

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Instituto de Ciências Biológicas
Curso de Especialização em Microbiologia
Bruno Pinheiro Damasceno Florentino

Papel dos Bacteriófagos na Etiopatogenia da Vaginose Bacteriana

Belo Horizonte

2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Instituto de Ciências Biológicas
Curso de Especialização em Microbiologia
Bruno Pinheiro Damasceno Florentino

Papel dos Bacteriófagos na Etiopatogenia da Vaginose Bacteriana

Monografia apresentada ao Curso de Especialização em Microbiologia Aplicada à Ciência da Saúde do Instituto de Ciências Biológicas para obtenção do Título de Especialista em Microbiologia pela Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
Orientadora: Profa. Dra. Regina Maria Nardi Drummond.

Belo Horizonte

2013

**Dedico este trabalho aos amores da vida
que sempre souberam lidar com os meus
momentos difíceis.**

AGRADECIMENTOS

Agradeço;

A Deus por me iluminar e me fortalecer todos os dias. Aos meus amados amigos e familiares por estarem sempre ao meu lado.

Aos meus colegas de trabalho, pelas palavras sempre incentivadoras. Aos amigos que fiz durante o curso.

Aos professores e funcionários do Departamento de Microbiologia, pela disponibilidade, paciência e conhecimento transmitido.

E finalmente à minha orientadora, Professora Regina, por me acolher e me orientar. Obrigado pelo carinho.

“Pássaros criados em gaiolas acreditam que voar é uma doença.”

A. Jodorowsky

RESUMO

Vaginose bacteriana é a doença ginecológica mais comum do mundo. Caracteriza-se pela substituição da microbiota indígena vaginal, constituída principalmente por *Lactobacillus* sp., por uma série de bactérias anaeróbias como *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Prevotella* ssp., entre outras. Diversos fatores de risco foram identificados para a aquisição dessa doença, como: grande número de parceiros sexuais, tabagismo, uso de antimicrobianos sistêmicos, quimioterápicos, entre outros. Apesar da grande importância em saúde pública, essa doença ainda não possui uma causa identificada. Sabe-se que a produção de ácido láctico, peróxido de hidrogênio e bacteriocinas por *Lactobacillus* é capaz de proteger a mucosa vaginal de infecções por anaeróbios. Portanto, primeiro deve ocorrer a queda populacional dessas bactérias para que outras, anaeróbias obrigatórias, possam se multiplicar. A presença ou a infecção dessas células por bacteriófagos são o centro de algumas hipóteses que explicam essa queda populacional. A presença de *Lactobacillus* na mucosa vaginal, bem como dos bacteriófagos que infectam essas bactérias e sua importância na microbiota vaginal serão discutidas nesse trabalho.

Palavras – chaves: vaginose bacteriana, lactobacilos vaginais, *Lactobacillus*, bacteriófagos

ABSTRACT

Bacterial vaginosis is the most common gynecological disease in the world. Characterized by replacement of the vaginal microbiota, consisting mainly of *Lactobacillus* sp. by an anaerobic bacteria such as *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Prevotella* ssp., among others. Several risk factors have been identified for this disease, as large numbers of sexual partners, smoking, treatment with systemic antibiotics, chemotherapeutics, etc. Despite the great public health importance, this disease does not have any identified cause. It is known that the production of lactic acid, hydrogen peroxide and bacteriocins by lactobacillus is able to protect the vaginal mucosa of anaerobic infections. Thus first must occur the decrease of the lactobacillus population before other anaerobic bacteria can colonize these mucosa. Bacteriophages are the center of some hypothesis that explain these decline in lactobacilli population. The participation of lactobacilli in the vaginal mucosa, of bacteriophages that infect these bacteria and their importance in the vaginal microbiota are discussed in this work.

Key - words: bacterial vaginosis, vaginal lactobacilli, lactobacillus, bacteriophages.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	i
1. INTRODUÇÃO	- 9 -
2. METODOLOGIA	- 12 -
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	- 13 -
3.1 Microbiota Vaginal	- 13 -
3.2 Lactobacilos Vaginais	Erro! Indicador não definido.
3.3 Vaginose Bacteriana	Erro! Indicador não definido.
3.4 Bacteriófagos	- 30 -
3.5 Bacteriófagos de Lactobacilos e Microbiota Indígena Vaginal	- 34 -
4. CONCLUSÃO	- 38 -
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	- 39 -

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1** – Anatomia do sistema reprodutor feminino. Em destaque as cavidades (A) Tubas de falípio; (B) Cavidade uterina; (C) Endocérvice e (D) vagina (Fonte: brasilecola.com – Adaptado). _____ 13
- FIGURA 2** – Composição da microbiota indígena vaginal: Espécies de *Lactobacillus* e gêneros bacterianos frequentemente isolados de fluidos vaginais. (Dados extraídos de RAVEL, 2011). _____ 15
- FIGURA 3** – Porcentagem de mulheres colonizadas pelos grupos bacterianos, subdivididos pela etnia (Dados extraídos de RAVEL, 2011). _____ 19
- FIGURA 4** – Dinâmica da microbiota indígena vaginal em uma mulher colonizada por três espécies de *Lactobacillus* (*L. crispatus*, *L. jensenii* e *L. iners*) e *Gardnerella vaginalis*. Outras bactérias presentes não foram mostradas (SRINIVASAN, 2010 – Adaptado). _____ 20
- FIGURA 5** – Esquema de Infecção de um lactobacilo por bacteriófago lisogênico ou temperado (Adaptado de www.revistaciencias.com). _____ 32

1. INTRODUÇÃO

Em uma mulher saudável, o trato vaginal é constituído por uma microbiota complexa e balanceada, com cerca de 10^8 unidades formadoras de colônia por grama de fluido vaginal. Sendo mais abundantes os lactobacilos, conhecidos como bacilos de Döderlein (Al-Mushrif,1998; Anukam et al., 2005; Verhelst, 2006).

Estes bacilos metabolizam glicogênio, que é produzido quase que exclusivamente por células epiteliais vaginais, em ácido láctico, resultando acidificação do microambiente vaginal. Essa acidificação reduz o pH para cerca de 3,8 à 4,5, que em combinação com o peróxido de hidrogênio produzido por alguns lactobacilos aumenta a resistência à colonização por micro-organismos patogênicos (incluindo alguns sexualmente transmissíveis) no trato vaginal (Al-Mushrif,1998; Verhelst, 2006).

Lactobacilos podem ser considerados como indicadores da condição de equilíbrio da microbiota vaginal indígena no período compreendido entre a menarca e a menopausa. Dentre as espécies as mais comuns estão: *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus jensenii* e *Lactobacillus iners*. Sendo estas algumas das espécies mais produtoras de peróxido de hidrogênio do gênero *Lactobacillus* (Antonio et al., 1999).

Além dos bacilos de Döderlein, a microbiota bacteriana vaginal pode variar extremamente entre indivíduos. Tanto em abundância quanto em espécies. Essa população não-lactobacilar pode chegar a 10^6 unidades formadoras de colônia por grama de fluido vaginal, e pode conter uma gama extremamente grande de espécies, apontando a complexidade da microbiota vaginal. Dentre elas podem ser encontradas: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, espécies de *Corynebacterium*, *Prevotella*, *Peptostreptococcus*, *Gardnerella*, bactérias entéricas, dentre outras (Catlin, 1992; Al-Mushrif,1998; Antonio et al., 1999; Anukam et al., 2005).

A doença ginecológica mais comum no mundo, a vaginose bacteriana, caracteriza-se por um desequilíbrio da microbiota indígena, onde parte da população lactobacilar prevalentes no trato genital feminino é substituída por um misto de micro-organismos (principalmente anaeróbios obrigatórios) que geralmente incluem: *Gardnerella vaginalis*, bacilos como *Prevotella*, cocos como *Peptostreptococcus* sp., *Mycoplasma hominis*, *Ureoplasma urealyticum*, e bacilos curvos denominados *Mobiluncus* sp. (Westrom L. et al. 1984; Catlin, 1992; Hay, 1998; Larsson P. G. 2005).

Na última década, vários estudos foram realizados para se conhecer a população e os fatores de risco para a vaginose bacteriana. Grávidas apresentam uma prevalência entre 5 e 26%. A orientação sexual também se mostrou um fator de risco, visto que homossexuais apresentaram a maior taxa de prevalência estudada (entre 24 – 51%). Foram indicados também diversos fatores de risco comportamentais como número de parceiros sexuais nos últimos 12 meses, tabagismo, baixas condições sócio-econômicas, entre outras (Barbone et al., 1990; Pavlova et al., 2000). Como fatores protetores, que diminuem o risco de aquisição de vaginose bacteriana, foi comprovado o uso de anticoncepcionais orais e uso de preservativos (Barbone et al., 1990).

Apesar de apresentar uma epidemiologia amplamente estudada, a fisiopatologia da vaginose bacteriana ainda permanece desconhecida (Turovskiy et al. 2011). Sabe-se que a manutenção do pH ácido vaginal e secreção de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) realizada por lactobacilos de Döderlein são importantes para a saúde vaginal, mas não se sabe qual é o evento inicial desta doença. Estudos são realizados buscando entender o que pode causar a queda da população de lactobacilos e consequente queda na produção do peróxido de hidrogênio, protetores da saúde do trato vaginal (Morrisa et al. 2001).

Alguns estudos sugerem que a supressão de lactobacilos é causada pelo aumento exacerbado de bactérias anaeróbias causadoras da vaginose, outros estudos sugerem que a produção do H_2O_2 , mesmo em condições normais, não

protege totalmente a mulher da infecção por patógenos. Estudos também estão sendo realizados para detectar a presença de bacteriófagos que poderiam mediar a lise e a redução da população dos lactobacilos. A lise mediada por bacteriófagos pode causar a redução da população de bacilos de Döderlein, podendo ser o fator inicial para a instalação do quadro de vaginose bacteriana (Pavlova et al., 1997; Blackwell, 1999; Pavlova et al., 2000; Kiliç et al., 2001).

Desde então muitos estudos abordam essa área (Tao et al, 1997; Kiliç et al, 2001; Damelin et al 2011; Turovskiy et al. 2011). Foi proposto, por exemplo, que os bacteriófagos que infectam uma mulher podem ser transmitidos para outra, sugerindo ser um agente de transmissão sexual (Blackwell, 1999).

2. METODOLOGIA

Foi desenvolvida uma extensa pesquisa na literatura sobre a presença e o ciclo lítico de fagos em hospedeiros lactobacilos. Dando ênfase na sua associação com a queda da população lactobacilar indígena do trato vaginal e ocorrência de vaginose bacteriana.

