Lactobacillus</i> y bacilos gramnegativos tipo GV y <i>Mobiluncus</i>	2. Intermedio
Predominio de GV y/o <i>Mobiluncus</i> con pocos/ningún <i>Lactobacillus</i>	3. VB

National Institute of Healthcare (NIH): Diagnóstico de VB con los criterios de Nugent (al menos una puntuación de 7) y un criterio de Amsel positivo, independientemente de los síntomas.

La presencia de leucocitos polimorfonucleares sugiere la coexistencia de otro proceso como cervicitis.

^a Interpretación: al menos 3 de los síntomas o signos.

^b Interpretación: 0-3, vagina normal; 4-6, patrón intermedio; 7-10, VB.

Microorganismos en la vaginosis bacteriana

El concepto de VB como síndrome fue establecido hace muchos años, pero por técnicas de FISH se han visto biocapas donde GV es el microorganismo predominante, seguido por AV y en menor frecuencia por *Bacteroides*, *Veillonella*, *Ruminococcus* y el género *Streptococcus*¹².

Aunque clásicamente se ha asociado a la presencia de GV, la VB hoy se asocia a un conglomerado de bacterias, como se expone en la tabla 5¹. Mediante métodos moleculares en la microbiota de vagina, vulva/labios, cérvix y útero se han detectado más de 250 especies bacterianas, levaduras, *Chlamydia*, *Archaea*, virus y protozoos²⁴. En un estudio, se observaron hasta 6 clusters o tipos de estados comunitarios de la microbiota vaginal empleando la secuenciación genómica por Illumina (NGS): 2 asociados a una microbiota vaginal normal (una dominada por *Lactobacillus iners* y otra por *L. crispatus*) y 4 asociados a VB (dominados por *P. bivia*, GV, *Lachnospiraceae* o una mezcla de especies diferentes)²⁴. Del mismo modo, otros autores han descrito un cluster con presencia de *Lactobacillus* asociado con microbiota normal, y otros 3 grupos con disbiosis con el orden *Lachnospiraceae* y géneros *Sneathia* y *Prevotella* como microorganismos dominantes²⁵. Finalmente, se han realizado estudios en embarazadas y no embarazadas VIH negativas, describiéndose 5 grupos: 1) *L. crispatus*; 2) *Lactobacillus gasseri*; 3) *L. iners*; 4) *Pep-toniphilus*, *Prevotella* y *Anaerococcus* spp., y elevada cantidad de GV o *Ureplasma*; y 5) *L. jensenii*. Mediante transcriptómica se ha visto que *L. iners* se adapta a ambientes de VB muy diferentes^{24,26}.

Tabla 5
Microorganismos asociados y/o encontrados en la vaginosis bacteriana

Microorganismo	Característica y especies	Comentario
<i>Gardnerella vaginalis</i>	Bacilo grampositivo pequeño pleomórfico, en tinción de Gram se ve como bacilo gramnegativo o gram variable Anaerobio facultativo	Tolera pH 4-5 Tiene factores de virulencia Cultivable
<i>Atopobium vaginae</i>	No motil Coco grampositivo pequeño en pares o cadenas cortas Anaerobio facultativo Inmóvil	Es el mejor marcador de VB (> 80% de casos) 2,6 veces mejor que los criterios de Amsel 19 veces mejor que los criterios de Nugent Raro que aparezca sin GV Puede ser microbiota normal Puede ser responsable de resistencia a metronidazol y explica porque reaparece en recurrencias
Bacterias asociadas a VB (BVAB) Relacionadas con el phylum <i>Clostridium</i>	Mediante FISH se han visto 3 especies: -BVAB1: bacterias curvas, delgadas -BVAB2: bacilos rectos -BVAB3 (<i>Mageeibacillus indolicus</i>): bacilos rectos, anchos y largos	En células clave BVAB1 predomina más que <i>Mobiluncus</i> spp. (suele ser el que se ve en la tinción de Gram) Da el mal olor a pescado por poliaminas (putresceína, cadaverina y trimetilamina) BVAB3 el único caracterizado y cultivado El papel de estas bacterias en la etiología de la VB no está bien estudiado
Otros <i>Actinomyces</i> , <i>Eggerthella</i> , <i>Mobiluncus</i> , <i>Prevotella</i>	Producen ácidos grasos no volátiles (AGNV) Y ácidos grasos volátiles (AGV)	Ácido succínico produce fermentación del ácido. <i>Mobiluncus</i> , ácido málico que da irritación de membranas y mucosas vaginales Ácido fórmico y ácidos acéticos Ácidos propiónicos
<i>Megasphaera</i> , <i>Propionibacterium</i> <i>Mobiluncus</i> , <i>Prevotella</i>	<i>Prevotella</i> (<i>P. amnii</i> , <i>P. bivia</i> , <i>P. buccalis</i> , <i>P. corporis</i> , <i>P. disiens</i>)	Ácidos isobutílico, valérico e isovalérico
<i>Anaerococcus</i> spp., <i>Bacteroides</i> spp. (<i>B. levii</i> , <i>B. ureolyticus</i>), <i>Dialister</i> spp., <i>Fingoldia</i> spp., <i>Fusobacterium nucleate</i> , <i>Leptotrichia</i> spp., <i>Peptococcus</i> , <i>Peptostreptococcus</i> , <i>Sneathia</i> spp., <i>Streptococcus</i> grupo viridians <i>Mycoplasma hominis</i> <i>Ureaplasma urealyticum</i>	<i>Peptostreptococcus</i> (<i>P. anaerobius</i> , <i>P. prevotii</i> , <i>P. tetradius</i>) <i>Streptococcus</i> grupo viridians (<i>S. acidominimus</i> , <i>S. constellatus</i> , <i>S. morbillorum</i> , <i>S. mutans</i> , <i>S. sanguis II</i>)	

