

Trabajos Originales

AISLAMIENTO DE CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* DESDE CASOS CLÍNICOS DE INFECCIÓN VAGINAL: ASOCIACIÓN CON OTROS MICROORGANISMOS Y SUSCEPTIBILIDAD ANTIBACTERIANA

Carlos Padilla E.^{1a}, Olga Lobos G.^{1b}, Ramiro Padilla E.², Leoncio Fuentes V.², Loreto Núñez F.^{3c}

¹Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Talca. ²Servicio de Obstetricia y Ginecología, Hospital Regional de Talca. ³Departamento de Salud Pública, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Talca, Chile.

^aTecnólogo Médico (MSc), ^bBióloga (MSc), ^cOdontóloga.

RESUMEN

Objetivo: Determinar la presencia de *Escherichia coli* en fluidos vaginales de mujeres con infección vaginal y analizar la susceptibilidad antimicrobiana. **Método:** Se estudiaron 425 muestras de mujeres con diagnóstico clínico de infección vaginal (casos) y 100 mujeres sanas (controles). Las muestras vaginales fueron estudiadas mediante los criterios de Amsel y Nugent. Se utilizaron diferentes metodologías para identificar: *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mobiluncus* sp., *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus faecalis*, enterobacterias, bacilos Gram negativo anaerobios estrictos, *Lactobacillus* sp. y *Staphylococcus coagulasa* negativo. **Resultados:** Se observaron 160 casos de vaginitis y 265 de vaginosis. En los primeros predominó *C. albicans* y *T. vaginalis*, aislándose 27 cepas de *E. coli*. En los casos de vaginosis, *G. vaginalis* y *E. coli* fueron los más comunes. La mayor asociación se observó entre *G. vaginalis* y *E. coli*. En 47 casos se aisló únicamente *E. coli*, y en los controles se observaron 6 cepas de *E. coli*. El estudio caso-control demostró un OR: 4,7 (95% IC: 1,91-12,27). Sobre el 90% de las cepas aisladas de *E. coli* demostró sensibilidad a cefotaxima, ciprofloxacino y amikacina. **Conclusión:** *E. coli* de aislados monomicrobianos podría tener un rol potencial en la patogenia de la infección vaginal.

PALABRAS CLAVES: *Infección vaginal, E. coli, susceptibilidad antimicrobiana*

SUMMARY

Objective: To determine the presence of *Escherichia coli* in vaginal fluids of women with vaginal infection and to study its antimicrobial susceptibility. **Methods:** 425 samples of women with clinical diagnosis of vaginal infection (cases) and 100 healthy women were studied (controls). The vaginal samples were studied by means of the criteria of Amsel and Nugent. Different methodologies were used to identify: *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mobiluncus* sp., *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus faecalis*, enterobacterias, strict anaerobic Gram negative bacilli, *Lactobacillus* sp. and coagulase negative *Staphylococcus*. **Results:** 160 cases of vaginitis and 265 of vaginosis were observed. In vaginitis predominated *C. albicans* and *T. vaginalis*, and were isolated 27 *E. coli* strains. In the bacterial vaginosis, *G. vaginalis* and *E. coli* were the most common. The greater association was observed between *G. vaginalis* and *E. coli*. In

47 cases single *E. coli* was isolated. In the controls 6 *E. coli* strains were observed. The study of case-control demonstrated a OR: 4.7 (95% CI: 1.91-12.27). Isolated *E. coli* demonstrated sensitivity over 90% to cefotaxime, ciprofloxacin and amikacin. *Conclusion*: Single *E. coli* isolated could have a potential role in the pathogenesis of the vaginal infection.

KEY WORDS: **Vaginal infection, *E coli*, antimicrobial susceptibility**

INTRODUCCIÓN

La vagina y su flora normal constituyen un ecosistema dinámico que puede alterarse con facilidad, debido a modificaciones por uso de antimicrobianos, nuevas prácticas sexuales e ingesta de hormonas, entre otros factores (1,2).