Para realizar a busca, foram utilizados os sistemas de periódicos da Capes, Pubmed e Lilacs. Buscando pelo termo bacterial vaginosis e filtrando com os termos bacteriophage, phage e phaginosis.

Algumas referências utilizadas nos artigos buscados também foram incluídas no estudo.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Microbiota Vaginal

Anatomicamente, o sistema reprodutor feminino é constituído por uma sucessão de cavidades – tubas de falópio, cavidade uterina, endocervice e vagina – que se comunicam com o meio externo através da fenda vulvar (**FIGURA 1**). Essa estrutura permite a exteriorização do fluxo menstrual, o coito e a passagem do feto no momento do parto. Contrariamente, essa comunicação predispõe o ambiente vaginal e uterino a infecções por diversos microrganismos patogênicos que podem potencialmente afetar o processo reprodutivo.

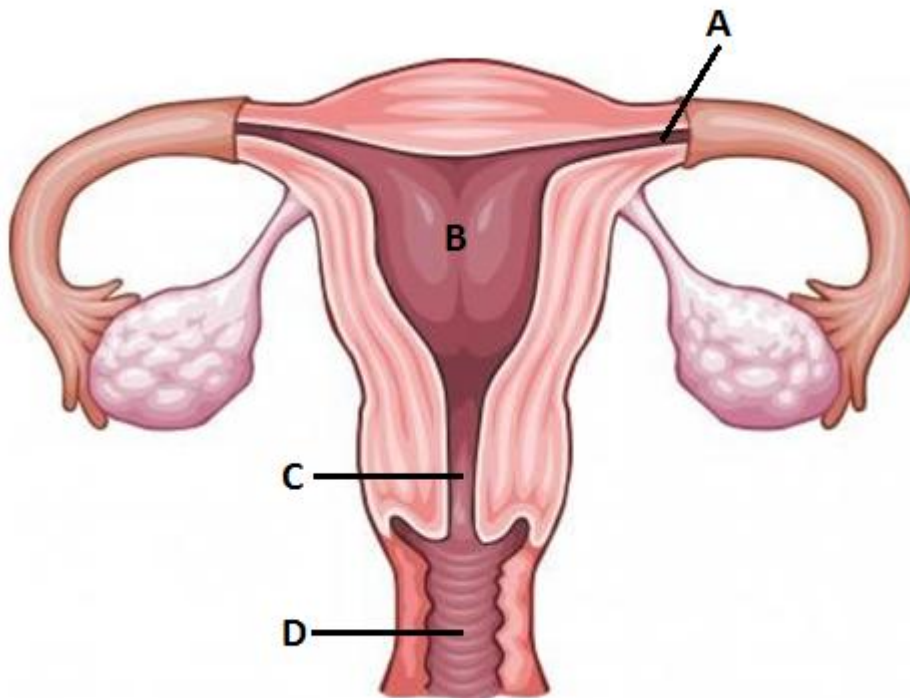


FIGURA 1 – Anatomia do sistema reprodutor feminino. Em destaque as cavidades (A) Tubas de falópio; (B) Cavidade uterina; (C) Endocérvice e (D) vagina.

(Fonte: brasilecola.com – Adaptado)

Um dos mecanismos de defesa mais importantes do ambiente vaginal é a manutenção de uma microbiota indígena, inócua, porém capaz de impedir a infecção dessa mucosa por microrganismos patogênicos (ARVDISSON, 2011; GRICE, 2012).

A microbiota indígena caracteriza-se pelos diversos microrganismos que colonizam as superfícies e mucosas de pessoas saudáveis. Essa colonização tem sua origem no nascimento, quando o feto deixa o ambiente estéril da placenta e tem contato com o meio externo. A colonização microbiana do ambiente vaginal também inicia-se nesse momento. A princípio, a microbiota vaginal da criança apresenta-se similar à da mãe, rica em *Lactobacillus* que são mantidos pela concentração residual de estrógeno materno circulante (DANIELSSON, 2011). À medida que esse hormônio é metabolizado, o número de *Lactobacillus* diminui e o pH vaginal aumenta, favorecendo a ocupação da vagina por bactérias da pele e das regiões anal, perianal e das fezes. Da infância à puberdade essa microbiota é composta por enterobactérias, estreptococcus, difteroides e espécies anaeróbias (THOMA, 2011). Durante a menarca ocorre o aumento do aporte de estrógeno e consequente elevação na produção e acúmulo de glicogênio pelas células epiteliais, favorecendo novamente a colonização por *Lactobacillus* que passam a fazer parte da microbiota indígena das mulheres durante toda a idade reprodutiva (SPURBECK, 2011; DANIELSSON, 2011; THOMA, 2011).

A microbiota vaginal rica em *Lactobacillus* apresenta uma ação protetora da mucosa por diversos mecanismos: (1) efeito anti-inflamatório ao epitélio vaginal; (2) competição direta por sítios de colonização na superfície epitelial; (3) inibição da adsorção do patógeno e (4) produção de metabólitos ativos como ácido láctico, peróxido de hidrogênio e bacteriocinas. Esses fatores em conjunto diminuem a estabilidade de partículas virais como o HIV e o crescimento de bactérias anaeróbias (catalase negativas e positivas) (DOVER, 2008; SPURBECK, 2011; SCHELLENBERG, 2012; GRICE, 2012).

Em uma mulher saudável, o trato vaginal é constituído por uma microbiota complexa e balanceada, com cerca de 10^9 cópias de DNA microbiano por

grama de fluido vaginal (RAVEL, 2011; JESPERS, 2012; SHIPITSYNA, 2013). Um estudo envolvendo 397 mulheres saudáveis em idade fértil identificou a presença de 282 filotipos bacterianos diferentes colonizando o ambiente vaginal (RAVEL, 2011). Dentre os microrganismos predominantes, encontra-se o gênero *Lactobacillus*, pertencente ao grupo das bactérias do ácido láctico (BAL), geralmente correspondendo a mais de 70% da microbiota total (RAVEL, 2011; JESPERS, 2012; GRICE, 2012; SHIPITSYNA, 2013). Outros gêneros bacterianos podem ser encontrados, principalmente em estudos envolvendo métodos de PCR (FIGURA 2) (RAVEL, 2011; SHIPITSYNA, 2013). Essa microbiota complexa apresenta grandes variações. Estudos apontam diferenças quando comparada a microbiota de mulheres de diferentes regiões geográficas, entre mulheres de uma mesma região e na mesma mulher em diferentes situações fisiológicas como idade, ciclo menstrual, gravidez e menopausa (VERSTRAELEN, 2009; BRANCO, 2010; SRINIVASAN, 2010; DAMELIN, 2011; THOMA, 2011; RAVEL, 2011; GRICE, 2012).

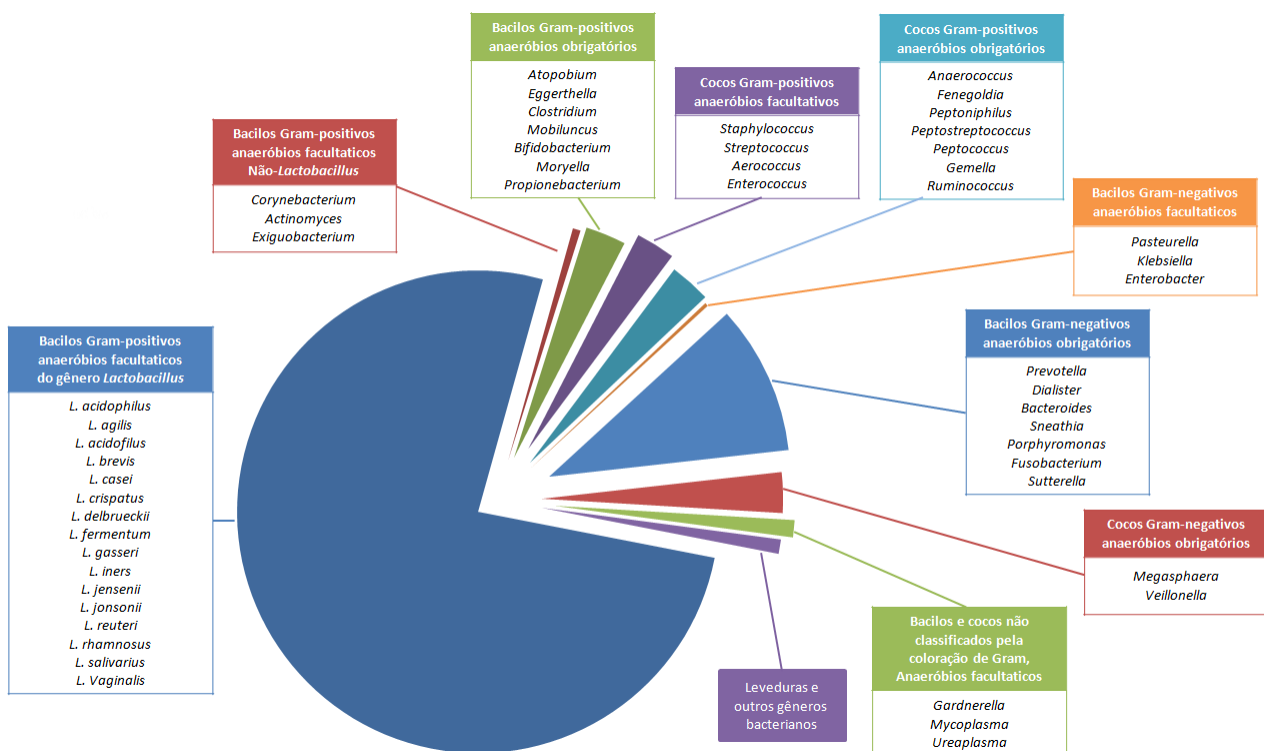


FIGURA 2 – Composição da microbiota indígena vaginal: Espécies de *Lactobacillus* e gêneros bacterianos frequentemente isolados de fluidos vaginais. (Dados extraídos de RAVEL, 2011).

O grupo nomeado “bactérias do ácido láctico”, principal colonizador do ambiente vaginal (GRICE, 2012), apresenta um caráter funcional, sendo formado por diversos gêneros bacterianos que apresentam características fisiológicas em comum. Todos eles fermentam açúcares em ácido láctico, apresentam coloração Gram-positivas, não formam esporos e são catalase negativas, crescendo em ambiente anaeróbio ou microaeróbio (PEDERSEN, 2012). Dentre os gêneros mais importantes desse grupo estão *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Enterococcus* e *Weissella* (VUYST, 2007; PEDERSEN, 2012). São ubiqüitários no ambiente e nas mucosas de humanos e animais, além de extensamente utilizadas em processos industriais. (VUYST, 2007; ADRIO, 2010).