Existe gran variabilidad entre estos estudios respecto al muestreo, el almacenaje de muestras, el procesamiento de las mismas, el kit de extracción del ADN, las variaciones técnicas en la amplificación por PCR y el uso de diferentes *primers*, así como respecto a los métodos estadísticos empleados. Además, no se tuvieron en cuenta los cambios debidos a la menstruación, actividad sexual, espermicidas, duchas y antibióticos.

En resumen, los estudios moleculares han demostrado, al igual que lo hicieran previamente los estudios clásicos mediante el cultivo, que hay en la vagina sana una alta presencia de *Lactobacillus* y que no es posible asociarla a una sola composición de microbiota²⁴. Así, se pueden definir distintos *cluster* de microbiota vaginal, cada uno correlacionado con el predominio de uno o más microorganismos⁹. Si se comparan los criterios de Nugent con el microbioma vaginal definido molecularmente, se observa una buena aunque no una total correlación²⁷.

Las sustancias que liberan todo este conglomerado de bacterias que constituyen las biocapas y que pueden estar implicadas en la VB son variadas:

- Inmunomoduladores como las hemolisinas, ácidos grasos volátiles (AGV) y ácidos grasos no volátiles (AGNV), proteasas y sialidasas. Las sialidasas inhiben la IgA sérica, aumentando el riesgo de parto prematuro por citoxinas, y además aumentan las IL-1b, IL-8 y TNF-alfa, que junto con la prolidasa confieren una mayor susceptibilidad a las infecciones por VIH y virus del herpes simple tipo 2 (VHS2).
- Sustancias proinflamatorias, como el LPS, que actúa sobre citocinas, IL-1b, IL-6 y TNF-alfa, favoreciendo el parto prematuro.

En la [figura 1](#) se exponen algunos de los mecanismos de la producción de VB.

Por análisis de proteómica, se ha detectado una alteración del contenido de proteínas del líquido cervicovaginal en la VB: elastasa de neutrófilos, kaliocina-1, defensina-1 de neutrófilos, regiones C de la cadena lambda 2 de Ig y proteína S100-A7. Esto parece indicar que la alteración de la microbiota es capaz de interferir en los mecanismos de la respuesta inmune²⁸.

Respecto al papel de GV, se ha observado una heterogeneidad fenotípica y genotípica, además de una variabilidad en el potencial de virulencia. Se han descrito 4 *clades* para GV que se han intentado correlacionar con los *clusters* de microbiota vaginal. La hipótesis es que en la vagina hay una colonización por distintos *clades* de GV que expresan diferentes determinantes de virulencia²⁷. El papel de algunos factores de virulencia como la hemolisina o vaginolisisina (que es una citolisina dependiente de colesterol), sialidasa o prolidasa no está claro. Por otro lado, la *clade* A de GV es lipasa positiva y la *clade* B es sialidasa positiva, lo que podría indicar que diferentes *clades* están implicados o bien en la resolución de la VB restableciendo los *Lactobacillus*, o, por el contrario, en la transición a infección por levaduras o VA¹.

GV aparece en la vagina de dos formas: una en forma dispersa (10^{6-8} células por gramo en el líquido vaginal) y otra en la forma infectiva o transmisible en forma cohesiva de una biocapa (10^{10-11} células por gramo)²⁹. Este patrón se ve en hombres también y en semen. No está claro si se trata de cepas diferentes de GV, aunque todas aquellas que forman parte de las biocapas presentan genes de síntesis de exopolisacárido¹⁴.

Tampoco existen datos concretos de los receptores celulares de superficie para GV, aunque diversos estudios demuestran diferencias significativas en la capacidad de unión y citotoxicidad entre las cepas patógenas y no patógenas de este microorganismo^{30,31}. Diversos ecotipos de GV son capaces de alterar la adhesión de

