

Frecuencia y detección molecular de *Gardnerella vaginalis* en una institución de tercer nivel

Katherine V. González-Mustri¹, Fernando M. Guerra-Infante¹, Graciela Villeda-Rangel² y Marcela López-Hurtado^{1*}

¹Laboratorio de Bioinmunología Molecular y Celular; ²Laboratorio de Microbiología. Departamento de Infectología, Instituto Nacional de Perinatología, Ciudad de México, México

Resumen

Antecedentes: Los padecimientos vaginales son la razón más común para que las mujeres busquen atención médica, con una prevalencia global que oscila entre el 23 y el 29% en mujeres en edad reproductiva. La vaginosis bacteriana es una de las principales causas de estos padecimientos, y el agente etiológico más frecuentemente identificado es *Gardnerella vaginalis*, sin embargo su diagnóstico es difícil, ya que requiere de medios artificiales selectivos enriquecidos y diferenciales. **Objetivo:** Determinar la frecuencia de *G. vaginalis* mediante la amplificación de ácidos nucleicos empleando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en muestras cervicovaginales de pacientes que asisten a un instituto de tercer nivel. **Método:** Se analizaron 121 muestras cervicovaginales para la detección molecular del ARN ribosomal 16S de *G. vaginalis*. **Resultados:** *G. vaginalis* se detectó en 34 muestras, de estas, 23 fueron de mujeres embarazadas y 11 de no embarazadas. **Conclusión:** La PCR de punto final detectó tres veces más la presencia de *G. vaginalis* que el medio de cultivo artificial.

Palabras clave: *Gardnerella vaginalis*. Frecuencia. PCR. Cervicovaginal.

Frequency and molecular detection of *Gardnerella vaginalis* in a third level institute

Abstract

Background: Vaginal conditions are the most common reason for women to seek medical care, with an overall prevalence ranging from 23 to 29% in women of reproductive age. Bacterial vaginosis is one of the main causes of these conditions, and the most frequently identified etiological agent is *Gardnerella vaginalis*, however, its diagnosis is difficult since it requires enriched and artificial selective culture media. **Objective:** To determine the frequency of *G. vaginalis* by nucleic acid amplification using polymerase chain reaction (PCR) in cervicovaginal samples from patients attending a third level institute. **Method:** One hundred twenty-one cervicovaginal samples were analyzed for molecular detection of 16S ribosomal RNA from *G. vaginalis*. **Results:** *G. vaginalis* was detected in 34 samples, of these, 23 were from pregnant women and 11 from non-pregnant women. **Conclusion:** Endpoint PCR detected three times more the presence of *G. vaginalis* than artificial culture medium.

Keywords: *G. vaginalis*. Frequency. PCR. Cervicovaginal.

*Correspondencia:

Marcela López-Hurtado

E-mail: diaclaro2000@yahoo.com.mx

0187-5337/© 2023. Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes. Publicado por Permanyer. Este es un artículo open access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Fecha de recepción: 26-09-2023

Fecha de aceptación: 02-11-2023

DOI: 10.24875/PER.23000020

Disponible en internet: 15-02-2024

Perinatol Reprod Hum. 2023;37(3):91-98

www.perinatologia.mx

Introducción

La diversidad del microbioma vaginal es esencial para establecer el bienestar reproductivo y desarrollar un periodo gestacional saludable. Las modificaciones en el microbioma genitourinario pueden conducir a la disbiosis y a procesos inflamatorios locales y sistémicos, lo que representa un riesgo para la salud de las mujeres durante su etapa sexual y reproductiva¹. La vaginosis bacteriana (VB) es una condición de disbiosis vaginal, caracterizada por un decremento en la proporción de bacterias productoras de ácido láctico y el incremento en la proporción de algunas o varias de estas bacterias: *Gardnerella vaginalis*, *Megasphaera* spp., *Atopobium vaginae*, *Dialister* spp., *Mobiluncus* spp., *Sneathia amnii*, *Sneathia sanguinegens*, *Porphyromonas* spp. y *Prevotella* spp.

La VB es la infección vaginal más prevalente en el mundo, y las tasas de prevalencia estimadas mediante métodos microbiológicos (criterios de Amsel y puntuación de Nugent) van entre el 7 y 48% de mujeres sanas no embarazadas y el 61% en mujeres con VIH o con infecciones de transmisión sexual (ITS)². En EE.UU., el 29% de las mujeres en edad reproductiva cursa con este padecimiento. En México se informa entre el 2 y 8.5% de las pacientes que asisten a alguna inspección ginecológica^{3,4}.

El agente etiológico más frecuentemente identificado es *G. vaginalis*, una bacteria con aspecto de bacilo pleomórfico y de gramnegativo a gramvariable⁵. Es una bacteria de crecimiento fastidioso en medios artificiales, por lo que se utilizan los criterios de Amsel para el diagnóstico de VB, incluso la puntuación de Nugent es considerada un método de referencia por la Organización Mundial de la Salud, pero esto tiene algunos engaños. La flora intermedia es hasta ahora una categoría no caracterizada y un desafío en el diagnóstico de la VB. Además, la identificación de morfotipos es subjetiva y dependiente del evaluador; por lo tanto, el diagnóstico puede estar influenciado por las habilidades y la experiencia de cada técnico^{6,7}. Por lo que el propósito de esta investigación fue identificar la frecuencia de infección por *G. vaginalis* mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en muestras vaginales de pacientes con vaginitis y compararlo con los resultados microbiológicos que generalmente se utilizan en esta institución (cultivo microbiológico, criterios de Amsel y puntuación de Nugent).