Los tres tipos más importantes de infecciones vaginales son la vaginitis candidiásica, la tricomoníasis y la vaginosis bacteriana (3). La vaginosis bacteriana es un tema controversial respecto de la responsabilidad de los agentes etiológicos (4).

La presencia de *E. coli* en secreciones vaginales, sola o acompañada de otros microorganismos, no ha tenido la importancia que se le asigna a esta bacteria cuando es aislada desde otras zonas anatómicas en el ser humano. En este contexto, existe discrepancia respecto de la conveniencia de instaurar una terapia antimicrobiana dirigida a erradicar este microorganismo. Actualmente, la vaginitis aeróbica se describe como la asociación entre cepas de *E. coli* y *Streptococcus agalactiae*, siendo esta la única instancia donde *E. coli* presenta responsabilidad etiológica (5). Un reciente estudio en vagina de mujeres sanas, demostró la presencia de una enorme variedad de géneros y especies bacterianas, sin detectar cepas de *E. coli* (6). En la literatura no se dispone de información respecto de los porcentajes de aislamiento de *E. coli* desde infecciones vaginales, ni tampoco de su asociación con agentes etiológicos conocidos.

En concordancia con lo anterior, los objetivos de este trabajo son determinar la presencia de cepas de *E. coli* a partir de muestras vaginales de mujeres en edad fértil, con diagnóstico clínico de infección vaginal y de mujeres sanas sin infección vaginal. En ambos casos se observará su asociación con otros agentes etiológicos y se determinará la susceptibilidad antimicrobiana de *E. coli* frente a diversos agentes antibacterianos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio caso-control: Los casos correspondieron a 425 mujeres en edad fértil no embarazadas, no fumadoras, sin historia de enfermedades de

transmisión sexual que informaron de una sola pareja sexual en los últimos 6 meses. De estas mujeres, 160 presentaron diagnóstico clínico de vaginitis bacteriana y 265 presentaron diagnóstico clínico de vaginosis bacteriana. Las pacientes controles corresponden a 100 mujeres sanas con las mismas características generales mencionadas previamente y sin diagnóstico clínico de infección vaginal. La edad media de los casos varió entre 18 a 41 años y para los controles entre 17 a 39 años. Otros criterios de inclusión contemplaron que las participantes no hubiesen ingerido antimicrobianos 6 meses antes del estudio, ausencia de menstruación, diarrea e infección urinaria al momento de obtener la muestra. El diagnóstico diferencial inicial del laboratorio entre vaginitis y vaginosis fue realizado mediante la detección de tres o más criterios de Amsel y cols (7) y el registro microscópico de morfotipos bacterianos para determinar vaginosis bacteriana descrita por Nugent y cols (8).

Estudio microbiológico: Para casos y controles la muestra vaginal fue recolectada de los fondos de saco lateral y posterior con tres tómulas estériles. Para practicar el test de Nugent y Amsel, además de una observación directa, para detectar células micóticas y *T. vaginalis*, se irrigó la vagina directamente con 2 ml de buffer PBS pH 7.2 estéril. Se rescató aproximadamente 1 ml de buffer el cual fue distribuido en diferentes portaobjetos para posterior observación microscópica. Una tómula fue utilizada para siembra sobre placa de agar Brucella (Difco, Detroit, MI, USA), suplementada con sangre de cordero defibrinada (5%), vitamina K (1 µg/ml), hemina (5 µg/ml) y kanamicina (50 µg/ml) con el propósito de obtener crecimiento de *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella* intermedia y las placas fueron incubadas en sistema anaeróbico (bio Mérieux, Lyon, France) por 12 días a 37°C. La misma tómula fue agitada al interior de un tubo con caldo Schaedler (BD, Franklin Lakes, NJ, USA) para cultivo de *Mobiluncus* sp. e incubado anaeróticamente a 37°C por 7 días. La segunda tómula fue usada para siembra en agar Mac Conkey (Merck, Darmstadt, Germany) y agar base para sangre (Merck, Darmstadt, Germany) adicionado