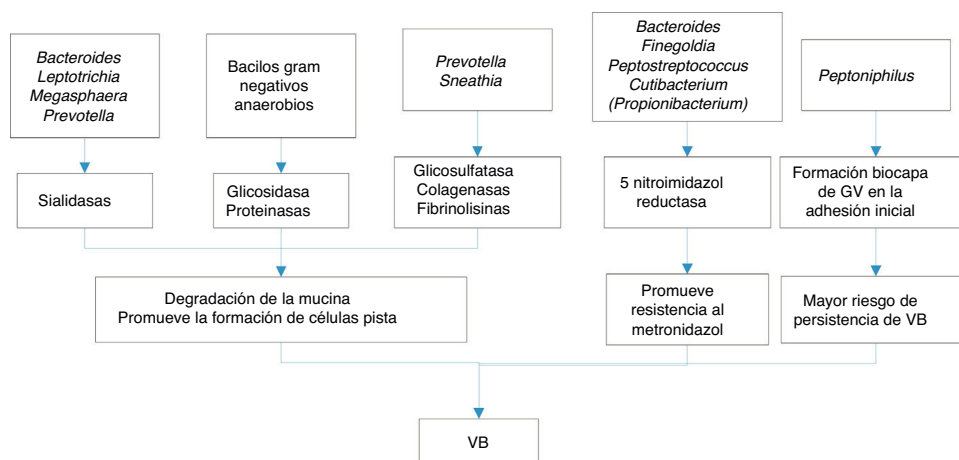


Figura 1. Algunos de los mecanismos de la producción de vaginosis bacteriana.

Lactobacillus, mediada por glicosaminoglicanos de superficie celular, gracias a la producción de glicosidasas que degradan dichos receptores^{31,32}. Además, la producción de sialidasas y vaginolisinina es capaz de alterar las células epiteliales, afectando, por tanto, a la microbiota unida³³. Por otro lado, los *Lactobacillus* son capaces de afectar tanto a la unión como a la internalización de GV interfiriendo con su pili y con proteínas de unión a fibronectina³⁰.

¿Cómo se produce la protección y la alteración del ecosistema de la vagina?

Los lactobacilos juegan un papel clave en la protección de la mucosa vaginal y en la inhibición de la colonización por bacterias patógenas mediante una serie de mecanismos¹:

- Adhesión a receptores glicolipídicos en la superficie de las células del epitelio vaginal. La presencia de altos volúmenes de inóculo de *Lactobacillus* en el fluido vaginal de mujeres sanas premenopáusicas (10^7 - 10^8 ufc/g) evita la unión de los patógenos genitourinarios a dichos receptores mediante un mecanismo de exclusión competitiva.
- Coagregación de *Lactobacillus* con patógenos y autoagregación o *quorum sensing*. Ambos mecanismos contribuyen a la formación de la biocapa en la vagina sana y a la inhibición del crecimiento de los patógenos. En un estudio de 3 poblaciones vaginales de lactobacilos (*Lactobacillus acidophilus*, *L. gasseri* y *L. jensenii*), se demostró la capacidad de autoagregación mediada por proteínas de superficie o lipoproteínas. Además, las 3 cepas se adhirieron fuertemente a las células epiteliales vaginales mediante glicoproteínas (*L. acidophilus* y *L. gasseri*) e hidratos de carbono (*L. jensenii*), mientras que los lactobacilos recuperados de otras fuentes, como los productos lácteos, se adhirieron en números significativamente menores, lo que indica que la adherencia es una propiedad idiosincrásica de los lactobacilos vaginales³⁴.
- Acidificación vaginal con la producción de ácido láctico. Estudios metabólicos²⁴ han visto producción de ácido láctico, ácido acético, glicerol y otros en la vagina sana, mientras que en VB hay 2-hidroxicetato, gammahidroxibutirato o succinato. Se podría desarrollar una prueba diagnóstica para detectar gammahidroxibutirato en torundas vaginales con un pH elevado.
- La producción de H₂O₂, bacteriocinas y biosurfactantes contribuye a la inhibición del crecimiento de algunos patógenos.

Por otro lado, los factores que alteran el ecosistema serían:

- Excesivas duchas vaginales. Las duchas vaginales³⁵ se definen como el uso de una solución líquida en la vagina, y se calcula que son utilizadas por el 27-59% de las mujeres en función de diferencias étnicas, culturales y educacionales. La mayoría de estudios desaconsejan su uso, aunque algunos ven beneficios con el uso de ácido acético para eliminar el semen y la posible transmisión de patógenos, el mal olor vaginal y para aliviar la irritación vaginal. De todas maneras, se sabe que aumenta de media 2,1 veces el riesgo de desarrollar una VB (uso de duchas vaginales ≥ 1 vez por mes aumenta el riesgo en 1,6; ≥ 2 veces por mes, aumenta en 2,5; y duchas en los 2 últimos meses aumentan el riesgo en 2,9 veces).
- Uso de espermicidas (nonoxinol-9).
- Antibióticos.
- Fagos (no probado). Se postula que hay transmisión sexual de fagos con capacidad de destruir la población de *Lactobacillus*. El tabaco se comporta como un factor favorecedor, mediante la producción de promotores de tipo epóxido diolbenzopirona.

Modelos y nuevas teorías de la etiología de la vaginosis bacteriana

Se han propuesto 3 modelos explicativos de la VB¹, y todos ellos están de acuerdo en que hay: disminución de *Lactobacillus* spp., exposición y crecimiento de BVAB y otras bacterias relacionadas con la VB, y aumento del pH vaginal.