Os lactobacilos que colonizam a superfície da mucosa vaginal são conhecidos como bacilos de Döderlein (DÖDERLEIN, 1892). Estes bacilos metabolizam o glicogênio, que é produzido quase que exclusivamente por células epiteliais vaginais, em ácido láctico, resultando em acidificação do microambiente vaginal. Essa acidificação reduz o pH para cerca de 4,5 à 3,8 (RAVEL, 2011; HICKEY, 2012; PEDERSEN, 2012), que em combinação com o peróxido de hidrogênio e bacteriocinas produzido por algumas espécies aumenta a resistência à colonização por microrganismos patogênicos (incluindo alguns sexualmente transmissíveis) no trato vaginal (SPURBECK, 2011; HICKEY, 2012). Os Lactobacilos, então, são considerados como indicadores da condição de equilíbrio da microbiota vaginal indígena no período compreendido entre a menarca e a menopausa, e apresenta grande importância na manutenção da saúde ginecológica da mulher (SPURBECK, 2011; GRICE, 2012).

3.2 Lactobacilos Vaginais

Os *Lactobacillus* fazem parte de um grupo funcional chamado de bactérias do ácido láctico. Participam desse grupo outros gêneros como *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Enterococcus* e *Weissella*, no qual todas apresentam o ácido láctico como produto final majoritário da fermentação de carboidratos (PEDERSEN, 2012; SALVETTI, 2012).

O Gênero *Lactobacillus* apresentam 152 espécies até a presente data (SALVETTI, 2012). São Gram-positivos, não formadores de esporos e ocorrem como bacilos ou cocobacilos. Eles são fermentadores, microaerófilos e quimio-organotróficos, requerendo meios ricos para o seu crescimento. São catalase negativos, porém podem apresentar atividade pseudo-catalase em algumas linhagens. Também são oxidase, gelatinase e benzidina negativos, não reduzem nitratos a nitritos e são incapazes de utilizar lactato. O DNA genômico apresenta baixo conteúdo G+C (SALVETTI, 2012), sendo o de maior frequência com 59,2% (*Lactobacillus nasuensis*) (CAY, 2012). A temperatura de crescimento está entre 2 e 53°C e a faixa de pH entre 3 e 8. Ótimas condições de crescimento são atingidos quando cultivados entre 30 e 40°C e pH 5,5 e 6,2 (FELIS, 2007; SALVETTI, 2012). São ubiqüitários, podendo ser encontrados onde houver carboidratos disponíveis como no meio ambiente (sedimentos, cursos d'água e esgoto), alimentos (laticínios, produtos fermentados, carnes, vegetais e bebidas), cavidade oral, gastro-intestinal e principalmente vaginal de humanos e animais (FELIS, 2007; VUYSTA, 2007; GAJER, 2012; SALVETTI, 2012).

Os *Lactobacillus* são o principal gênero isolado do microambiente vaginal de mulheres saudáveis em idade reprodutiva. Mais de 20 espécies de *Lactobacillus* já foram isoladas desse ambiente em diversas pesquisas em todo o mundo (**TABELA 1**) (JIN, 2006; BROLAZO, 2009; BRANCO, 2010; DAMELIN, 2011; RAVEL, 2011; JESPER, 2012; GRICE, 2012; SHIPITSYNA, 2013). Aparente abundância de espécies se correlaciona com a complexidade

desse ambiente, dificultando a indicação de uma espécie marcadora da saúde vaginal e a formulação de probióticos (SPURBECK, 2011). Entretanto, mulheres na idade fértil são colonizadas por apenas poucas espécies, geralmente uma ou duas concomitantemente (BRANCO, 2010; RAVEL, 2011; SHIPITSYNA, 2013). Dentre todas as espécies isoladas desse ambiente, algumas se mostram mais importantes, a saber: *L. crispatus*, *L. iners*, *L. gasseri* e *L. jensenii*, *L. jonsonii*, *L. vaginalis* (BRANCO, 2010; RAVEL, 2011). Entre 72 e 81% das mulheres saudáveis em idade fértil apresentam a microbiota vaginal dominada por uma das quatro primeiras espécies (RAVEL, 2011; JESPERS, 2012; SHIPITSYNA, 2013). Dentre as espécies do gênero, o *Lactobacillus crispatus* é o mais fortemente associado ao baixo pH vaginal (pH<4,5) e a produção de peróxido de hidrogênio. (HUMMELEN, 2010; RAVEL, 2011).

TABELA 1 - Principais espécies de *Lactobacillus* isoladas de fluidos vaginais

Principais espécies de *Lactobacillus* isolados do ambiente vaginal

L. antri, *L. acidophilus*, *L. agilis*, *L. coleohominis*, *L. crispatus**, *L. delbrueckii*,
L. fermentum, *L. gasseri**, *L. iners**; *L. jensenii**, *L. jonsonii**, *L. kitasatonis*, *L. mucosae*, *L. paracasei*, *L. plantarum*, *L. pontis*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus*, *L. ruminus*, *L. saerimneri*, *L. salivarius*, *L. vaginalis**.

*Espécies mais prevalentes (JIN, 2006; BROLAZO, 2009; BRANCO, 2010; DAMELIN, 2011; RAVEL, 2011; JESPERS, 2012; GRICE, 2012; SHIPITSYNA, 2013).

Em um estudo com 394 mulheres Ravel et al. (2011) propuseram a formação de 5 grupos, os quais representariam os tipos de microbiota vaginal encontrado em todas as mulheres saudáveis em idade reprodutiva. O grupo 1 formado por mulheres com microbiota vaginal predominantemente formada por *L. crispatus* (presente em 26,2% do total de mulheres); o grupo 2 predominantemente formada por *L. gasseri* (6,3% do total); o grupo 3 por *L. iners* (34,1% do total de mulheres, sendo o mais predominante); O grupo 4, chamado de “grupo

diverso”, embora identificada a presença espécies de *Lactobacillus* em 98,3% das amostras, havia predominância de bactérias de outros gêneros como *Prevotella*, *Sneathia*, *Megasphaera* e *Streptococcus*. Finalmente, o grupo 5 foi representado por mulheres com microbiota predominantemente formada por *L. jensenii* (presente em 5,3% do total) (RAVEL, 2011).

Foram observadas diferenças estatisticamente significantes na distribuição desses grupos de acordo com a etnia, como mostra a **FIGURA 3**. Observa-se uma maior porcentagem de mulheres negras e hispânicas colonizadas pelo grupo IV, com predominância de bactérias anaeróbias, quando comparadas as brancas e asiáticas. Em contrapartida essas últimas apresentam maior taxa de colonização por *L. crispatus* (grupo I) e *L. jensenii* (grupo V), fato que pode estar relacionado ao menor risco de vaginose bacteriana entre essas mulheres (SMART, 2004; ALLSWORTH, 2007; RAVEL, 2011). Diferenças na composição da microbiota em relação à idade da mulher não foram observadas quando comparadas dentro de um mesmo grupo ou em grupos étnicos diferentes (RAVEL, 2011).

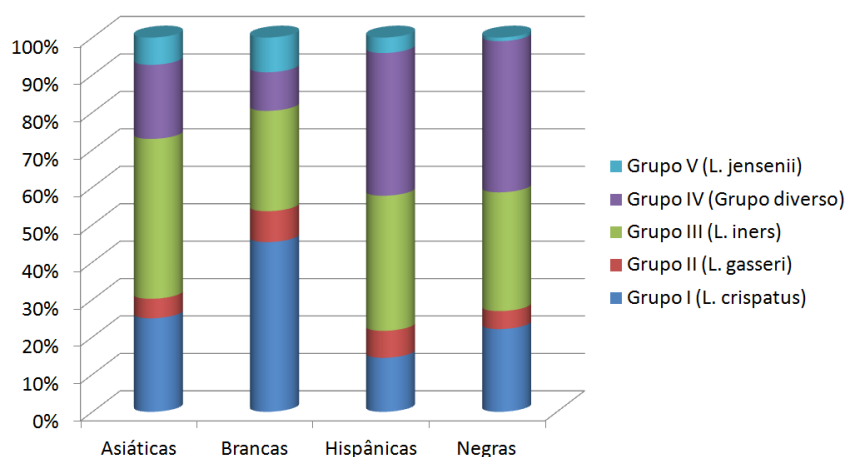


FIGURA 3 – Porcentagem de mulheres colonizadas pelos grupos bacterianos, subdivididos pela etnia (Dados extraídos de RAVEL, 2011).

O ciclo menstrual é estimulado por variações hormonais que alteram o epitélio e secreções vaginais de forma impactante para a microbiota desse ambiente. Estudos de coorte monitoraram a microbiota vaginal durante o ciclo menstrual de dezenas de mulheres e revelou que populações de *L. crispatus* e *L. jensenii* decrescem durante o fluxo menstrual, sendo inversamente proporcionais à população de *Gardnerella vaginalis*, que aumenta sua população durante os dias de sangramento. Ao contrario, mulheres colonizadas com *L. iners* apresentam um aumento dessa população durante o fluxo sanguíneo da menstruação, da mesma forma que a *G. vaginalis* (SRINIVASAN, 2010; GAJER, 2012). Essa observação corrobora o fato de que ambas essas bactérias são facilmente cultivadas em ágar sangue (FALSEN, 1999; SRINIVASAN, 2010). A população de *L. iners* também cresce rapidamente durante o tratamento da Vaginose bacteriana com metronidazol, sugerindo que esse lactobacilo preenche o nicho ocupado por *G. vaginalis* (FIGURA 04) (SRINIVASAN, 2010).