de sangre al 5%, incubado en condiciones aeróbicas a 37°C; la misma tórula fue sembrada en agar Thayer-Martin (bio-Mérieux, Lyon, France) y finalmente esta tórula fue sembrada en agar Rogosa (Merck, Darmstadt, Germany) para permitir el crecimiento de *Lactobacillus* sp. Las placas fueron incubadas en presencia de CO₂ al 5% a 36°C por 48 horas para después evidenciar la presencia de *N. gonorrhoeae*. Finalmente, con esta tórula se sembró un tubo con agar Sabouraud (Merck, Darmstadt, Germany) para el crecimiento de *Candida* sp. y en medio base para *T. vaginalis* (Merck, Darmstadt, Germany). La tercera tórula fue agitada al interior de un frasco con buffer del kit comercial *Mycoplasma* IST-2 kit (bio-Mérieux, Lyon, France) y posteriormente sembrada en las correspondientes galerías para determinar desarrollo de *Mycoplasma hominis* o *Ureaplasma urealyticum*. Finalmente, esta misma suspensión fue usada para detectar *Chlamydia trachomatis* por medio del método enzima-inmunoensayo de Abbott TestPack *Chlamydia* (Abbot Park, IL, USA) y procesado de acuerdo al proveedor. La identificación de enterobacterias fue realizada con el API test 20-E (bio Mérieux, Lyon, France). La identificación de bacterias anaerobias estrictas fue realizada mediante métodos fenotípicos (9). *C. albicans* fue identificada mediante el uso del kit de bio-Mérieux ID 32C (Lyon, France).

Estudio de susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *Escherichia coli*: Como control de calidad del procedimiento se utilizó la cepa de *E. coli* ATCC 25922. Para la determinación de la susceptibilidad antimicrobiana se utilizó la prueba de difusión en agar descrita por Kirby y Bauer (10). Se emplearon discos impregnados con los siguientes antimicrobianos: ampicilina 10 µg, cefuroxima 30 µg, cefotaxima 30 µg, clindamicina 2 µg, ciprofloxacino 5 µg, cloranfenicol 30 µg, gentamicina 10 µg, amikacina 30 µg, y sulfametoxazoltrimetoprim 25 µg. Para la interpretación, se aplicaron los puntos de corte y el esquema de clasificación en categorías (susceptible, resistencia intermedia y resistente) recomendados por la NCCLS (11).

RESULTADOS

En la Tabla I se observa que *G. vaginalis* es el microorganismo más frecuentemente aislado de muestras de mujeres con diagnóstico clínico de infección vaginal (33,2%), seguido por *E. coli* (23,0%). Otros aislados frecuentes fueron *C. albicans* y *T. vaginalis* con un 15,5 y 9,1% respectivamente. Bacilos gram negativo anaerobios estrictos fueron pobremente aislados (2,2%). No se obtuvo desarrollo de *N. gonorrhoeae* ni de *U. urealyticum*. La mayoría de las cepas de *E. coli* aisladas corresponden a casos clínicos de vaginosis. En la

Tabla I
MICROORGANISMOS AISLADOS DE VAGINA DE MUJERES SANAS (CONTROLES) Y CON INFECCIÓN VAGINAL (CASOS)