Los 3 modelos propuestos son: a) modelo de la depleción de *Lactobacillus* spp., b) modelo del patógeno primario y c) modelo del patógeno polimicrobiano:

- En el primero, se establece que hay una disminución de *Lactobacillus* spp. productores de H₂O₂ previo al aumento del pH vaginal que dispara el sobrecrecimiento de anaerobios productores de VB. Sin embargo, en contra de esta teoría está el que hay mujeres sanas sin *Lactobacillus* y, por otro lado, hay mujeres en las que se aísla AV que producen ácido láctico. Según este modelo, una estrategia de tratamiento sería el uso de probióticos y agentes acidificantes.
- En el modelo del patógeno primario, se introduciría un patógeno como GV por actividad sexual que crea las condiciones, debido a sus factores de virulencia y formación de la biocapa, para el crecimiento de una microbiota intermedia y, finalmente,

el establecimiento de la microbiota asociada a VB. En contra de este modelo, está el hecho de que GV se detecta también en mujeres sanas sin actividad sexual, aunque podría tratarse de genotipos y biotipos diferentes (p. ej., el biotipo 5 se ve en mujeres sanas). Según este modelo se podrían usar agentes que alterasen la biocapa de GV como tratamiento.

- c) En el modelo del patógeno polimicrobiano, sería un conjunto de bacterias de VB las desencadenantes de la colonización tras la actividad sexual, sin presencia de una microbiota intermedia, con sinergismos entre ellas que disminuirían la población de *Lactobacillus*. En este caso y en contra de este modelo, está la menor virulencia de estas otras bacterias de VB respecto a la que presenta GV. El tratamiento en este modelo debería incluir agentes que alterasen la biocapa polimicrobiana.
- d) Existen otros modelos o teorías propuestas aparte de los 3 anteriores:

d1) Bacterias relacionadas con VB se internalizarían en las células epiteliales, de forma que microorganismos como GV, AV y *P. bivia* escaparían a las defensas y a la acción de antibióticos como clindamicina y metronidazol. No hay evidencias de este mecanismo.

d2) El semen alcalino disminuiría la acidez de la vagina al aumentar el pH después del coito, favoreciendo el crecimiento de GV. Se podría en este caso definir como una infección asociada sexualmente más que como una ITS *stricto sensu*.

d3) Polimorfismos genéticos favorecerían la VB. No hay datos.

Formación de la biocapa en la vaginosis bacteriana

Como en otras localizaciones, por ejemplo en la biocapa oral, la formación de la biocapa en VB tiene ventajas para GV: aumenta su tolerancia al H₂O₂ en 5 veces y al ácido láctico en 4-8 veces¹. Las etapas de la formación de la biocapa se detallan en la [tabla 6](#).

Clínica

Los síntomas que aparecen en la VB son: exudado homogéneo (90%) y olor vaginal a pescado, durante la menstruación, después de relación sexual y con mínimo picor o irritación. Hay irritación perivaginal y rara disuria o dispareunia, dolor abdominal ocasional, un exudado *introitus*, no hay eritema o edema de labios y vulva.

Como complicaciones están descritas la corioamnionitis, endometritis, salpingitis y EPI (el tratamiento de la VB reduce la EPI

Tabla 7

Tratamientos establecidos de la vaginosis bacteriana

Antimicrobiano	Dosis	Duración en días	Porcentaje de curación (%)	Grado de recomendación
Metronidazol	500 mg/oral/2 veces día	7	75-85	A
Metronidazol	0,75% gel (1 aplicación de 5 g intravaginal una vez al día)	5	75-85	A
<i>Alternativas:</i>				
Tinidazol	1 g/día	5-7	75-85 (disminuye efectos gastrointestinales y número de dosis)	B
	2 g	Dosis única		B
Metronidazol	2 g/oral	Dosis única		A
Clindamicina	300 mg/oral/2 veces día	7		A
<i>Recurrencias:</i>				
Metronidazol	500 mg/2 veces al día	10-14	El uso de preservativo puede reducir las recurrencias en mujeres activas sexualmente	A
	0,75% gel (1 aplicación de 5 g intravaginal una vez al día)	10, después 3-6 meses 2 veces por semana		A
<i>Embarazadas sintomáticas:</i>				
Metronidazol	500 mg/oral/2 veces día	7	No se recomienda tratamiento tópico y hay alta recurrencia	A
Clindamicina	300 mg/oral/2 veces al día	7		A

Tabla 6

Proceso y etapas cronológicas de la formación de la biocapa en la vaginosis bacteriana