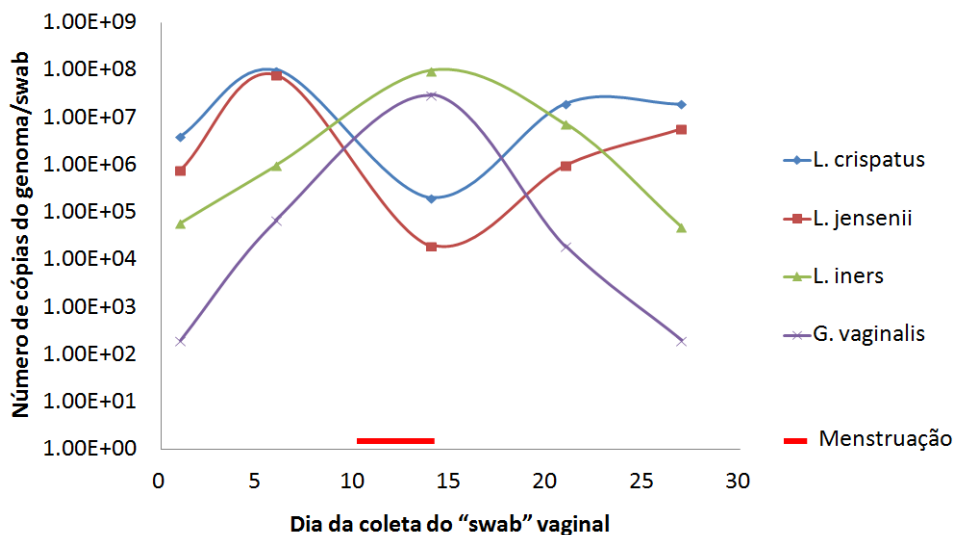


FIGURA 4 – Dinâmica da microbiota indígena vaginal em uma mulher colonizada por três espécies de *Lactobacillus* (*L. crispatus*, *L. jensenii* e *L. iners*) e *Gardnerella vaginalis*. Outras bactérias presentes não foram mostradas (SRINIVASAN, 2010 – Adaptado).

L. iners apresenta características muito distintas dos outros *Lactobacillus*. Não é cultivável em meios de cultura, MRS ou Rogosa, utilizados para o isolamento de bactérias do gênero e apresenta conteúdo G+C abaixo da média de outros *Lactobacillus* (34,4%) (FALSEN, 1999).

Um estudo de coorte avaliou a microbiota vaginal de 77 mulheres grávidas e mostrou que o número de *Lactobacillus* tende a diminuir nesse ambiente durante a gestação (VERSTRAELEN, 2009). Entretanto a taxa de diminuição varia de acordo com a espécie que inicialmente coloniza a mulher, sendo pequena em *L. crispatus* e grande em *L. gasseri* e *L. iners*. Concluiu-se, então, que mulheres que inicialmente são colonizadas por *L. crispatus* tem menor chance em desenvolver doenças como vaginose bacteriana, durante a gestação (**TABELA 2**) (VERSTRAELEN, 2009).

TABELA 2 – Variação numérica e percentual do número de mulheres que apresentaram culturas positivas para *L. crispatus*, *L. jensenii* e *L. gasseri/iners* na microbiota vaginal.

	Número de Amostras positivas durante a gestação		
	1º Trimestre	2º Trimestre	3º Trimestre
L. crispatus	39 (100%)	37 (94,9%)	36 (92,3%)
L. jensenii	20 (100%)	18 (90%)	16 (80%)
L. gasseri / iners	43 (100%)	36 (83,7%)	30 (69,8%)

A microbiota indígena vaginal de 132 mulheres contaminadas pelo vírus da imunodeficiência humana foi avaliada por Hummelen em 2010. Em seus resultados avaliou que a infecção pelo HIV não é fator de risco para mudança do perfil bacteriano vaginal dessas mulheres. Todas apresentaram microbiota de mulheres saudáveis ou com quadro de vaginose bacteriana característico (HUMMELEN, 2010).

Mulheres de diferentes nacionalidades, vivendo em países geograficamente distantes, apresentam diferença na composição da microbiota vaginal. Estudo realizado com 107 mulheres americanas e 102 turcas mostrou similaridades na colonização por *L. crispatus*, *L. gasseri* e *L. jensenii*, porém a espécie *L. fermentum*, presente em 10% das americanas, não foi isolada de mulheres turcas (KILIÇ, 2001). Comparando a microbiota vaginal de 128 Sul-Coreanas com 210 Ugandensas, JIN et al. (2006) identificou que 20% das mulheres sul-coreanas eram colonizada por *L. fermentum*, enquanto não houve identificação desse lactobacilo na população ugandesa. Em contrapartida, *L. gasseri*, *L. reuteri* e *L. vaginalis* foram isolados com frequência apenas em ugandensas (JIN, 2006).

No Brasil, poucos estudos relativos à composição da microbiota vaginal foram realizados (MARTINEZ, 2008; BROLAZO, 2009; BRANCO, 2010). Foi identificado que 87,5% das mulheres ginecologicamente saudáveis apresentaram pelo menos 1 espécie de *Lactobacillus* na microbiota vaginal (MARTINEZ, 2008; BRANCO, 2010) com uma média de 1,9 espécies por mulher (BRANCO, 2010). Os isolados mais frequentes foram *L. crispatus*, *L. johnsonii*, *L. jensenii* e *L. gasseri*. Utilizando metodologia molecular independente de cultivo, Martinez (2009) também identificou *L. iners* como uma das espécies mais comuns em brasileiras (MARTINEZ, 2009).

Ainda em estudos brasileiros, Branco (2010) observou que 55,3% ($P < 0,05$) dos *Lactobacillus* isolados de mulheres saudáveis apresentaram antagonismo contra outras linhagens de *Lactobacillus*, bem como *G. vaginalis* e *Mobiluncus mulieris*, enquanto os isolados de mulheres com vaginose bacteriana apresentaram apenas 30,6% de antagonismo. O potencial para inibir o crescimento de outros microrganismos foi explicado pela maior produção de H_2O_2 e ácido láctico nessas linhagens (BRANCO, 2010).

A microbiota indígena vaginal sofre variações quantitativas e qualitativas durante o ciclo menstrual e gravidez, entretanto a população lactobacilar normal permanece superior às demais populações microbianas em diversas vezes, promovendo a proteção do epitélio vaginal à colonização por patógenos (VERSTRAELEN, 2009; SRINIVASAN, 2010; SPURBECK, 2011; SHIPITSYNA, 2013). Entretanto, essa microbiota indígena vaginal, abundante e complexa, por motivos até então desconhecidos, pode ser substituída por uma população bacteriana predominantemente anaeróbia, o que caracteriza o quadro chamado de vaginose bacteriana (SPURBECK, 2011; HICKEY, 2012).

3.3 Vaginose Bacteriana

A vaginose bacteriana é a doença ginecológica mais prevalente em mulheres na idade reprodutiva, acometendo cerca de um terço da população feminina norte-americana (ALLSWORTH, 2007). É caracterizada pelo desequilíbrio da microbiota indígena vaginal, onde parte da população lactobacilar predominante é substituída por um misto de microrganismos (principalmente anaeróbios estritos) que geralmente incluem *G. vaginalis*, *Atopobium vaginae*, *Mycoplasma hominis*, *Leptotrichia amnionii*, *Sneathia sanguinegens* e outras dos gêneros *Megasphaera*, *Mobiluncus*, *Eggertella*, *Peptostreptococcus* e *Prevotella* (HINCHLIFFE, 2010; HICKEY, 2012). Embora de grande importância epidemiológica, não se conhece a causa ou o motivo específico para que essa substituição microbiana ocorra (HICKEY, 2012).

A sintomatologia dessa doença engloba corrimento vaginal com odor fétido (geralmente aumentado no período menstrual e durante o sexo), ardor ao urinar, prurido e dor às relações sexuais. Entretanto, em cerca de 50% das ocorrências, esse desequilíbrio da microbiota vaginal não apresenta sintomas aparentes (WHO, 2005; MINISTERIO DA SAÚDE, 2006; ALLSWORTH, 2007; CDC, 2007). É tida pelos órgãos de saúde pública como uma doença endógena, não sexualmente transmissível. Estudos ainda revelam que tratar o parceiro sexual com antibióticos não traz benefícios e não diminui o risco de recorrência na mulher (WILSON, 2004; MEHTA, 2012).

Clinicamente, o diagnóstico pode ser feito pela presença ou aumento de corrimento vaginal, pH acima de 4,5 e odor de aminas após a adição de hidróxido de potássio na secreção vaginal (WATTS, 2012; POWELL, 2012). Em microscopia, o diagnóstico é completado pela realização de esfregaços vaginais no qual há a visualização de células epiteliais da mucosa adsorvidas por grande quantidade de bactérias cocobacilares, denominadas “clue cells” (FORSUM, 2005; POWELL, 2012).

Contra-pondo-se à relativa simplicidade ou ausência dos sintomas iniciais, é comprovado que essa síndrome predispõe a vários agravos à saúde da mulher. Mulheres com vaginose bacteriana apresentam maior risco de aquisição e transmissão do vírus HIV (ATASHILI, 2008; COHEN, 2012), do vírus da herpes do tipo 2 (CHERPES, 2003), do vírus do papiloma humano (GILLET, 2011), de infecções bacterianas por *Neisseria gonorrhoeae* e *Chlamydia trachomatis* (WIENSENFELD, 2003), infecções pós-abortivas (LARSSON, 1992), pós-operatórias (SOPER, 1990) e a formação de lesões cervicais pré-cancerosas (GILLET, 2012). Durante a gravidez, mulheres com vaginose bacteriana apresentam um maior risco de aborto espontâneo (DONDERS, 2000; DONDERS, 2009), parto prematuro (HILLIER, 1995; DONDERS, 2009), corioamionite (inflamação das membranas fetais) (HILLIER, 1988) e infecções pós-parto (WATTS, 1990) (**TABELA 3**).

No Brasil, um estudo realizado por Camargo (2005) revelou o parto prematuro ocorre em 22,5% das mulheres com vaginose bacteriana, enquanto apenas em 3,7% quando a doença é tratada. O risco de outras complicações durante a gestação está aumentando em 7,5 vezes em mulheres com a síndrome, mesmo quando assintomática (CAMARGO, 2005). Desde então, visto a alta prevalência e os agravos à saúde que essa doença pode trazer, a vaginose bacteriana recebe atenção de diversos órgãos de promoção da saúde pública e é alvo de diversas ações sociais. (WHO, 2005; MINISTERIO DA SAÚDE, 2006; CDC, 2007).

TABELA 3 – Risco para ocorrência de agravos à saúde em mulheres apresentando Vaginose Bacteriana quando comparado com mulheres sem a doença.