Material y métodos

Diseño del estudio

Se realizó un estudio transversal, descriptivo y observacional de noviembre de 2022 a enero de 2023. Todas las participantes firmaron su consentimiento informado.

Población de estudio

La población estuvo conformada por mujeres de edades entre 15 y 56 años que mostraran datos clínicos de cervicitis, flujo vaginal o prurito y que asistieron a una institución de tercer nivel por embarazo, infertilidad u otra condición médica. Los criterios de inclusión fueron: pacientes que no hubieran tomado antibiótico 20 días antes de la toma de la muestra y abstinencia sexual de al menos 72 h al momento de la toma de la muestra. Se excluyeron a aquellas pacientes con expediente clínico incompleto.

Obtención de la muestra

Las muestras cervicovaginales fueron obtenidas mediante hisopado vaginal y endocervical. Los hisopos fueron depositados en el medio de transporte (Medio UTM-RT, COPAN, Brescia, Italia) para posterior extracción de ADN en el laboratorio de bioinmunología molecular y celular.

Cultivo microbiológico

Para el cultivo cervicovaginal se tomaron tres hisopos: el primero para cultivo en medios artificiales, el segundo para un frotis para tinción de Gram, y el tercero para un examen en fresco. Para el examen en fresco, la muestra se homogenizó en un tubo con solución salina, y después se colocó una gota de esta suspensión entre un portaobjetos y cubreobjetos. La observación se realizó en un microscopio Karl-Zeiss con objetivo de 40X, haciendo la búsqueda de células clave, levaduras, pseudohifas y *Trichomonas vaginalis*. El frotis teñido con la tinción de Gram y observación con el objetivo de 100X se empleó para la evaluación de los criterios de Nugent.

Los medios de cultivo artificiales empleados fueron: agar gelosa chocolate (agar columbia CNA suplementado con sangre de caballo o sangre humana al 5%). La muestra fue sembrada por la técnica de estría cruzada e incubada a 37 °C al 5% CO₂ por 48 h.

La presencia de colonias de 1 mm de diámetro, beta-hemolíticas y de color grisáceo fue considerada como de posibles *G. vaginalis*; para confirmar su identificación se realizaron las pruebas bioquímicas correspondientes en el sistema automatizado Vitek Compact 2, usando la tarjeta NH.

Criterios de Amsel y puntuación de Nugent

Los criterios de Amsel analizados fueron: pH mayor a 4.5, presencia de flujo vaginal gris, homogéneo y adherente, liberación de olor a pescado al adicionar hidróxido de potasio al 10% a la secreción y presencia de células clave. La presencia de tres de los parámetros anteriores se considera como VB.

Para los criterios de Nugent se realiza la cuenta de los diferentes morfotipos y dependiendo de la cantidad que se observe se da un valor y finalmente se suma el puntaje, si la suma es de 7-10 el diagnóstico es VB (Tabla 1).

Extracción de ADN

A cada tubo le adicionaron 200 µl de regulador de lisis de células blancas, (Tris-HCl 50 nM, pH 8, EDTA 50 mM, NaCl 50 nM, SDS al 2%) con proteinasa K (15 mg) y se incubaron por 1 h a 56 °C; pasado el tiempo de incubación se adicionaron 200 µl de fenol (equilibrado con Tris-HCl 10 mM, pH 8, Sigma®) y 200 µl de cloroformo (Chloroform-isoamyl alcohol mixture, Fluka Analytical), se homogenizaron en el agitador por 15 s y enseguida se centrifugaron a temperatura ambiente por 10 min a 450 x g (High Speed Centrifuge Mini-15, ALLSHENG, Hangzhou, China). Una vez terminado el tiempo de centrifugación, se recuperó el sobrenadante (fase acuosa) en un nuevo tubo Eppendorf, se le adicionaron 200 µl de cloroformo y se agitaron en vórtex (Mixal Multimixer, Lab-Line Instruments, Kerala, India) por 15 min a temperatura ambiente. Posteriormente se centrifugaron a 450 x g por 10 min a temperatura ambiente. Pasado el tiempo de centrifugación, se tomó la fase acuosa (sobrenadante) y se pasó a un tubo nuevo, se le adicionó 1 ml de etanol absoluto (KARAL) frío a 4 °C y 35 µl de NaCl 1 M. Se dejó reposar por 10 minutos a temperatura ambiente y se procedió a centrifugar a 11.000 x g por 15 min, a 4 °C (Microfuge® 22R Centrifuge Beckman Coulter, California, EE.UU.). Posteriormente se eliminó el etanol por inversión y se procedió a evaporar el resto del etanol en un concentrador (Vacufuge plus, Eppendorf, Hamburgo,

Tabla 1. Morfotipos de acuerdo con los criterios de Nugent para el diagnóstico de vaginosis bacteriana

Morfotipos observados por campo			
Puntaje	Lactobacilos BGP	BCGV <i>Gardnerella vaginalis</i> / <i>Bacteroides</i>	Bacilos curvos gramvariables (<i>Mobiluncus</i> sp.)
0	> 30	0	0
1	1-30	< 1	1-4
2	1-4	1-4	> 5
3	< 1	5-30	
4	0	> 30	

BCGV: bacilo corto gramvariable; BGP: bacilo grampositivo.