Fase de la formación	Esquema de los procesos
1.º Adhesión	GV expresa los dominios «Rib» por el gen <i>bapL</i> codificado por la proteína BapL y forma la biocapa como especie precursora Probablemente intervienen también <i>Lactobacillus iners</i> y <i>Peptoniphilus</i> spp.
2.º Formación de microcolonias y coagregación	A. Se forman microcolonias antes de producir la matriz polimérica no extracelular (ESP) B. A continuación se produce la coagregación con la segunda especie colonizadora, de dos formas: a) por cascada en suspensión antes de unirse a la superficie (probable mecanismo de <i>Mobiluncus</i> spp. y quizás de <i>Atopobium vaginae</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>Escherichia coli</i> o <i>Enterococcus faecalis</i>) b) Después de unirse a la especie primaria C. Posteriormente se unen otras especies
3.º Maduración de la biocapa	GV libera el ADN extracelular que estimula la producción de ESP controlada por moléculas quizás de <i>quorum sensing</i> y se forma la biocapa en forma de una especie de ladrillos GV también puede codificar glicosiltransferasas de las familias I, II y IV envueltas en la producción de ESP
4.º Dispersión	La hipótesis es que se produce de forma: A. Activa, proceso esencial en la VB durante la menstruación o cuando crecen las bacterias relacionadas con la VB por aumento del pH vaginal con la sangre menstrual y poliaminas B. Pasiva, por erosión del epitelio y desprendimiento debido a sialidasa, glicosulfatasa, glicosidasa, proteinasa, colagenasa y fibrinolisisina

después de aborto inducido). En embarazadas puede desencadenar: aborto espontáneo, rotura prematura de membranas, parto prematuro, niño pretérmino, recién nacido de bajo peso, endometritis posparto e infecciones de la herida posquirúrgica⁹. También aumenta el riesgo de adquirir otras ITS (*Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, VHS2 y VIH) y de transmisión de VIH a las parejas masculinas. Además, tiene un impacto negativo en la autoestima, las relaciones sexuales y la calidad de vida.

Tratamiento

El tratamiento estándar se realiza con metronidazol o clindamicina ([tabla 7](#)). A corto plazo se obtiene una curación del 80-90%,

Tabla 8
Tratamientos alternativos ensayados en la vaginosis bacteriana

Compuesto	Dosis	Duración en días	Grado de recomendación	Comentario
<i>Antimicrobianos</i>				
Metronidazol	Óvulos 500 mg/1 dosis	5	A	
Metronidazol	Óvulos 2 g	Dosis única	B	
Tinidazol	Tableta vaginal 500 mg	14	B	
Ornidazol	Tableta vaginal 500 mg	7	C	
	Oral 500 mg/2 día + tableta vaginal 500 mg/1 día	5	B	
Secnidazol	Oral 1-2 g/1 dosis		B	
	Oral 2 g + tabletas 500 mg/1 dosis	Dosis única + 5 días	B	
Clindamicina	Crema vaginal 2%		A	
Rifaximina (derivado rifamicina)	Tabletas vaginales 25 mg/1 dosis	5	B	
<i>Antisépticos</i>				
Benzidamida				Pocos datos
Clorhexidina	Lavado vaginal 1 dosis	Dosis única	C	
Cloruro de decualinio	Tabletas vaginales 1 día	10	A	
Polihexametileno de biguanida				Pocos datos
Povidona yodada	Lavados vaginales 1 día	7	D	Pocos datos
Peróxido de hidrógeno	Lavados vaginales 3% 1 día		B	Más fallos que con metronidazol Efecto cáustico
Nifuratel	Tabletas vaginales 25 mg	10	B	
	Tableta vaginal 500 mg	8		
	Tableta oral 20 mg/3 veces día	5	B	
<i>Acidificantes vaginales</i>				
Ácido acético	Gel vaginal 0,92% 2 veces día	7	B	No superior a placebo
Ácido láctico	Gel, supositorios y tampones impregnados		—	Menos efectivo que metronidazol No estudios adecuados Parece efectivo, pero hay pocos datos
Policarbofil-Carbopol	Gel 1 dosis día	5 semanas	B	
Ácido ascórbico	Tabletas vaginales de 250 mg vitamina C recubiertas de silicona	6 días y luego 3 veces a la semana	A	No irrita y se ha usado en embarazadas
<i>Prebióticos y probióticos</i>				
Lactato			B	Pocos datos
<i>Lactobacillus: L. crispatus (LACTIN-V) o L. reuteri y L. rhamnosus</i>	Tabletas vaginales varios estudios 1 dosis al día (podrían ser probióticos mejorados o trasplante de microbiota vaginal con uso de una esponja que recoja la microbiota de la donante o una preparación sintética de la misma)	5 días a 3 meses	B	Sin beneficio. No estudios adecuados y posible necesidad de repetir las aplicaciones de los mismos para que tengan efecto o quizás como tratamiento adyuvante asociado a metronidazol
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>			—	Pocos datos
<i>Compuestos frente a las biocapas</i>				
Octenidina	Sin definir		—	Hay recurrencias y aparecen resistencias
Tobramicina	Sin definir		—	No actúa sobre la biocapa establecida
Cocoanfoacetato sódico tensioactivo anfotérico	Sin definir		—	Disminuye la biocapa en un 50%, potencial uso con metronidazol
DNasa	Sin definir		—	<i>In vitro</i> actúa junto con el metronidazol
Retrocidina (inhibidor de la vaginolisina)	Sin definir		—	Inhibe la formación de biocapa de GV <i>in vitro</i> (de ahí su potencial) o inhibe el <i>quorum sensing</i> Estudios <i>in vitro</i>
Retrociclina sintética y timol	Sin definir		—	
Ácido bórico+ EDTA (TOL-463)	Gel acuoso con polietilenglicol 250 mg o 500 mg + EDTA	Vaginal/ una vez en la noche/ 7 dosis	—	50% cura