Agravos à saúde	Risco para mulheres com vaginose bacteriana (em número de vezes maior que mulheres saudáveis)	Referência
Aquisição de HIV	1,6 (95% IC 1,2 – 2,1)	Atashili, 2008
Transmissão de HIV para parceiros masculinos	3,17 (95% IC 1,37 – 7,33)	Cohen, 2012
Aquisição de herpes genital	2,1 (95% IC 1,0 – 4,5)	Cherpes, 2003
Aquisição do vírus do papiloma humano	1,43 (95% IC 1,11 – 1,84)	Gillet, 2011
Infecção por Neisseria gonorrhoeae	4,1 (95% IC 1,7 – 9,7)	Wiesenfeld, 2003
Infecção por Chlamydia trachomatis	3,4 (95% IC 1,5 – 7,8)	Wiesenfeld, 2003
Infecções pós-abortivas	3,2	Larsson, 1992
Infecções pós-operatórias	3,2 (95% IC 1,5 – 6,7)	Soper, 1990
Aborto espontâneo	5,4 (95% IC 2,5 – 11)	Donders, 2000
	6,6 (95% IC 2,1 – 20,9)	Donders, 2009
Lesões pré cancerosas cervicais	1,51 (95% IC 1,24 – 1,83)	Gillet et al., 2012
Parto prematuro	1,4 (95% IC 1,1 – 1,8)	Hillier, 1995
	2,4 (95% IC 1,1 – 4,7)	Donders, 2009
Corioamionite	3,2 (95% IC 1,1 – 6,6)	Hillier, 1988
Infecções pós parto	6,1 (95% IC 3,3 – 15,9)	Watts, 1990

Estudos epidemiológicos indicam que algumas etnias e comportamentos predispõe à aquisição da vaginose bacteriana. Mulheres negras e hispânicas apresentam um risco 3,3 (95% IC 2,58 – 3,80) e 1,29 (95% IC 0,99 – 1,69) maior, respectivamente, de adquirir essa síndrome quando comparadas com mulheres caucasianas e asiáticas (ALLSWORTH, 2007). Um estudo norte-americano avaliou a prevalência de Vaginose bacteriana em 1938 mulheres, concluiu que ter uma experiência sexual é fator de risco para a vaginose, porém essa não é uma doença exclusiva da população sexualmente ativa. A prevalência observada foi de 28% em mulheres com alguma experiência sexual e de 18% em mulheres virgens (YEN, 2003). Outro estudo equatoriano com 779 mulheres jovens identificou frequências de VB similares entre virgens (31,2%) e não-virgens (32,5%) (VACA, 2009).

Dentre as que já relataram experiências sexuais, o número de parceiros sexuais é fator de risco para o desenvolvimento de vaginose bacteriana. Apresentar três ou mais parceiros sexuais no intervalo de um ano aumenta o risco em 1,6 vezes (95% IC 1,90 – 2,04) (SMART, 2004), 5 ou mais parceiros aumenta o risco para 1,8 vezes (BRADSHAW, 2013). Em mulheres jovens, idade entre 17 e 21 anos, o risco de vaginose bacteriana é ainda maior para as que apresentam três ou mais parceiros no último ano: 7,1 vezes maior (95% IC 2,7 – 18,4) (FETHERS, 2009). Homossexuais apresentaram risco duas vezes maior para aquisição de vaginose bacteriana quando comparado às heterossexuais, em todos os estudos epidemiológicos até a presente data (EVANS, 2007; MARRAZZO, 2010; BRADSHOW, 2013).

Como comportamentos protetores, ou seja, aqueles que diminuem os riscos de aquisição da vaginose bacteriana, estão: uso de preservativos com 0,8 (95% IC 0,8 – 0,9) (FETHERS, 2008) e uso de contraceptivos orais baseados em estrógeno com 0,5-0,6 de chance quando comparadas as mulheres que não fazem uso (SMART, 2004; FETHERS, 2008; BRADSHOW, 2013).

A grande importância da vaginose bacteriana para a saúde pública e a ausência de etiopatologia definida instigam grupos de pesquisa em todo o mundo (TUROVSKIY, 2011). Uma vez que bactérias anaeróbias responsáveis por essa doença estão presentes em mulheres saudáveis, ou causando doença em virgens e homossexuais, a hipótese da BV ser uma doença sexualmente transmissível não é verdadeira. Atualmente, duas hipóteses são utilizadas para explicar a etiologia das vaginoses: (1) A hipótese do lactobacilo incompetente, no qual a produção insuficiente de ácido láctico, peróxido de hidrogênio e bacteriocinas seria insuficiente para impedir a colonização exacerbada por bactérias anaeróbias e; (2) a hipótese fágica, na qual bacteriófagos provenientes do ambiente e alimentos contendo outros lactobacilos poderiam ser os responsáveis pela lise de *Lactobacillus* vaginais e favorecimento da multiplicação de bactérias anaeróbicas (TUROVSKIY, 2011).

Pavlova e colaboradores (1997) apontou que os *Lactobacillus* colonizadores da mucosa vaginal, quando estimulados por fatores externos como mitomicina C, sofrem lise liberam para o meio ambiente diversos bacteriófagos (PAVLOVA, 1997). Logo, dois anos após, surge uma hipótese indicando que bacteriófagos poderiam ser a causa inicial da vaginose bacteriana, na qual vírus infectariam a população de *Lactobacillus* vaginais causando o seu extermínio e favorecendo o crescimento da população de bactérias anaeróbias (BLACKWELL, 1999). Essa infecção teria o nome de Faginose. Estudos Africanos e Norte americanos apontaram uma alta taxa de lisogenização de *Lactobacillus* isolados do ambiente vaginal (KILIÇ, 2001; DAMELIN, 2011), ou seja, uma grande quantidade de isolados - cerca de 30 a 77%, dependendo da espécie - apresentam genoma de vírus integrados ao genoma bacteriano e, quando estimulados por fatores externos como DMPE (substância tóxica presente no cigarro) ou mitomicina C, sofrem lise e liberam para o meio ambiente diversos vírus infectantes, capazes de infectar células de outros lactobacilos da mesma mulher ou de outras mulheres (PAVLOVA, 2000; KILIÇ, 2001; DAMELIN, 2011).

Uma abordagem mais recente sugere uma importância ainda maior para os bacteriófagos de *Lactobacillus* vaginais. Durante o estado lisogênico, quando o genoma do fago está integrado ao genoma bacteriano, esse poderia conferir vantagens à célula hospedeira, favorecendo de alguma forma sua fixação em células epiteliais da mucosa ou seu crescimento em um ambiente menos favorável (DAMELIN, 2011). Esse mecanismo já foi observado em *Streptococcus pneumoniae* e seu fago MM1 durante a colonização da nasofaringe e para diversas bactérias ambientais (LOEFFLER, 2006).

3.4 Bacteriófagos

Os bacteriófagos, ou fagos, são os vírus que infectam bactérias. São a forma de vida mais abundantes da terra, ultrapassando a população bacteriana em cerca de 10 vezes (WEINBAUER, 2004; CLOKIE, 2011; MARCÓ, 2012). Como parasitas obrigatórios, são encontrados onde bactérias estão presentes como em coleções d'água, geleiras polares, solo, areias de deserto como o do Saara, lodo, esgotos, alimentos, bebidas, plantas e fazem parte da microbiota humana e animal juntamente com os hospedeiros bacterianos (CLOKIE, 2011; MINOT, 2011). Sua infecção é geralmente espécie ou linhagem-específicos, causando, na maioria das vezes, a lise da bactéria hospedeira (CLOKIE, 2011). Em ecossistemas aquáticos, os fagos são responsáveis por cerca de 20-40% da mortalidade bacteriana, sendo um fator limitante para o crescimento bacteriano (SUTTLE, 2005; BORAS, 2009). Bacteriófagos são capazes de penetrar em diferentes órgãos e tecidos incluindo o sistema nervoso central e devido a essa característica, foram utilizados no tratamento e profilaxia de diversas infecções bacterianas até o advento dos antibióticos (SULAKVELIDZE, 2001; KROPINSKI, 2006).

A descoberta dos bacteriófagos remota ao ano de 1896, quando Ernest Hanking, um bacteriologista britânico, confirmou a presença de uma “substância bactericida” contra *Vibrio cholerae* nos rios Ganges e Jumma, na Índia. Essa substância não fora identificada, porém era capaz de penetrar pelo poro dos filtros e era inativada pelo calor. O mesmo foi observado dois anos após com *Bacillus subtilis*. Porém, apenas em 1917 esse fenômeno foi descrito como sendo causado por vírus, quando Felix d'Herelle estudava filtrados de fezes de pacientes contaminados com *Shigella*, que formavam placas de lise em ágar (SULAKVELIDZE, 2001; WEINBAUER, 2004).

Ecologicamente estudos demonstraram que fagos têm papel essencial no controle populacional bacteriano, sendo esse espécie-específico, ou mesmo

linhagem-específico. São também importantes fontes de troca e incorporação genética, sendo considerados os principais contribuintes para a variedade do genoma bacteriano (SUTTLE, 2005, BORAS, 2009, MINOT, 2011). Através do ciclo de multiplicação e lise celular, participam ativamente do ciclo global do carbono (SUTTLE, 2005, BORAS, 2009).

A infecção de uma bactéria por um bacteriófago se inicia com a adsorção do vírus à célula bacteriana. O primeiro contato é geralmente inespecífico e reversível, envolvendo qualquer estrutura fágica e componentes do envelope celular bacteriano como parede, componentes da membrana celular e matriz extracelular. Posteriormente ocorre a ligação irreversível, envolvendo estruturas específicas do fago e moléculas da superfície bacteriana. A especificidade da infecção se dá nessa etapa, onde o fago reconhece seu hospedeiro pelas moléculas de superfície bacteriana (RAVIN, 2002; WEINBAUER, 2004; MAHONY, 2012). Após a etapa de reconhecimento e ligação ao receptor ocorre a injeção do material genético viral no citoplasma bacteriano. A partir daí o fago pode seguir duas formas de infecção: lítica ou lisogênica (RAVIN, 2002; WEINBAUER, 2004).

Infecções líticas são geradas por bacteriófagos virulentos cuja injeção do genoma no citoplasma celular desencadeia imediata transcrição e tradução de componentes, montagem e liberação de novas partículas virais para o ambiente. Essa liberação pode ocorrer com a lise bacteriana (mais comum) ou como nos casos dos bacteriófagos filamentosos, sem lise (WEINBAUER, 2004).