Alemania) durante 8 min. Finalmente, el ADN se resuspendió en 40 µl de agua Mili-Q o agua grado biología molecular. Las muestras se mantuvieron en congelación (-20 °C) hasta el momento de su uso.

La integridad del ADN se evidenció mediante electroforesis (EC Apparatus Corporation, California, EE.UU.) en un gel de agarosa (UltraPure™ Agarose, Invitrogen™ by Life technologies™) al 1% en regulador TAE 1X (TRIS, Acetona, EDTA), a 100 V por 30 min (EC Apparatus Corporation, California, EE.UU.). Una vez terminado el corrimiento electroforético se pasó el gel a una solución de bromuro de etidio al 1% (para la tinción del ADN) durante 8 min; después se colocó el gel al chorro del agua para eliminar el excedente del bromuro de etidio. Enseguida se colocó el gel en un analizador de imágenes (Transiluminador Light Cabinet Hood Alpha Innotech, California, EE.UU.) para ver la integridad del material genético.

Amplificación del ARN ribosomal 16S de *Gardnerella vaginalis*

Se amplificó el gen ARN ribosomal 16S (ARNr 16S) específico de *G. vaginalis*. usando los iniciadores: *forward* 5'-TTCGATTCTGGCTCAGG y *reverse* 5'-CCATCCCAAAGGGTTAGGC. Los iniciadores fueron sintetizados con base en sus secuencias publicadas y descritas por Pillay et al⁹. La PCR se realizó en un volumen final de 25 µl bajo las siguientes condiciones: 0.2 µM de cada iniciador, 1 µl de ADN genómico, 12.5 µl de máster mix 2X (PCR Master Mix. Thermo Scientific™) y el resto de agua grado biología molecular. La mezcla de reacción se sometió a 28 ciclos de desnaturalización a 94 °C durante 30 segundos,

hibridación a 52 °C durante 45 segundos, extensión a 72 °C durante 1 minuto y 25 segundos (Mastercycler gradient Eppendorf, Hamburgo, Alemania). Las condiciones de PCR se llevaron de acuerdo con lo publicado por Pillay et al⁹. El control negativo fue agua grado biología molecular, y el control positivo fue la cepa de *G. vaginalis* (14018 ATCC, lote 70045056).

Los productos de la PCR fueron separados en gel de agarosa (UltraPure™ Agarose, Invitrogen™ by Life technologies™) al 2% en TAE 1X, a 100 V por 30 min (EC Apparatus Corporation, California, EE.UU.). En uno de los carriles se adicionaron 1.5 µl de marcador de tamaño molecular de 50 pb (Accuris Instruments, Nueva Jersey, EE.UU.) para identificar el tamaño de la banda. Una vez terminado el corrimiento electroforético se pasó el gel a una solución de bromuro de etidio al 1% (para la tinción del ADN) durante 8 min; después se colocó el gel al chorro del agua para eliminar el excedente del bromuro de etidio. Enseguida se colocó el gel en un analizador de imágenes (Transiluminador Light Cabinet Hood. Alpha Innotech, California, EE.UU.) para ver la separación de los productos de la PCR.

Aspectos éticos

Este estudio se llevó a cabo con la aprobación del Comité de Ética de la institución de tercer nivel donde se realizó el estudio, y según las recomendaciones de la Declaración de Helsinki.

Resultados

Se analizaron 121 muestras cervicovaginales mediante la técnica de PCR para la detección de *G. vaginalis*. Sin embargo, de acuerdo con los resultados obtenidos por los criterios de Nugent solamente se analizaron para cultivo microbiológico 89 muestras para la búsqueda de esta bacteria. Los resultados obtenidos por cultivo fueron 27/89 (30.3%) muestras positivas y mediante la técnica de PCR se identificaron 34/121 (28%) muestras analizadas. La sensibilidad y especificidad del cultivo microbiológico se evidenció del 48.1 y 95.2% respectivamente, cuando se compara con la prueba de PCR (Tabla 2). El análisis estadístico también mostró que la PCR para la detección de *G. vaginalis* fue 10 veces más sensible que el cultivo microbiológico para identificar dicha bacteria (IC95%: 3.09-32) ($p < 0.001$).