Tabla 9
Evidencias en el diagnóstico y tratamiento de la vaginosis bacteriana

Proceso	Evidencias
Diagnóstico <i>Se realizará con criterios clínicos (Amsel) o de laboratorio (T. Gram con un sistema objetivo de puntuación) (Nugent y Hay-Ison)</i>	II-2A
Tratamiento VB sintomática <i>Se tratará con metronidazol oral 500 mg 2 veces al día durante 7 días</i> <i>Alternativas</i> Gel de metronidazol vaginal Clindamicina oral o en crema vaginal	IA
Tratamiento VB con recurrencias múltiples <i>Alargar el curso del tratamiento</i>	IA
Tratamientos alternativos <i>Eficacia limitada de tratamiento con probiotas y vitamina C</i>	I Basado en criterios de Amsel y pocos días de seguimiento

aunque el 50-70% de las mujeres recurren a los 3-6 meses. A largo plazo se logra una curación de hasta el 80%, por lo que conviene confirmar el diagnóstico en estos casos. La recurrencia no está claro si es debida a: a) resistencia (no parece probable ya que el metronidazol es activo frente a gramnegativos anaerobios, *Mobiluncus mulieris* y menos activo frente a GV, cocos anaerobios, y *Mobiluncus curtisii*) e inactivo frente a *Mycoplasma hominis* y AV; b) recurrencia o reinfección, que parece más probable, por varios factores posibles aunque ninguno demostrado fehacientemente: b1) una fuente exógena (pareja sexual hombre o mujer), b2) fuente endógena (reservorio en recto), b3) formación de biocapas, b4) factores de riesgo como duchas vaginales y el tabaco, b5) fallo de recolonización o b6) activación de fagos²³. No hay evidencias de las complicaciones asociadas a VB, por lo que el tratamiento estándar solamente se recomienda en mujeres sintomáticas.

En general, al mes hay un 58-92% de curación. Ningún nitroimidazol ha demostrado superioridad frente a otros de su misma familia. La combinación de uso oral más vaginal parece más eficaz (80-86% de curación frente al 75-86% sin combinación). El uso oral o local de clindamicina o metronidazol presenta los mismos porcentajes de curación³⁶.

Debido a estas tasas de curación se han buscado distintas pautas de tratamiento o nuevas moléculas que actuarían a la luz de los nuevos conocimientos de cómo se produce la patogénesis en VB, como es el caso de la formación de biocapas (tabla 8)^{23,35-38}.

En el caso del uso de lactobacilos, las cepas ideales de lactobacilos con potencial probiótico serían aquellas que produjesen ácido láctico, H₂O₂, que formen biocapas y cuya concentración mínima inhibitoria (CMI) para metronidazol, clindamicina y nonoxilol-9 sea alta. Los lactobacilos endógenos de la vagina no han presentado potencial carcinogénico ni codifican determinantes de resistencia a los antibióticos transmisibles a la microbiota presente, a pesar de contener numerosos plásmidos. Además, no se han descrito lactobacilos que produzcan patología genital y muy raramente son causantes de infecciones en otras zonas anatómicas³⁹⁻⁴¹.

En la tabla 9 se exponen las evidencias actuales del diagnóstico y tratamiento de la VB³⁶.

En conclusión, se ha producido un avance importante en el conocimiento de estas dos entidades clínicas que permite un mejor manejo y diagnóstico a la luz de los nuevos estudios del microbioma vaginal.

Conflicto de Intereses

Ninguno.