Microorganismos	Total casos n (%)	Vaginitis n (%)	Vaginosis n (%)	Controles n (%)
<i>G. vaginalis</i>	141 (33,2)	12 (2,8)	129 (30,3)	26 (26)
<i>E. coli</i>	96 (23,0)	27 (6,3)	69 (16,2)	6 (6)
<i>C. albicans</i>	66 (15,5)	66 (15,5)	0	0
<i>T. vaginalis</i>	39 (9,1)	39 (9,1)	0	0
<i>Mobiluncus</i> sp.	12 (2,8)	0	12 (2,8)	6 (6)
<i>E. faecalis</i>	10 (2,4)	0	10 (2,4)	2 (2)
BGAE	9 (2,2)	0	9 (2,2)	4 (4)
<i>M. hominis</i>	5 (1,2)	0	5 (1,2)	0
<i>Ch. trachomatis</i>	2 (0,5)	2 (0,5)	0	0
<i>S. agalactiae</i>	3 (0,7)	0	3 (0,7)	8 (8)
<i>N. gonorrhoeae</i>	0	0	0	0
<i>U. urealyticum</i>	0	0	0	0
NHDME	42 (100)	14 (3,3)	28 (6,6)	56 (56)
Total	425 (100)	160 (37,5)	265 (62,4)	100 (100)

BGAE: Bacilos Gram negativo anaerobios estrictos (*B. fragilis*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *F. nucleatum*). NHDME: No hay desarrollo de microorganismos estudiados pero se obtiene crecimiento de *Lactobacillus* sp. y *Staphylococcus coagulasa* negativo.

misma Tabla, se observa que en 42 muestras de estas mujeres no se obtiene desarrollo de ningún tipo de los microorganismos estudiados, observándose crecimiento de *Lactobacillus* sp. y *Staphylococcus coagulasa* negativo. También en esta tabla se observa que en el grupo de mujeres sanas (controles), se presentó desarrollo de 6 diferentes especies, destacándose en 26 muestras la presencia de *G. vaginalis* y solamente en 6 de ellas desarrollo de *E. coli*.

En la Tabla II se observa que en algunas mujeres con infección vaginal fue posible aislar más de un microorganismo. La asociación más común fue entre *G. vaginalis* y *E. coli* seguida de *C. albicans* y *E. coli* con un total de 29 y 12 asociaciones respectivamente. La mayoría de los aislados de flujos vaginales reveló la presencia de infecciones monomicrobianas donde *G. vaginalis* (97%), *C. albicans* (49%) y *E. coli* (47%) fueron los más frecuentes. No se determinó ningún tipo de asociación microbiana en los fluidos vaginales del grupo control. En las Tablas III A y B se observa que el rango etario con la mayor tasa de microorganismos corresponde a los grupos de entre 24-30 y 31-37 años, lo cual es coincidente para casos y controles. Al centrar la atención en las cepas de *E. coli* se pudo observar que el resultado del estudio caso-control mostró un OR: 4,7 (95% IC: 1,91-12,27), de este modo la presencia de cepas de *E. coli* fue 4,7 veces más frecuente en los casos que en los controles.

En la Tabla IV, se observa que las cepas de *E. coli* aisladas de infección vaginal presentan una interesante sensibilidad a la mayoría de los antibacterianos estudiados, destacándose cefotaxima, ciprofloxacino, amikacina, clindamicina y cefuroxima. La principal resistencia se evidencia frente a cloranfenicol, sulfametoxazoltrimetoprim y ampicilina.

DISCUSIÓN

En orden a estudiar la participación de cepas de *E. coli* en infecciones vaginales, 425 mujeres con diagnóstico clínico de infección vaginal y 100 mujeres sanas fueron analizadas. En ambos grupos de mujeres se descartaron las embarazadas para eliminar la influencia de cambios hormonales y otros factores que pudiesen explicar la presencia de *E. coli*. Mujeres con infección urinaria no fueron incorporadas al estudio, considerando la controversial relación detectada en algunos trabajos entre infección urinaria y vaginosis bacteriana (12,13). También se eliminó el posible rol de la nicotina descartándose a las mujeres fumadoras.