La edad promedio de las pacientes estudiadas fue de 31.59 ± 6.59 años. El rango de edad de las participantes fue de 15 a 56 años, y el rango de edad de la

Tabla 2. Sensibilidad y especificidad del cultivo microbiológico para la detección de *Gardnerella vaginalis* con respecto a la técnica de PCR

	Cultivo microbiológico		Total
	Positivo	Negativo	
Técnica de PCR			
Positivo			
Recuento	13	14	27
%	48.1%	51.9%	100.0%
Negativo			
Recuento	3	59	62
%	4.8%	95.2%	100.0%
Total			
Recuento	16	73	89
%	18.0%	82.0%	100.0%

PCR: reacción en cadena de la polimerasa.

población que mayormente participó fue entre los 31 y 35 años. En la Figura 1 se muestra la frecuencia de edades de las pacientes examinadas, con y sin detección de *G. vaginalis* mediante la técnica de PCR.

Los resultados mostraron que la edad promedio de las mujeres infectadas por *G. vaginalis* fue 30.9 ± 6.6 y dentro de un rango de edad de 20 a 49 años, las adolescentes menores a 20 años y las adultas mayores de 50 años no mostraron infección por esta bacteria.

De las 121 pacientes analizadas, 79 (65.3%) se encontraban embarazadas en el momento del estudio y 42 (34.7%) no lo estaban. En la Figura 2 se muestra el total de pacientes analizadas con y sin infección por *G. vaginalis*. Las mujeres embarazadas mostraron un mayor porcentaje de infección (19.8%) por este germen en comparación con las no embarazadas (8.3%).

Como las pacientes analizadas mostraban datos de cervicitis, se realizó la búsqueda de otros patógenos causantes de esta patología. Los microorganismos identificados durante este estudio mediante el análisis microbiológico se muestran en la tabla 3. *Ureaplasma urealyticum* (48.7%) fue la bacteria que se identificó más frecuentemente y que se asoció con diferentes microorganismos. En cuanto a *G. vaginalis*, identificada por PCR, mostró coinfección con diferentes especies de *Candida*, con *Leptothrix*, *Mycoplasma*, *Ureaplasma* y VPH (Fig. 3).

Discusión

La VB es un problema de salud pública que afecta a más del 50% de mujeres en edad fértil, la principal