Bibliografía

- Jung H, Ehlers M, Lombaard H, Redelinghuys M, Kock M. Etiology of bacterial vaginosis and polymicrobial biofilm formation. *Crit Rev Microbiol.* 2017;43:651–67, <http://dx.doi.org/10.1080/1040841x.2017.1291579>.
- Bartlett JG, Onderdonk AB, Drude E, Goldstein C, Anderka M, Alpert S, et al. Quantitative bacteriology of the vaginal flora. *J Infect Dis.* 1977;136:271–7, <http://dx.doi.org/10.1093/infdis/136.2.271>.
- Bartlett JG, Polk BF. Bacterial flora of the vagina: quantitative study. *Rev Infect Dis.* 1984;6 Suppl. 1:S67–72, <http://dx.doi.org/10.1093/clinids/6.supplement.1.s67>.
- Reichman O, Luwisch H, Sela HY, Samueloff A. Genital discomfort: yeast, trichomonas and bacterial vaginosis are only the tip of the iceberg. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2017;214:200–1, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejogrb.2017.04.049>.
- Donders G, Bellen G, Rezeberga D. Aerobic vaginitis in pregnancy. *BJOG.* 2011;118:1163–70, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1471-0528.2011.03020.x>.
- Donders G, Bellen G, Grinceviciene S, Ruban K, Vieira-Baptista P. Aerobic vaginitis: no longer a stranger. *Res Microbiol.* 2017;168:845–58, <http://dx.doi.org/10.1016/j.resmic.2017.04.004>.
- Tansarli GS, Kostaras EK, Athanasiou S, Falagas ME. Prevalence and treatment of aerobic vaginitis among non-pregnant women: evaluation of the evidence for an underestimated clinical entity. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2013;32:977–84, <http://dx.doi.org/10.1007/s10096-013-1846-4>.
- Peters BM, Jabra-Rizk MA, O'May GA, Costerton JW, Shirtliff ME. Polymicrobial interactions: impact on pathogenesis and human disease. *Clin Microbiol Rev.* 2012;25:193–213, <http://dx.doi.org/10.1128/cmr.00013-11>.
- Verstraelen H, Swidsinski A. The biofilm in bacterial vaginosis: implications for epidemiology, diagnosis and treatment. *Curr Opin Infect Dis.* 2013;26:86–9, <http://dx.doi.org/10.1097/QCO.0b013e32835c20cd>.
- Gardner HL, Duker CD. Haemophilus vaginalis vaginitis: a newly defined specific infection previously classified non-specific vaginitis. *Am J Obstet Gynecol.* 1955;69:962–76, [http://dx.doi.org/10.1016/0002-9378\(55\)90095-8](http://dx.doi.org/10.1016/0002-9378(55)90095-8).
- Onderdonk AB, Delaney ML, Fichorova RN. The human microbiome during bacterial vaginosis. *Clin Microbiol Rev.* 2016;29:223–38, <http://dx.doi.org/10.1128/cmr.00075-15>.
- Swidsinski A, Mendling W, Loening-Baucke V, Ladhoff A, Swidsinski S, Hale L, et al. Adherent biofilms in bacterial vaginosis. *Obstet Gynecol.* 2005;106:1013–23, <http://dx.doi.org/10.1097/01.aog.0000183594.45524.d2>.
- Kenyon CR, Osbak K. Recent progress in understanding the epidemiology of bacterial vaginosis. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2014;26:448–54, <http://dx.doi.org/10.1097/gco.0000000000000112>.
- Yeoman CJ, Yildirim S, Thomas SM, Durkin AS, Torralba M, Sutton G, et al. Comparative genomics of *Gardnerella vaginalis* strains reveals substantial differences in metabolic and virulence potential. *PLoS One.* 2010;5:e12411, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0012411>.
- Unemo M, Bradshaw CS, Hocking JS, de Vries HJC, Francis SC, Mabey D, et al. Sexually transmitted infections: challenges ahead. *Lancet Infect Dis.* 2017;17:e235–79, [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30310-9](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30310-9).
- Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of Gram stain interpretation. *J Clin Microbiol.* 1991;29:297–301.
- Amsel R, Totten PA, Spiegel CA, Chen KCS, Eschenbach D, Holmes KK. Nonspecific vaginitis: diagnostic criteria microbial epidemiologic associations. *Am J Med.* 1983;74:14–22, [http://dx.doi.org/10.1016/0002-9343\(83\)91112-9](http://dx.doi.org/10.1016/0002-9343(83)91112-9).
- Olson KM, Boohaker LJ, Schwabke JR, Aslibekyan S, Muzny CA. Comparisons of vaginal flora patterns among sexual behaviour groups of women: implications for the pathogenesis of bacterial vaginosis. *Sex Health.* 2018;15:61–7, <http://dx.doi.org/10.1071/sh17087>.
- Ison CA, Hay PE. Validation of a simplified grading of Gram stained vaginal smears for use in genitourinary medicine clinics. *Sex Transm Infect.* 2002;78:413–5, <http://dx.doi.org/10.1136/sti.78.6.413>.
- Koumans EH, Sternberg M, Bruce C, McQuillan G, Kendrick J, Sutton M, et al. The prevalence of bacterial vaginosis in the United States 2004; associations with symptoms, sexual behaviors, and reproductive health. *Sex Transm Dis.* 2007;34:864–9, <http://dx.doi.org/10.1097/olq.0b013e318074e565>.
- Srinivasan S, Morgan MT, Liu C, Matsen FA, Hoffman NG, Fiedler TL, et al. More than meets the eye: associations of vaginal bacteria with gram stain morphotypes using molecular phylogenetic analysis. *PLoS One.* 2013;8:e78633, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0078633>.
- Marrazzo JM, Martin DH, Watts DH, Schulte J, Sobel JD, Hillier SL, et al. Bacterial vaginosis: identifying research gaps proceedings of a workshop sponsored by DHHS/NIH/NIAD. *Sex Transm Dis.* 2010;37:732–44, <http://dx.doi.org/10.1097/olq.0b013e3181fbb9c9>.
- Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, Carroll KC, Chapin KC, Gilligan PH, et al. A guide to utilization of the Microbiology Laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2018 Update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *Clin Infect Dis.* 2018;67:e1–94, <http://dx.doi.org/10.1093/cid/ciy381>.
- Reid G. Therapeutic opportunities in the vaginal microbiome. *Microbiol Spectrum.* 2017;5, <http://dx.doi.org/10.1128/microbiolspec.bad-0001-2016>.
- Braga PC, Dal Sasso M, Culici M, Spallino A. Inhibitory activity of thymol on native and mature *Gardnerella vaginalis* biofilms: in vitro study. *Arzneimittelforschung.* 2010;60:675–81, <http://dx.doi.org/10.1055/s-0031-1296346>.
- Macklaim JM, Fernandes AD, Di Bella JM, Hammond JA, Reid G, Gloor GB. Comparative meta-RNA-seq of the vaginal microbiota and differential