Tabla II

MICROORGANISMOS ASOCIADOS E INDIVIDUALES AISLADOS DESDE MUJERES CON DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE INFECCIÓN VAGINAL

Microorganismos	n (muestras)
a. Asociados	
<i>G. vaginalis</i> - <i>E. coli</i>	29
<i>C. albicans</i> - <i>E. coli</i>	12
<i>T. vaginalis</i> - <i>E. coli</i>	8
<i>G. vaginalis</i> - <i>Mobiluncus</i> sp.	6
<i>G. vaginalis</i> - <i>C. albicans</i>	5
<i>G. vaginalis</i> - BGAE	4
b. Individuales	
<i>G. vaginalis</i>	97
<i>C. albicans</i>	49
<i>E. coli</i>	47
<i>T. vaginalis</i>	31
<i>E. faecalis</i>	10
<i>Mobiluncus</i> sp.	6
<i>M. hominis</i>	5
BGAE	5
<i>S. agalactiae</i>	3
<i>C. trachomatis</i>	2

BGAE: Bacilos Gram negativo anaerobios estrictos. (*B. fragilis*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *F. nucleatum*).

Fueron aceptadas mujeres con una sola pareja sexual en los últimos 6 meses, con el propósito de eliminar la recurrencia de la infección vaginal y además las infecciones de transmisión sexual.

Los resultados obtenidos permitieron observar a un mayor número de mujeres con vaginosis bacteriana respecto de vaginitis. Se observó que la mayoría de los microorganismos fueron aislados desde mujeres en los rangos etarios de 24-37 y 31-37 años, confirmándose que las infecciones vaginales son más prevalentes en mujeres en edad fértil (14). También se observó que *T. vaginalis* y *C. albicans* fueron aisladas exclusivamente desde mujeres con vaginitis y por otra parte *G. vaginalis* presentó un elevado aislamiento desde mujeres con vaginosis bacteriana, corroborándose las características etiológicas de estos microorganismos. Además fue interesante observar que un importante número de mujeres con infección vaginal presentan dos microorganismos diferentes, lo cual podría tener relevancia al momento de instaurar una terapia antimicrobiana. En este contexto, se observó que las cepas de *E. coli* se asocian comúnmente con *G. vaginalis*, *C. albicans* y *T. vaginalis*, pero la asociación más común fue con *G. vaginalis*.

Tabla III A
DISTRIBUCIÓN POR RANGOS DE EDAD DE MICROORGANISMOS AISLADOS DESDE MUJERES CON INFECCIÓN VAGINAL (CASOS)

Microorganismos casos	Rango de edad (años)				Total (%)
	17-23	24-30	31-37	38-41	
<i>G. vaginalis</i>	11	52	43	35	141 (33,1)
<i>E. coli</i>	16	44	21	15	96 (22,3)
<i>C. albicans</i>	6	29	20	11	66 (15,5)
<i>T. vaginalis</i>	0	9	11	19	39 (9,2)
<i>Mobiluncus</i> sp.	0	2	3	7	12 (2,8)
<i>E. faecalis</i>	2	3	4	1	10 (2,4)
BGAE	0	3	4	2	9 (2,1)
<i>M. hominis</i>	3	2	0	0	5 (1,2)
<i>S. agalactiae</i>	1	0	2	0	3 (0,7)
<i>C. trachomatis</i>	2	0	0	0	2 (0,5)
NHDME	12	11	14	5	42 (9,8)
Total (%)	53 (12,5)	155 (36,5)	122 (28,7)	95 (22,3)	425 (100)

NHDME: No hay desarrollo de microorganismos estudiados pero se obtiene crecimiento de *Lactobacillus* sp. y *Staphylococcus coagulasa* negativo. BGAE: Bacilos Gram negativo anaerobios estrictos (*B. fragilis*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *F. nucleatum*).