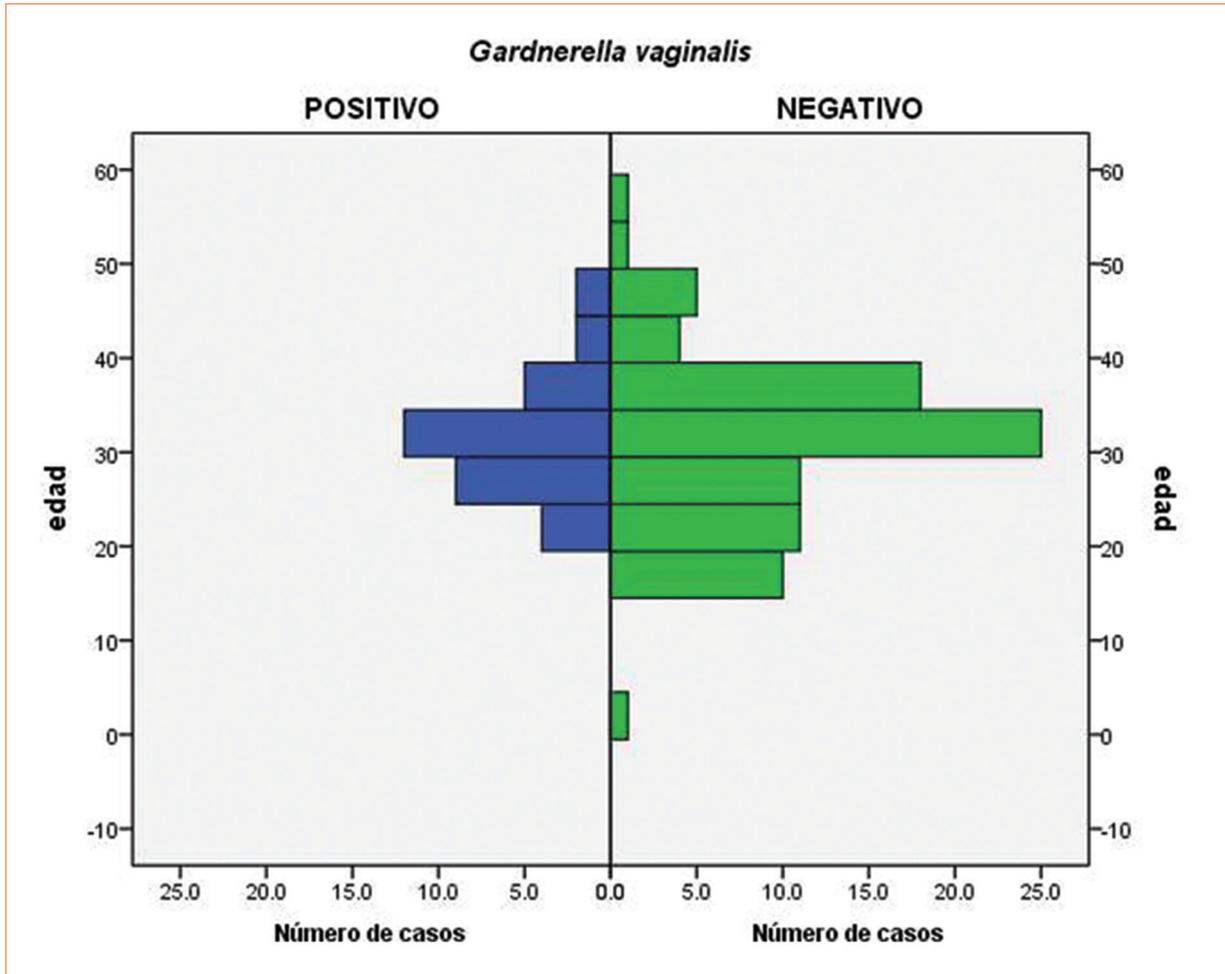


Figura 1. Edad de las pacientes que mostraron la infección por *Gardnerella vaginalis*.

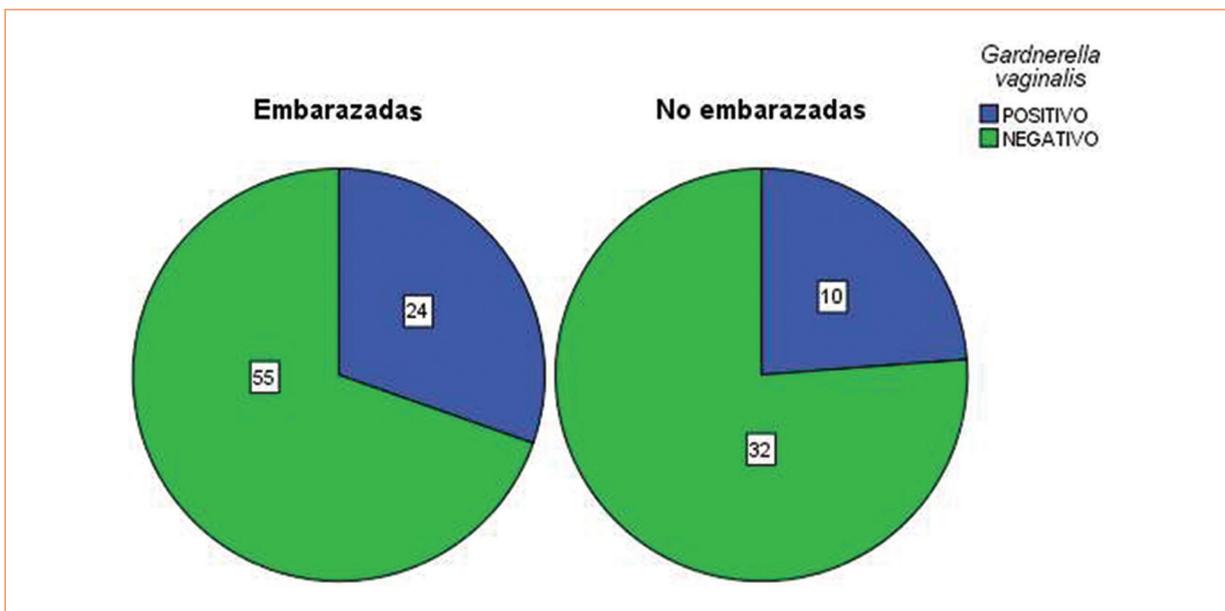


Figura 2. Número de mujeres embarazadas y no embarazadas que mostraron colonización por *Gardnerella vaginalis*.

Tabla 3. Géneros y especies de bacterias y protozoos identificados mediante análisis microbiológico y reporte citológico del virus de papiloma humano en mujeres que mostraron datos de cervicitis*

Género y especie	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Leptothrix</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	VPH	Microbioma Normal
<i>Candida albicans</i>	5		3			3		0
<i>Candida dubliniensis</i>						1		0
<i>Candida glabrata</i>		2	1	1		1		0
<i>Gardnerella vaginalis</i>	3		6			5		0
<i>Leptothrix</i>						2		0
<i>Mycoplasma hominis</i>						5		0
<i>Trichomonas vaginalis</i>			2			2		0
<i>Ureaplasma urealyticum</i>						37	2	0
Virus del papiloma humano						3	2	0
Microbioma normal	0	0	0	0	0	0	0	39

*Los números representan el número de casos en donde se asoció o no con otro microorganismo y los números en rojo con más de dos microorganismos involucrados.

Microorganismos que no mostraron asociación con otro germen.

Microorganismos que mostraron asociación con otro patógeno.