Infecções lisogênicas são causadas por bacteriófagos temperados. Após a introdução do genoma no citoplasma celular, ao invés de desenvolverem a tradução e morfogênese de novas partículas virais, ocorre a síntese de um repressor proteico, impedindo a multiplicação viral, e esses fagos tem o seu material genético integrado ao da célula hospedeira. A manutenção do genoma

do fago temperado se dá quando a célula se divide e seu material genético acompanha o do hospedeiro. Em um dado momento, por estímulos ambientais, o repressor proteico é de alguma forma inativado e o fago entra no ciclo lítico, gerando novas partículas virais e lisando a célula para sua liberação no ambiente (SULLIVAN, *et al.*; 2008). Pouco se sabe sobre a natureza do estímulo ambiental e o mecanismo no qual isso ocorre (SULLIVAN, *et al.*; 2008). *In vitro* essa estimulação pode ser feita via radiação ultra-violeta ou uso de substâncias químicas como Mitomicina C (SULLIVAN, *et al.*; 2008) (FIGURA 5).

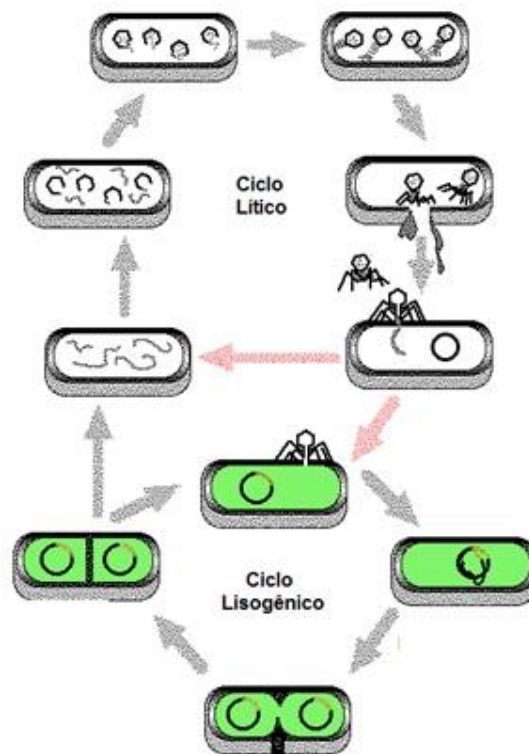


FIGURA 5 – Esquema de Infecção de um lactobacilo por bacteriófago lisogênico ou temperado (Adaptado de www.revistaciencias.com).

A mitomicina C foi descoberta em 1950 por pesquisadores japoneses em culturas de *Streptomyces caespitosus* (CROOKE, 1976; TOMASZ, 1995). É um agente quelante que se liga às duas fitas de DNA via cross-linking e impede a multiplicação bacteriana (CROOKE, 1976). A concentração de mitomicina

necessária para que ocorra ligação ao DNA e impedimento da divisão celular é de 30 a 100 vezes menor que a necessária para impedir a tradução do RNA (CROOKE, 1976; TOMASZ, 1995). Portanto a mitomicina C não impede a transcrição do RNA e síntese proteica, sendo um potente indutor da produção lítica em bacteriófagos (TOMASZ, 1995).

Geralmente a partícula viral de um fago é constituída de dois componentes básicos: ácido nucleico e envelope proteico. Entretanto, alguns podem apresentar lipídios como componentes da cápsula ou uma camada lipídica particular (ACKERMANN, 2006). Bacteriófagos são classificados em famílias de acordo com sua morfologia e tamanho. Cerca de 96% apresentam cauda e simetria binária, classificados dentro da ordem *Caudovirales*. Os bacteriófagos do Gênero *Caudovirales* são divididos em três famílias: (1) *Siphoviridae*, com cauda longa e não contrátil; (2) *Myoviridae*, cauda longa contrátil e (3) *Podoviridae*, com caudas curtas não contráteis (ACKERMANN, 2006; VILLION, 2009).

3.5 Bacteriófagos de *Lactobacilos* e Microbiota Indígena Vaginal

Tendo em vista o grande número de espécies do gênero *Lactobacillus*, não é de se espantar que um grande número de bacteriófagos já foram isolados a partir dessas espécies (SALVETTI, 2012; MAHONY, 2012). Atualmente, mais de 231 fagos foram identificados e 109 desses foram observados por microscopia eletrônica (VILLION, 2009). Todos pertenceram à ordem dos *Caudovirales*, distribuídos nas três famílias: *Siphoviridae*, *Myoviridae* e *Podoviridae* (VILLION, 2009; MAHONY, 2012). Entretanto, o crescente número de fagos isolados não corresponde ao pequeno número no qual o genoma já foi completamente sequenciado: apenas 22 até o ano de 2012 (MAHONY), dificultando estudos evolutivos e filogenéticos. A **TABELA 4** indica o número de bacteriófagos de *Lactobacillus* isolados, sua classificação e as fontes do isolamento. Nota-se a grande diversidade de origens, tão grande quanto o número de nichos ocupados pelos *Lactobacillus* (VILLION, 2009; MAHONY, 2012).

TABELA 4 – Ordem, Família, principais fontes na qual foram isolados e número de fagos de *Lactobacillus* que possuem genoma sequenciado de cada família, até a presente data (VILLION, 2009; MAHONY, 2012).

Ordem	Família	Isolados a partir de amostras de	Número fagos com genomas sequenciados até outubro/2012
<i>Caudovirales</i>	<i>Siphoviridae</i>	Microbiota vaginal, microbiota bucal, fezes, esgoto, leite, bebidas lácteas, bebidas fermentadas, alimentos fermentados, indústria de queijo, silos.	20
	<i>Myoviridae</i>	Microbiota vaginal, fezes, esgoto, leite, queijo, alimentos fermentados.	2
	<i>Podoviridae</i>	Alimentos fermentados (kimchi)	0

Além de ubiqüitários, os bacteriófagos de *Lactobacillus* apresentam uma outra particularidade: ao contrário da maioria dos outros fagos, são capazes de infectar diferentes espécies do mesmo gênero lactobacilos. Isso se deve às altas taxas de mutação da porção C-terminal do gene gp71, responsável pelo reconhecimento e adsorção à célula hospedeira (RAVIN, 2002; MAHONY, 2012).

Estudos com *Lactobacillus* extraídos da microbiota vaginal humana mostrou que cerca de 30% dos isolados de mulheres saudáveis apresentam positividade para bacteriófagos lisogênicos. Esse índice é ainda maior em mulheres com vaginose bacteriana, cuja taxa de lisogenização é de 50% em alguns estudos (PAVLOVA, 1997; KILIÇ, 2001; DAMELIN, 2011). Sabida alta prevalência nesse ambiente, nada se sabe sobre sua ecologia e importância desses bacteriófagos. O sequenciamento dos genomas dos isolados também não é comum, o que também dificulta estudos comparativos e evolutivos (VILLION, 2009).

Em um estudo conduzido por Pavlova e colaboradores (1997), 39 mulheres foram submetidas à *swabs* vaginais no qual foram isolados 27 linhagens de *Lactobacillus*. Após cultura e indução com mitomicina C, 7 linhagens liberaram fagos temperados que foram capazes de infectar isolados da mesma mulher e de outras mulheres. O autor sugeriu então que esses fagos poderiam contribuir para a depleção dos lactobacilos vaginais de diferentes mulheres quando infectadas pela via sexual, por exemplo. Em outro estudo, Tao (1997) isolou 43 linhagens de *Lactobacillus* provenientes de iorgutes, leites fermentados e comprimidos e detectou a presença de 11 bacteriófagos lisogênicos. Ao testar a infectividade desses fagos contra *Lactobacillus* vaginais, sete desses foram capazes de infectar e lisar essas células. Sabendo-se que alimentos contendo esses microrganismos podem eventualmente colonizar o intestino, um ponto crítico seria a liberação de bacteriófagos por esses lactobacilos provenientes da alimentação que poderiam eficientemente infectar lactobacilos vaginais (TAO, 1997).

Outra hipótese onde bacteriófagos estariam envolvidos na redução da população de lactobacilos vaginais foi proposta por Pavlova et al. (2000), quando um estudo *in vitro* testou a indução do ciclo lítico de fagos por substâncias contidas na fumaça do cigarro. Esse estudo foi realizado plaqueando-se amostras de lactobacilos vaginais e outros de importância industrial em ágar contendo substâncias presentes na fumaça do cigarro ou seus metabolitos. Observou-se que em alguns casos a indução do ciclo lítico por essas substâncias era maior que a observada com o tratamento via mitomicina C. Esse dado corrobora a hipótese de que mulheres fumantes são mais propensas a apresentar vaginose bacteriana (HELLBERG, 2000; PAVLOVA, 2000).

Em um estudo realizado com mulheres dos Estados Unidos e da Turquia, em 2001, foram isolados 67 fagos de *Lactobacillus* coletados de mulheres com idade reprodutiva. Foram classificados como da família *Siphoviridae* e *Myoviridae*. Após testes *in vitro* com outros isolados, pôde-se concluir que muitos fagos infectam múltiplas espécies de *Lactobacillus*, excluindo esses fagos de terem marcadores espécie-específicos. Apesar do teste ter sido conduzido *in vitro*, e os fagos *in vivo* em sua maioria apresentam-se temperados (isto é, em ciclo lisogênico), o autor ressalva que o bacteriófago pode ser temperado para uma bactéria, mas lítico para outra ou mesmo pode, por mutações, adquirir caráter virulento (KILIÇ, 2001).

Damelin *et al.* (2011), coletaram espécimes de 144 mulheres sul africanas, em idade reprodutiva, com ou sem corrimentos vaginais. Encontrou-se primeiramente uma prevalência grande de *L. jensenii* e *L. crispatus* na microbiota vaginal dessas voluntárias, correspondendo com achados nas Américas e na Europa. Foram então investigar fagos temperados dessas duas espécies, e perceberam que 77% dos fagos de *L. crispatus* apresentaram lisogenia, enquanto apenas 29% dos isolados de *L. jensenii* liberaram partículas virais (DAMELIN, 2011).

Bacteriófagos apresentam uma taxa de lisogenização muito baixa, entre 10^{-7} a 10^{-2} (KIHARA, 2001; RIIPINEM 2007), os quais a maioria segue o ciclo lítico. Logo, a multiplicação desse vírus em uma mucosa densamente habitada por uma ou poucas colônias suscetíveis é capaz de matar a maioria das células hospedeiras, sendo subsequentemente substituídas pela cepa lisogênica que inicialmente liberou o fago. Em *Lactobacillus* vaginais ocorre alta prevalência de bacteriófagos em ciclo lisogênico (TAO, 1997; KILIÇ, 2001; DAMELIN, 2011). Portanto, qualquer fator contribuinte para a indução do ciclo lítico aumenta a possibilidade de uma redução extrema dessa população (LETAROV, 2009), favorecendo o crescimento de bactérias anaeróbias e do quadro de vaginose bacteriana.