Tabla III B
DISTRIBUCIÓN POR RANGOS DE EDAD DE MICROORGANISMOS AISLADOS DESDE MUJERES CON EPITELIO VAGINAL SANO (CONTROLES)

Microorganismos controles	Rango de edad (años)				Total (%)
	17-23	24-30	31-37	38-41	
<i>G. vaginalis</i>	3	10	4	3	20 (20)
<i>E. coli</i>	3	0	3	0	6 (6)
<i>Mobiluncus</i> spp.	2	5	6	1	14 (14)
<i>E. faecalis</i>	1	2	0	1	4 (4)
<i>S. agalactiae</i>	0	1	2	0	3 (3)
<i>M. hominis</i>	1	0	0	0	1 (1)
<i>U. urealyticum</i>	0	1	0	0	1 (1)
NHDME	9	14	16	12	51 (51)
Total (%)	19 (19)	33 (33)	31 (31)	17 (17)	100 (100)

NHDME: No hay desarrollo de microorganismos estudiados pero se obtiene crecimiento de *Lactobacillus* sp. y *Staphylococcus coagulasa* negativo. BGAE: Bacilos Gram negativo anaerobios estrictos (*B. fragilis*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *F. nucleatum*).

El enfoque de *E. coli* como agente causal de infección vaginal ha sido controversial. En muchos casos su aislamiento desde esos cuadros clínicos no es tomado en cuenta ya que usualmente se le considera un contaminante ocasional de vagina, sin asignársele ningún rol en la patogenia de estas infecciones. *E. coli* es una bacteria fuertemente adaptada al ser humano, con el cual puede vivir en perfecta simbiosis o generarle severas enfermedades. Esta bacteria, habitante normal del intestino humano y de animales de sangre caliente, durante su evolución ha adquirido determinantes

genéticos, cuya expresión fenotípica la transforman en patógeno para el ser humano y animales (15,16). La plasticidad genómica de esta bacteria, permite distinguir varios patotipos especializados en reconocer diferentes epitelios del hombre y que expresan numerosos factores de virulencia responsables de la infección. Esta capacidad genética obliga a pensar en una constante evolutiva de este microorganismo, que le otorga propiedades para reconocer y colonizar nuevos nichos ecológicos en mucosa y epitelios del ser humano (17).

En el presente estudio llamó la atención que

Tabla IV

SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE 96 CEPAS DE ESCHERICHIA COLI AISLADAS DE FLUIDOS VAGINALES DE MUJERES CON ANTECEDENTES CLÍNICOS DE INFECCIÓN VAGINAL

Antimicrobianos	Susceptibilidad antimicrobiana		
	Sensible	Intermedio	Resistente
Ampicilina	64 (66,6)	9 (9,4)	23 (24,0)
Cefuroxima	82 (85,4)	6 (6,3)	8 (8,3)
Cefotaxima	92 (95,8)	0	4 (4,2)
Clindamicina	86 (89,6)	0	10 (10,4)
Ciprofloxacino	91 (94,8)	0	5 (5,2)
Cloranfenicol	54 (56,2)	9 (9,4)	33 (34,4)
Sulfametoxazol-Trimetoprim	50 (52,1)	14 (14,6)	32 (33,3)
Amikacina	89 (92,7)	2 (2,1)	5 (5,2)
Gentamicina	76 (79,2)	3 (3,1)	17 (17,7)

en los 47 aislados monomicrobianos de *E. coli* evidencian un masivo número de colonias, en comparación a su presencia asociada a otro microorganismos, donde su desarrollo fue significativamente menor. En este contexto, el aislamiento individual de esta bacteria y descartándose la presencia de otros reconocidos agentes etiológicos, permitiría argüir algún grado de responsabilidad en la infección vaginal, debiendo considerarse desde esta perspectiva la implementación de un tratamiento antimicrobiano. En relación a esto último, es importante considerar que algunos de los problemas ocasionados por infecciones vaginales que afectan a la mujer embarazada y que pueden dañar al feto o al recién nacido, sean provocados por cepas de *E. coli* en conjunto con los agentes etiológicos ya conocidos (18). Un interesante estudio determinó que mujeres embarazadas portadoras asintomáticas de *E. coli* en vagina, pueden transferírsela al feto o al recién nacido e inducirle meningitis (19).