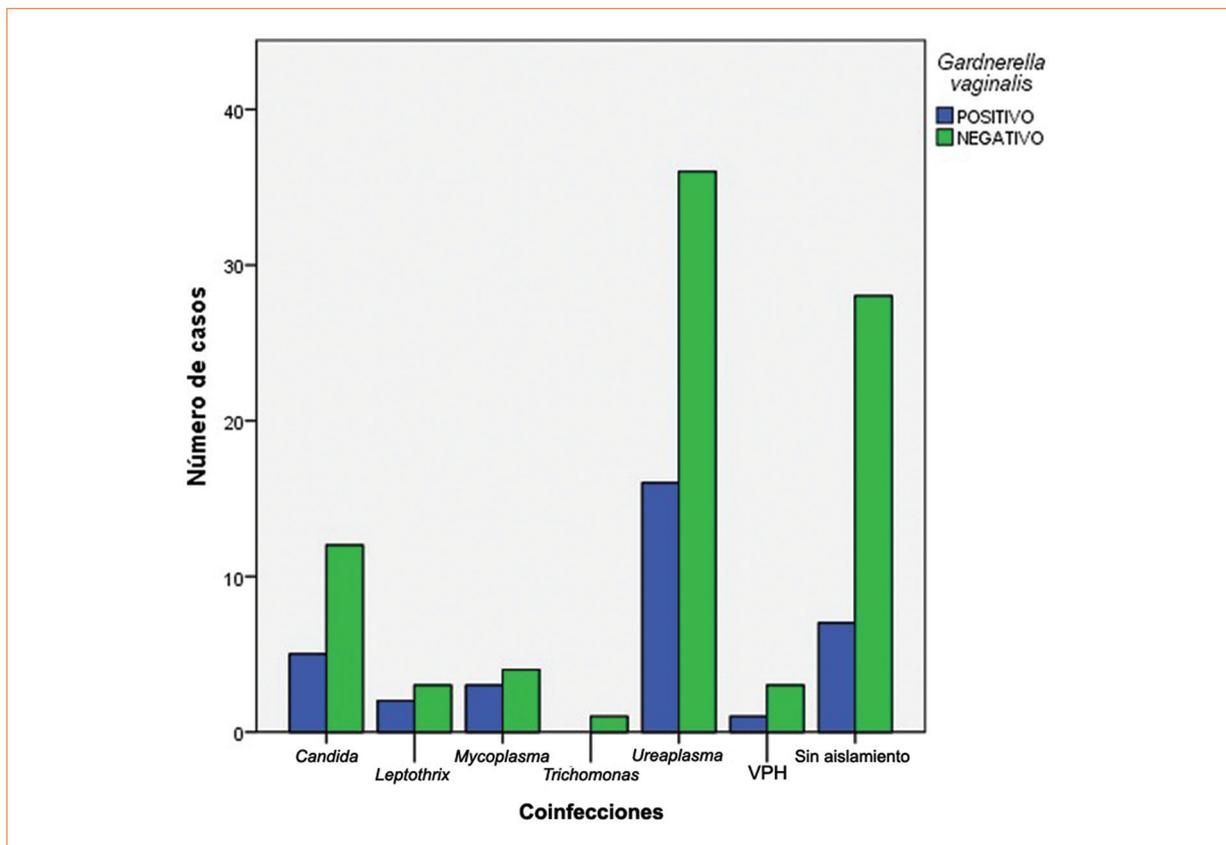


Figura 3. Número de casos de mujeres con infección por *Gardnerella vaginalis* en coinfección con bacterias, protozoos y virus. La detección de *G. vaginalis* se realizó mediante la técnica de PCR, la identificación de las bacterias y protozoos se realizó mediante análisis microbiológico y el virus mediante estudio citológico. PCR: reacción en cadena de la polimerasa.

causa se debe a un desajuste en el ecosistema vaginal, donde la población de lactobacilos predominante pasa hacia una colonización de bacterias anaeróbicas principalmente, *G. vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Mobiluncus*, *Prevotella* sp. y *A. vaginae*, entre otros microorganismos gramnegativos (todos ellos pueden ser transmitidos sexualmente). Esta condición presenta un espectro clínico que usualmente suele pasar inadvertido para la paciente, las únicas molestias suelen ser prurito y una secreción blanquecina mal oliente. Ese espectro clínico leve, unido al hecho de que la notificación de la VB no es obligatoria, hace que se desconozca su frecuencia real y que existan dudas en relación con esta condición, tal como ha sido señalado por el Centro de Control de Enfermedades de EE.UU. (CDC)^{10,11}.

En varios laboratorios de diagnóstico la vaginitis se inicia con la observación microscópica tanto en fresco como en Gram. De acuerdo con esta observación, se realizan los criterios de Amsel, Nugent y se realiza el cultivo microbiológico en medio Casman para la búsqueda intencionada de *G. vaginalis*¹², considerados como los métodos de referencia para la identificación de la VB. En este estudio, bajo el empleo de estas pruebas solo se logró identificar a *G. vaginalis* en el 14.6% de las muestras, mientras que mediante PCR se detectó *G. vaginalis* en el 30.3% de las muestras vaginales de las pacientes con cervicitis. Ambos resultados se encuentran dentro de los reportados en la literatura mundial, sin embargo la técnica de PCR fue 9.5 veces mayor y mejor para detectar la infección por este patógeno.

La VB puede presentarse en mujeres en etapa prepúber, púber, en edad reproductiva y posmenopáusica. Aproximadamente un 4-15% de las adolescentes con vida sexual activa pueden cursar con esta enfermedad; en mujeres embarazadas se ha detectado una cifra del 25% y en mujeres con enfermedades de transmisión sexual entre un 30 y 37% según lo reportado por Zúñiga y Tobar-Tosse¹¹.