Visto o número de incertezas sobre a etiologia e patogenia da vaginose bacteriana e o campo aberto para a construção desse conhecimento, essa pesquisa se justifica.

4. CONCLUSÃO

A etiologia ainda desconhecida da vaginose bacteriana intriga muitos grupos de pesquisa pelo mundo. Estudos nessa área revelam que grande quantidade de *Lactobacillus* presentes na microbiota vaginal apresenta material genético de bacteriófagos integrados ao genoma bacteriano, e que esses podem estar envolvidos na lise em massa dessas células, criando uma condição ideal para a multiplicação de anaeróbios obrigatórios causadores da vaginose bacteriana.

Embora de extrema importância em saúde pública, pesquisas que buscam a etiologia dessa doença ainda são escassos, sendo, portanto, uma linha de pesquisa promissora.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ackermann, H. W. Classification of bacteriophages. In: **The Bacteriophages**. Oxford Uni Press, New York. p.8-16. **2006**

Adrio, J. L.; Demain, A. L. **Recombinant organisms for production of industrial products. Bioengineered bugs**. V1:2. 116 – 131. **2010**.

Allsworth, J. E.; Peipert, J. F. Prevalence of Bacterial VAGinosis. The American College of Obstetricians and Gynecologists. V 109:1, **2007**.

Atashilia, J.; Poolea, C.; Ndumbab, P. M.; Adimoraa, A. A.; Smith, J. S. **Bacterial vaginosis and HIV acquisition: a meta-analysis of published studies**. AIDS. 22:1493–1501. **2008**.

Blackwell A. L. **Vaginal bacterial phaginosis?** Sexually Transmitted Infections. 75:352-353. **1999**.

Boras, J. A.; Sala, M. M.; Domínguez, E. V.; Weinbauer, M. G.; Vaqué, D. **Annual changes of bacterial mortality due to viruses and protists in an oligotrophic coastal environment (NW Mediterranean)**. Environmental Microbiology. 11:5. 1181–1193. **2009**.

Bradshaw, C. S.; Walker, J.; Fairley, C. K.; Chen, M. Y.; Tabrizi, S. N.; Donovan, B.; Kaldor, J. M.; McNamee, K.; Urban, E.; Walker, S.; Currie, M.; Birden, H.; Bowden, F.; Garland, S.; Pirotta, M.; Gurrin, L.; Hocking, J. S. **Prevalent and Incident Bacterial Vaginosis Are Associated with Sexual and Contraceptive Behaviours in Young Australian Women**. Plos one. 8(3). E57688. **2013**.

Branco K. M. G. R., Nardi, R. M. D., Moreira, J. L. S., Nunes, A. C., Farias, L. M., Nicoli, J. R., Carvalho, M. A. R. **Identification and *in vitro* production of *Lactobacillus* antagonists from women with or without bacterial vaginosis**. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. 43:1-7. **2010**.

Brolazo, E. M. et al. **Prevalência e caracterização de espécies de lactobacilos vaginais em mulheres em idade reprodutiva sem vulvovaginites**. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia. 31-4:189-195. **2009**.

Cai Y, Pang H, Kitahara M, Ohkuma M. ***Lactobacillus nasuensis* sp. nov., a lactic acid bacterium isolated from silage, and emended description of the genus *Lactobacillus***. Int J Syst Evol Microbiol 62:1140–1144. **2012**.

Camargo, R. P. S.; Simões, J. A.; Cecatti, J. G.; Alves, V. M. N.; Faro, S. **Impact of Treatment for bacterial vaginosis on prematurity among Brazilian pregnant women: a retrospective cohort study.** São Paulo Medicine Journal. 123:3. 108 – 112. **2005.**

CDC. **CDC Fact Sheet: Bacterial Vaginosis. Division of STD Prevention. 2007.**

Cherpes, T. L.; Meyn, L. A.; Krohn, M. A.; Lurie, J. G.; Hillier, S. L. **Association between Acquisition of Herpes Simplex Virus Type 2 in Women and Bacterial Vaginosis.** CID. v37. 319 – 325. **2003.**

Cohen, C. R.; Lingappa, J. R.; Baeten, J. M.; Ngayo, M. O.; Spiegel, C. A.; Hong, T.; Donnell, D.; Celum, C.; Kapiga, S.; Delany, S.; Bukusi, E. A. **Bacterial Vaginosis Associated with Increased Risk of Female-to-Male HIV-1 Transmission: A Prospective Cohort Analysis among African Couples.** Plos Medicine. v 9:6. e1001251. **2012.**

Clokic, M. R. J.; Millard, A. D.; Letarov, A. D.; Heaphy S. **Phages in Nature.** Bacteriophage. 1:1. 31-45. **2011.**

Crooke, S. T.; Bradner, W. T. **Mitomycin C: A review.** Cancer Treatment Reviews. V 3. 121 – 139. **1976.**

Damelin L. H., Paximadis M., Mavri-Damelin D., Birkhead M., Lewis D. A., Tiemessen C. T. **Identification of predominant culturable vaginal Lactobacillus species and associated bacteriophages from women with and without vaginal discharge syndrome in South Africa.** Journal of Medical Microbiology. 60:180–183. **2011.**

Danielsson, D.; Teigen, P. K.; Moi, H. **The genital econiche: focus on microbiota and bacterial vaginosis.** Annals of the New York Academy of Sciences. 1230; 48-58. **2011.**

Döderlein, A. **Verhandl d. deutsch. Gesellsch f. Gynäk, 35. 1892.**

Donders, G. G.; Bulck, B. V.; Caudron, J.; Londers, L; Vereecken, A.; Spitz, B. **Relationship of bacterial vaginosis and mycoplasmas to the risk of spontaneous abortion.** American Journal of Obstetrics and Gynecology. v 183:12. 431 – 437. **2000.**

Donders, G. G.; Calsteren, K. V.; Bellen, G.; Reybrouck, R.; Bosch, T. V.; Riphagen, I.; Lierde, S. V. **Predictive value for preterm birth of abnormal vaginal flora, bacterial vaginosis and aerobic vaginitis during the first trimester of pregnancy.** BJOG: An International Journal Of Obstetrics and Gynaecology. V116:10. 1315 – 1324. **2009.**

Dover S. E., Aroutcheva A. A., Faro S., Chikindas M. L. **Natural antimicrobials and their role in vaginal health: a short review.** International Journal of Probiotics and Prebiotics. 3(4):219–230. **2008.**

Evans, A. L.; Scally, A. J.; Wellard, S. J.; Wilson, J. D. **Prevalence of bacterial vaginosis in lesbians and heterosexual women in a community setting.** Sexually Transmitted Infections. 83. 470 – 475. **2007.**

Falsen, E.; Pascual, C.; Sjöden, B.; Ohlén, M.; Collins, M. D. **Phenotypic and phylogenetic characterization of a novel Lactobacillus species from human sources: description of Lactobacillus iners sp. nov.** International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. v49:1. 217-221. **1999.**

Felis, G. E.; Dellaglio, F. **Taxonomy of Lactobacilli and Bifidobacteria.** Current Issues in Intestinal Microbiology. v 8. 44-61. **2007.**

Fethers, K. A.; Fairley, C. K.; Hocking, J. S; Gurrin, L. C.; Bradshaw, C. S. **Sexual Risk Factors and Bacterial Vaginosis: A Systematic Review and Meta-Analysis.** Clinical Infectious Diseases. 47:1426–1435. **2008.**

Fethers, K. A.; Fairley, C. K.; Morton, A.; Hocking, J. S.; Hopkins, C.; Kennedy, L. J.; Fehler, G.; Bradshaw, C. S. **Early Sexual Experiences and Risk Factors for Bacterial Vaginosis.** The Journal of Infectious Diseases. 200:1662–1670. **2009.**

Forsum, U.; Hallén, A.; Larsson, P. G. **Bacterial vaginosis – a laboratory and clinical diagnostics enigma.** APMIS 113: 153–61, **2005.**

Gajer, P.; Brotman, R. M.; Bai, G.; Sakamoto, J.; Schütte, U. M. E.; Zhong, X.; Koenig, S. S. K.; Li Fu; Ma, Z.; Zhou, X.; Abdo,Z.; Forney, L. J.; Ravel, J. **Temporal Dynamics of the Human Vaginal Microbiota.** Science Translational Medicine. Vol 4:132. 132 - 152. **2012.**

Grice E. A.; Segre, J. A. **The Human Microbiome: Our Second Genome.** Annual Review of Genomics and Human Genetics. V. 13. 151-170. **2012.**

Gillet, E.; Meys, J. F. A.; Verstraelen, H.; Bosire, C.; Sutter, P. D.; Temmerman, M.; Broeck, D. V. **Bacterial vaginosis is associated with uterine cervical human papillomavirus infection: a meta-analysis.** BMC Infectious Diseases. 11:10. **2011.**

Gillet, E.; Meys, J. F. A.; Verstraelen, H.; Verhelst, R.; Sutter, P. D.; Temmerman, M.; Broeck, D. V. **Association between Bacterial Vaginosis and Cervical Intraepithelial Neoplasia: Systematic Review and Meta-Analysis.** Plos One. V 7:10. E45201. **2012.**

Hellberg, D.; Nilsson, S.; Márdh, P. A. **Bacterial Vaginosis and Smoking.** International Journal of STD & AIDS. v11. 603 – 606. **2000.**

Hickey R. D., Zhou X., Pierson J. D., Ravel J., Forney L. J. **Understanding vaginal microbiome complexity from an ecological perspective.** Translational Research 160(4):267-82. **2012.**

Hillier S.L.; Martius J.; Krohn M.; Kiviat N.; Holmes K.K.; Eschenbach D.A. **A case-control study of chorioamnionic infection and histologic chorioamnionitis in prematurity.** The New England Journal of Medicine. v 319:15. 972-978. **1988.**

Hillier, S. L. et al. **Association Between Bacterial Vaginosis and Preterm Delivery of a Lowbirth-eight Infant.** The New England Journal of Medicine. v 333:26. 1737 – 1742. **1995.**

Hinchliffe, M. Z.; Lillis, R.; Martin, D. H.; Ferris, M. J. **Quantitative PCR Assessments of Bacterial Species in Women with and without Bacterial Vaginosis.** Journal of Clinical Microbiology. v 48:5 1812–1819. **2010.**