- expression by *Lactobacillus iners* in health and dysbiosis. *Microbiome*. 2013;1:12, <http://dx.doi.org/10.1186/2049-2618-1-12>.
27. Schellenberg JJ, Patterson MH, Hill JE. *Gardnerella vaginalis* diversity and ecology in relation to vaginal symptoms. *Res Microbiol*. 2017;168:837–44, <http://dx.doi.org/10.1016/j.resmic.2017.02.011>.
 28. Ferreira CST, da Silva MG, de Pontes LG, dos Santos LD, Marconi C. Protein content of cervicovaginal fluid is altered during bacterial vaginosis. *J Low Genit Tract Dis*. 2018;22:147–51, <http://dx.doi.org/10.1097/jgt.0000000000000367>.
 29. Danielsson D, Teigen PK, Moi H. The genital econiche: focus on microbiota bacterial vaginosis. *Ann N Y Acad Sci*. 2011;1230:48–58, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1749-6632.2011.06041.x>.
 30. Ojala T, Kankainen M, Castro J, Cerca N, Edelman S, Westerlund-Wikström B, et al. Comparative genomics of *Lactobacillus crispatus* suggests novel mechanisms for the competitive exclusion of *Gardnerella vaginalis*. *BMC Genomics*. 2014;15:1070, <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2164-15-1070>.
 31. Cornejo O, Hickey RJ, Suzuki H, Forney LJ. Focusing the diversity of *Gardnerella vaginalis* through the lens of ecotypes. *Evol Appl*. 2017;11:312–24, <http://dx.doi.org/10.1111/eva.12555>.
 32. Martín R, Martín C, Escobedo S, Suárez JE, Quirós LM. Surface glycosaminoglycans mediate adherence between HeLa cells and *Lactobacillus salivarius* Lv72. *BMC Microbiol*. 2013;13:210, <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2180-13-210>.
 33. Castro J, Alves P, Sousa C, Cereija T, França Â, Jefferson KK, et al. Using an in-vitro biofilm model to assess the virulence potential of bacterial vaginosis or non-bacterial vaginosis *Gardnerella vaginalis* isolates. *Sci Rep*. 2015;5:11640, <http://dx.doi.org/10.1038/srep11640>.
 34. Boris S, Suárez JE, Vázquez F, Barbés C. Adherence of human vaginal lactobacilli to vaginal epithelial cells and interaction with uropathogens. *Infect Immun*. 1998;66:1985–9.
 35. Aslan E, Bechelaghem N. To 'douche' or not to 'douche': hygiene habits may have detrimental effects on vaginal microbiota. *J Obstet Gynaecol*. 2018;38:678–81, <http://dx.doi.org/10.1080/01443615.2017.1395398>.
 36. Donders G, Zozzika J, Rezeberga D. Treatment of bacterial vaginosis: what we have and what we miss. *Expert Opin Pharmacother*. 2014;15:645–57, <http://dx.doi.org/10.1517/14656566.2014.881800>.
 37. Sabbatini S, Monari C, Ballet N, Mosci P, Decherfe AC, Pélerin F, et al. *Saccharomyces cerevisiae*-based probiotic as novel anti-microbial agent for therapy of bacterial vaginosis. *Virulence*. 2018;9:954–66, <http://dx.doi.org/10.1080/21505594.2018.1464362>.
 38. Schalkwyk J, Yudin MH, Infectious Disease Committee. Vulvovaginitis screening for and management of trichomoniasis, vulvovaginal candidiasis, and bacterial vaginosis. *J Obstet Gynaecol Can*. 2015;37:266–74, [http://dx.doi.org/10.1016/s1701-2163\(15\)30316-9](http://dx.doi.org/10.1016/s1701-2163(15)30316-9).
 39. Marrazzo JM, Dombrowski JC, Wierzbicki MR, Perkowski C, Pontius A, Dithmer D, et al. Safety and efficacy of a novel vaginal anti-infective TOL-463, in the treatment of bacterial vaginosis and vulvovaginal candidiasis: a randomized, single-blind, phase 2, controlled trial. *Clin Infect Dis*. 2018, <http://dx.doi.org/10.1093/cid/ciy554> [En prensa].
 40. Martín R, Soberón N, Vaneechoutte M, Flórez AB, Vazquez F, Suárez JE. Characterization of indigenous vaginal lactobacilli from healthy women as probiotic candidates. *Intern Microbiol*. 2008;11:261–6, <http://dx.doi.org/10.2436/20.1501.01.70>.
 41. Martín R, Soberón N, Vazquez F, Suárez JE. Vaginal microbiota: composition, protective role, associated pathologies, and therapeutic perspectives. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2008;26:160–7, <http://dx.doi.org/10.1157/13116753>.