En este estudio solamente hubo nueve (7.4%) adolescentes, y en ninguna de ellas se detectó *G. vaginalis*, cinco de ellas tuvieron *Ureaplasma*, dos presentaron *Candida albicans*, y en dos no se detectó ningún microorganismo. Por lo anterior, la población de adolescentes en este estudio no se encuentra dentro de los parámetros reportados por Zúñiga y Tobar-Tosse¹¹.

Aunque el agente etiológico de la VB más frecuentemente aislado es *G. vaginalis*, existen otros microorganismos que pueden provocar este padecimiento, una condición bastante prevalente, ocurriendo hasta en un 30% de la población¹¹. En este trabajo se encontró que

15 de las 34 muestras positivas para *G. vaginalis*, presentaron también *Ureaplasma*, representando el 44.1% de coinfección entre ambos microorganismos, hecho también reportado por Morris et al¹³.

Aun cuando la VB no depende exclusivamente de la presencia de *G. vaginalis*, se puede ver en los resultados que está presente en todos los grupos de edad contemplados en este estudio, predominando en el grupo de mujeres embarazadas, siendo sumamente importante en este grupo de pacientes, pues de acuerdo con lo reportado por Juliana et al.¹⁴, al principio del embarazo los cambios en los niveles hormonales afectan la composición del microbioma vaginal: las especies de *Lactobacillus* aumentan y *G. vaginalis* y otras bacterias anaeróbicas (facultativas) disminuyen progresivamente del primer al tercer trimestre. Siguiendo estos cambios, el microbioma vaginal permanece relativamente estable durante la mayor parte del embarazo. En el transcurso del embarazo, los cambios comúnmente implican transiciones entre diversas especies de lactobacilos. Diferentes especies del género *Lactobacillus* interactúan de manera diferente con el ambiente vaginal, lo que puede sugerir que cada especie puede contribuir al desarrollo de BV por medio de un mecanismo diferente¹⁵.

La disbiosis vaginal se ha relacionado con varios resultados adversos del embarazo, incluido el parto prematuro y una mayor susceptibilidad a las ITS.

Menard et al.¹⁶ investigaron el valor de la cuantificación molecular en el diagnóstico de VB. En dicho estudio, la cuantificación molecular también permitió la caracterización de una microflora intermedia correspondiente a una microflora vaginal tipo BV con altos niveles de *G. vaginalis* y *A. vaginae*^{16,17}, misma situación se presentó en este trabajo, donde la bacteria identificada en el mayor número de pacientes fue *G. vaginalis*.

Autores, como Riganelli et al.¹⁸, encontraron que el microbioma de la vagina es diferente al del endometrio, y que el ecosistema microbiano de la vagina es más estable cuando se encuentra en mayor cantidad *Lactobacillus crispatus* que *Lactobacillus iners* o una mezcla de lactobacilos. En este trabajo, en 55 de las 121 muestras cervicovaginales el microbioma encontrado consistió en lactobacilos o biota habitual.

Derivado de este trabajo se puede concluir que: a) aunque la tinción de Gram tiene un costo menor que cualquier prueba molecular, la interpretación de los frotis vaginales está sesgada por la subjetividad. Por el contrario, las pruebas moleculares evitan este problema y pueden ser muy útiles por sus valores predictivos de recaída de VB, pudiendo detectar cantidades muy bajas y coinfecciones; b) la posibilidad de obtener del hisopado

vaginal, la información cuantitativa y cualitativa sobre el microbioma vaginal; c) la PCR punto final con iniciadores específicos es de mayor sensibilidad para detectar *G. vaginalis*, (entre el 91.7 y 100%) y una especificidad diagnóstica del 86.28 al 97.05% según algunos estudios que utilizan el Kit PCR GeneProof *Gardnerella vaginalis*, y d) las diferencias genotípicas entre cepas de *G. vaginalis* podrían explicar diferentes fenotipos clínicos, tales como BV asintomática o la colonización de *G. vaginalis* en mujeres sanas. Las mujeres con evidencia de laboratorio de VB, pero sin síntomas, aún pueden tener un mayor riesgo de resultados adversos para la salud¹⁹.

Según lo anterior, es importante mencionar que en este trabajo hubo muestras con desarrollo de biota habitual, pero por PCR fueron positivas para *G. vaginalis*. De acuerdo con esto, es necesaria la continuidad de este trabajo: ampliando el número de muestras cervicovaginales, hacer la detección de factores de virulencia (como la sialidasa y la vaginolisina) de las muestras positivas para *G. vaginalis* y detectar cuántas cepas diferentes se tienen.

Financiamiento

El costo total del estudio fue parte de los protocolos: 2022-1-16 y 2022-1-19.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que los procedimientos seguidos se conformaron a las normas éticas del comité de experimentación humana responsable y de acuerdo con la Asociación Médica Mundial y la Declaración de Helsinki.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores han obtenido el consentimiento informado de los pacientes y/o sujetos referidos en el artículo. Este documento obra en poder del autor de correspondencia.