Tomando en cuenta lo comentado anteriormente, es importante observar que el aislamiento de cepas de *E. coli* es 4,7 veces más frecuente en los casos respecto de los hallazgos en mujeres controles, lo cual implicaría algún grado de incidencia en las infecciones vaginales y sus posteriores consecuencias al no realizarse un diagnóstico pertinente y un tratamiento adecuado.

Hasta el momento no existían antecedentes con base científica que mostraran la participación de cepas de *E. coli* en la infección vaginal. Si bien los resultados obtenidos ofrecen solamente algún grado de sospecha en la participación de *E. coli*, se hace necesario investigar las reales propiedades virulentas y de adaptación ecológica que podrían presentar estas bacterias en el hábitat vaginal.

Agradecimientos: Este trabajo fue ejecutado con fondos del proyecto DI. 280 de la Dirección de Investigación de la Universidad de Talca.

BIBLIOGRAFÍA

- Larsen B, Monif G. Understanding the bacterial flora of the female genital tract. *Clin Infect Dis* 2001;15: 69-77.
- Marrazzo J. Bacterial vaginosis. *Curr Treat Opt Infect Dis* 2003;5:63-8.
- Egan M, Lipsky M. Diagnosis of vaginitis. *Am Fam Physician* 2000;62:1095-104.
- Marrazzo J. A persistent(ly) enigmatic ecological mystery: bacterial vaginosis. *J Infect Dis* 2006;193: 1475-7.
- Donder GG, Vereecken A, Bosmans E, *et al.* Definition of a type of abnormal vaginal flora that is distinct from bacterial vaginosis: aerobic vaginitis. *Br J Obstet Gynecol* 2002;109:34-3.
- Hyman R, Fukushima M, Diamond L, *et al.* Microbes on the human vaginal epithelium. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;31:102:7952-7.
- Amsel R, Totten P, Spiegel CA, *et al.* Nonspecific vaginitis: diagnostic criteria and microbial and epidemiological associations. *Am J Med* 1983;74:14-22.
- 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.
- Hannele R, Jousimies S, Sumanen P, *et al.* Anaerobic Gram negative rods and cocci. In: Murray P, Baron E, Pfaller M, Tenover F, Tenover R. eds. *Manual of Clinical Microbiology* 7th ed. Washington DC: ASM Press, 1999:690-711.
- Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, *et al.* Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol* 1966;45:493-6.
- National Committee for Clinical Laboratory Stan-

- dards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test. Villanova (PA): National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1997. NCCLS document M2A6.
12. Martinez JJ, Hultgren SJ. Requirement of Rho-family GTPases in the invasion of type 1-piliated uropathogenic *Escherichia coli*. *Cell Microbiol* 2002;4:19-28.
 13. Harmanli OH, Cheng GY, Nyirjesy P, *et al.* Urinary tract infection in women with bacterial vaginosis. *Obstet Gynecol* 2000;95:710-2.
 14. Hellberg D, Nilsson S, Mardh PA. The diagnosis of bacterial vaginosis and vaginal flora changes. *Arch Gynecol Obstet* 2001;265:11-5.
 15. Jores J, Rumer L, Wieler L. Impact of the locus of enterocyte effacement pathogenicity island on the evolution of pathogenic *Escherichia coli*. *Int J Med Microbiol* 2004;294:103-13.
 16. Muhldorfer L, Hacker J. Genetic aspects of *Escherichia coli* virulence. *Microb Pathog* 1994;16:171-81.
 17. Schmidt H, Hensel M. Pathogenicity islands in bacterial pathogenesis. *Clin Microbiol Re.* 2004;17:14-56.
 18. McGregor J, French J. Bacterial vaginosis in pregnancy. *Obstet Gynecol Surv* 2000;55:S1-S19.
 19. Watts S, Lanotte P, Meneghetti L, *et al.* *Escherichia coli* strains from pregnant women and neonates: interspecies genetic distribution and prevalence of virulence factors. *J Clin Microbiol* 2003;41:1929-35.
-