Uso de inteligencia artificial para generar textos. Los autores declaran que no han utilizado ningún tipo

de inteligencia artificial generativa en la redacción de este manuscrito ni para la creación de figuras, gráficos, tablas o sus correspondientes pies o leyendas.

Bibliografía

- Grobeisen DO, Mora VCD, Aguilera AMG, Helguera RAC. Cycle dynamics of women's microbiome in the urinary and reproductive systems. *J Clin Med.* 2023;12(12):4003.
- Santos FR, Casado MP, Méndez JO, Martínez MV, Jiménez AD, Cordoví AL. Efectividad del sistema de puntuación de Nugent en el diagnóstico de vaginosis bacteriana. *Rev Arch Med Camagüey.* 2017;21(6):729-39.
- Sanchez GEK, Contreras PA, Martínez AE, García ChD, Lizano M, de la Cruz-HE. Molecular epidemiology of bacterial vaginosis and its association with genital micro-organisms in asymptomatic women. *J Med Microbiol.* 2019;68(9):1373-82.
- Escobedo GMR, López HM, Gutiérrez TR, Guerra IFM. Prevalencia de Chlamydia trachomatis en mujeres del Hospital General de Zona No. 29. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2021;59(4):281-9.
- Catlin BW. Gardnerella vaginalis: Characteristics, clinical considerations, and controversies. *Clin Microbiol Rev.* 1992;5:213-37.
- Antonucci F, Mirandola W, Fontana C, Fontana C. Comparison between Nugent's and Hay/Ison scoring criteria for the diagnosis of bacterial vaginosis in WASP prepared vaginal samples. *Clin Investig (Lond).* 2017;7:89-93.
- Menard JP, Fenollar F, Raoult D, Boubli L, Bretelle F. Self-collected vaginal swabs for the quantitative real-time polymerase chain reaction assay of atropobium vaginae and Gardnerella vaginalis and the diagnosis of bacterial vaginosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012;31(4):513-8.
- Fraga Nodarse J, Rodríguez J, Fuentes O, Castex M, Fernández-Callejones A. Comparación entre 5 métodos para la extracción de ADN de triatomíneos: su utilización en la técnica de ADN polimórfico amplificado al azar. *Rev Cubana Med Trop.* 2004;56(3):208-13.
- Pillay K, Nzimande S, Naicker M, Ramsuran V, Tinarwo P, Abbai N. Prevalence of genotypes and subtypes of Gardnerella vaginalis in South African pregnant women. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2020;2020:3176407.
- Mengana PK, Salazar RD, Nicot GA, Expósito BLM, Mederos PL. *Gardnerella vaginalis*. Diagnóstico microbiológico en mujeres con edad fértil. *Rev Inf Cient.* 2014;87:855-64.
- Zúñiga A, Tobar TF. Vaginosis bacteriana por Gardnerella vaginalis: Nuevas enseñanzas desde la ecología molecular. *Salutem Scientia Spiritus.* 2015;1:29-37.
- Paladine HL, Desai UA. Vaginitis: Diagnosis and treatment. *Am Fam Physician.* 2018;97(5):321-9.
- Morris DJ, Jones LC, Davies RL, Sands K, Portal E, Spiller OB. MYCO WELL D-ONE detection of Ureaplasma spp. and Mycoplasma hominis in sexual health patients in Wales. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2020;39:2427-40.
- Juliana NCA, Peters RPH, Al-Nasiry S, Budding AE, Morré SA, Ambrosino E. Composition of the vaginal microbiota during pregnancy in women living in sub-Saharan Africa: a PRISMA-compliant review. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2021;21:596.
- Jespers V, van de Wijgert J, Cools P, Verhelst R, Verstraelen H, Delany MS, et al. The significance of Lactobacillus crispatus and L. vaginalis for vaginal health and the negative effect of recent sex: a cross-sectional descriptive study across groups of African women. *BMC Infect Dis.* 2015;15:115.
- Menard J, Fenollar F, Henry M, Bretelle F, Raoult D. Molecular quantification of Gardnerella vaginalis and Atopobium vaginae loads to predict bacterial vaginosis. *Clin Infect Dis.* 2008;47:33-43.
- Bradshaw CS, Tabrizi SN, Fairley CK, Morton AN, Rudland E, Garland SM. The association of Atopobium vaginae and Gardnerella vaginalis with bacterial vaginosis and recurrence after oral metronidazole therapy. *J Infect Dis.* 2006;194:828-36.
- Riganelli L, Iebba V, Piccioni M, Illuminati I, Bonfiglio G, Neroni B, et al. Structural variations of vaginal and endometrial microbiota: Hints on female infertility. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020;10:350.
- Ahmed A, Earl J, Retchless A, Hillier LS, Rabe KL, Cherpes LT, et al. Comparative genomic analyses of 17 clinical isolates of Gardnerella vaginalis provide evidence of multiple genetically isolated clades consistent with subspeciation into genovars. *J Bacteriol.* 2012;194:3922-37.