Hummelen, R.; Fernandes, A. D.; Macklaim, J. M.; Dickson, R. J.; Changalucha, J.; Gloor, G. B.; Reid, G. **Deep Sequencing of the Vaginal Microbiota of Women with HIV.** PLoS ONE 5(8): e12078. **2010.**

Jespers V., Menten J., Smet H., Poradosú S., Abdellati S., Verhelst R., Hardy L., Buvé A., Crucitti T. **Quantification of bacterial species of the vaginal microbiome in different groups of women, using nucleic acid amplification tests.** BMC Microbiology. 12:83. **2012.**

Jin L., Tao L., Pavlova S. I., So J-S., Kiwanuka N., Namukwaya Z., Saberbein B. A., Wawer M. **Species diversity and relative abundance of vaginal lactic acid bacteria from women in Uganda and Korea.** Journal of Applied Microbiology. 102:1107-1115. **2006.**

Kihara, A., Akiyama, Y., Ito K. **Revisiting the lysogenization control of bacteriophage lambda.** Journal of Biological Chemistry. 276:13695–13700. **2001.**

Kiliç A. O., Pavlova S. I., Alpay S., Kilic S. S., Tao L. **Comparative study of vaginal lactobacillus phages isolated from women in the United States and Turkey: prevalence, morphology, host range, and DNA homology.** Clinic and Diagnostic Laboratory Immunology. 8:31-9. **2001.**

Kropinski, A. M. **Phage Therapy – Everything Old is New Again.** Canadian Journal of Infected Diseases – Medical Microbiology. V 17:5. 297 – 306. **2006.**

Larsson P.G.; Platz-Christensen J.J.; Thejls H.; Forsum U.; Pålson C. **Incidence of pelvic inflammatory disease after first-trimester legal abortion in women with bacterial vaginosis after treatment with metronidazole: a double-blind, randomized study.** American Journal of Obstetrics and Gynecology. 166. 100-103. **1992.**

Letarov A.; Kulikov E. **The bacteriophages in human- and animal body-associated microbial communities.** Journal of Applied Microbiology. 107:1–13. **2009.**

Loeffler, J. M. & Fischetti, V. A. **Lysogeny of *Streptococcus pneumoniae* with MM1 phage: improved adherence and other phenotypic changes.** Infection and Immunology. 74, 4486–4495. **2006.**

Marcó, M. B.; Sylvain Moineau, S.; Quiberoni, A. **Bacteriophages and Dairy Fermentations.** Bacteriophage. 2:3. 149 – 158. **2012.**

Marrazzo, J. M.; Thomas, J. K.; Fiedler, T. L.; Ringwood, K.; Fredricks D. N. **Risks for Acquisition of Bacterial Vaginosis Among Women Who Report Sex with Women: A Cohort Study.** Plos One. 5(6). E11139. **2010.**

Martinez R.C.R., Franceschini S.A., Patta M. C., Quintana S. M., Nunes A. C., Moreira J. S. L., Anukam K. C., Reid G., Martinis E. C. P. **Analysis of Vaginal Lactobacilli from Healthy and Infected Brazilian Women.** Applied and Environmental Microbiology. 74: 4539–4542. **2008.**

Mahony, J.; Ainsworth, S.; Stockdale, S.; Sinderen, D. V. **Phages of lactic acid bacteria: The role of genetics in understanding phage-host interactions and their co-evolutionary processes.** Virology. 434. 143 – 150. **2012.**

Mehta, Supriya D. **Systematic Review of Randomized Trials of Treatment of Male Sexual Partners for Improved Bacteria Vaginosis Outcomes in Women.** Sexually Transmitted Diseases. v 39:10. 822–830. **2012.**

Ministério da Saúde. **Controle das Doenças Sexualmente Transmissíveis – DST**. 4ª Edição. Brasília, 2006.

Minot, S.; Sinha, R.; Chen, J.; Li, H.; Keilbaugh, S. A.; Wu, G. D.; Lewis, J. D.; Bushman, F. D. **The human gut virome: Inter-individual variation and dynamic response to diet**. *Genome Research*. V 22. 1985 – 1994. 2011.

Pavlova, S. I., Kilic A. O., Mou M. S., Tao L. **Phage infection in vaginal lactobacilli: an in vitro study**. *Infectious Disease in Obstetrics and Gynecology*. 5:36-44. 1997.

Pavlova S. I., Tao L. **Induction of vaginal lactobacillus phages by the cigarette smoke chemical benzo[a]pyrene diol epoxide**. *Mutation Research*. 466: 57-62. 2000.

Pedersen, M. B.; Gaudu, P.; Lechardeur, D.; Petit, M. A.; Alexandra Gruss, A. **Aerobic Respiration Metabolism in Lactic Acid Bacteria and Uses in Biotechnology**. *Annual Review of Food Science and Technology*. 3:37–58. 2012.

Powell, K. **Bacterial vaginosis: diagnosis and treatment**. *Nurse Prescribing*. V 10:4, 13. 172 – 178. 2012.

Ravel J., Gajera P., Abdob Z., Schneider G. M., Koeniga S.S., McCullea S. L., Karlebach S., Gorlee R., Russell J., Tacket C. O., Brotmana R. M., Davis C. C., Ault K., Peraltae L., Forney L. J. **Vaginal microbiome of reproductive-age women**. *PNAS*. 108:4680-4687. 2011.

Ravin, V.; Räisänen, L.; Alatossava, T. **Conserved C-Terminal Region in Gp71 of the Small Isometric-Head Phage LL-H and ORF474 of the Prolate-Head Phage JCL1032 Is Implicated in Specificity of Adsorption of Phage to Its Host, *Lactobacillus delbrueckii***. *Journal of Bacteriology*. V 184:9. 2455 – 2459. 2002.

Riipinen K.A., Raisanen L., Alatossava T. **Integration of the group c phage JCL1032 of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Lactis* and complex phage resistance of the host**. *Journal of Applied Microbiology*. 103:2465–2475. 2007.

Salvetti, E.; Torriani, S.; Felis. G. E. **The Genus *Lactobacillus*: A Taxonomic Update**. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 4:217–226. 2012.

Schellenberg J. J., Plummer F. A. **The microbiological context of HIV resistance: Vaginal Microbiota and Mucosal Inflammation at the viral point of entry**. *International Journal of Inflammation*. 2012.

Shipitsyna, E.; Roos, A.; Datcu, R.; Halle'n, A.; Fredlund, H.; Jensen, J. J.; Engstrand, L.; Unemo, M. **Composition of the Vaginal Microbiota in Women of Reproductive Age – Sensitive and Specific Molecular Diagnosis of Bacterial Vaginosis Is Possible?** PLoS ONE 8(4): e60670. 2013.

Smart S., Singal A., Mindel A. **Social and sexual risk factors for bacterial vaginosis.** Sexually Transmitted Infections. 80:58–62. 2004.

Soper D. E.; Bump R. C.; Hurt W. G. **Bacterial vaginosis and trichomoniasis vaginitis are risk factors for cuff cellulitis after abdominal hysterectomy.** American Journal of Obstetrics and Gynecology. 163:3. 1016 – 1021. 1990.

Spurbeck, R. R.; Arvidson, C. G. Lactobacilli at the front line of defense against vaginally acquired infections. Future Microbiology. V 6.5, 567. 2011.

Srinivasan, S.; Liu, C.; Mitchell, C. M.; Fiedler, T. L.; Thomas, K. K.; Agnew, K. J.; Marrazzo, J. M.; Fredricks, D. N. **Temporal Variability of Human Vaginal Bacteria and Relationship with Bacterial Vaginosis.** Plos one. PLoS ONE. v 5(4): e10197. 2010.

Sullivan, M. B.; Coleman, M. L.; Quinlivan, V.; Rosenkrantz, J. E.; Defrancesco, A. S.; Tran, G.; Fu, R.; Lee, J. A.; Waterbury, J. B.; Bielawsky, J. P.; Chisholm, S. W. **Portal protein diversity and phage ecology.** Environment Microbiology, v.10:10. 2810-2823. 2008.

Suttle, C. A. **Viruses in the sea.** Nature. 437. 356 – 361. 2005.

Tao L., Pavlova S. I., Mou S. M., Ma W., Kiliç A. O. **Analysis of Lactobacillus Products for Phages and Bacteriocins That Inhibit Vaginal Lactobacilli.** Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology. 5. 244-251. 1997.

Thoma, M. E.; Gray, R. H.; Kiwanuka, N.; Aluma, S.; Wang, MC.; Sewankambo, N.; Wawer M. J. **Longitudinal Changes in Vaginal Microbiota Composition Assessed by Gram Stain Among Never Sexually Active Pre- and Postmenarcheal Adolescents in Rakai, Uganda.** Journal of Pediatric and Adolescent Gynecology. v.24:1. 42-47. 2011.

Turovskiy Y., Noll K. S., Chikindas M. L. **The aetiology of bacterial vaginosis.** Journal of Applied Microbiology. 1364-5072. 2011.

Thomazs, M. **Mitomycin C: Small, Fast and Deadly (But Very Selective).** Chemistry & Biology. V 2. 575 – 579. 1995.

Vaca, M.; Guadalupe, I.; Erazo, S.; Tinizaray, K.; Chico, M. E.; Cooper, P. J.; Hay, P.; **High Prevalence of Bacterial Vaginosis in Adolescent girls in a Tropical Area of Ecuador.** BJOG: A Journal of Obstetrics & Gynaecology. V 117:2. 225 – 228. **2009.**

Verstraelen, H.; Verhelst, R.; Claeys, G.; Backer, E.; Temmerman, M.; Vaneechoutte, M. **Longitudinal analysis of the vaginal microflora in pregnancy suggests that *L. crispatus* promotes the stability of the normal vaginal microflora and that *L. gasseri* and/or *L. iners* are more conducive to the occurrence of abnormal vaginal microflora.** BMC Microbiology. 9:116. **2009.**

Villion, M.; Moineau, S. **Bacteriophages of Lactobacillus.** Frontiers in Bioscience. V. 14. 1661 – 1683. **2009.**

Vuyst, L.; Vancanneytb, M.; **Biodiversity and identification of sourdough lactic acid bacteria.** Food Microbiology. V 24. 120–127. **2007.**

Wattz, D. H.; Krohn, M. A.; Hillier, S. L.; Eschenbach, D. A. **Bacterial Vaginosis as a Risk Factor for Post-Cesarean Endometritis.** Obstetrics & Gynecology. 75:1. 52 – 58. **1990.**

Wattz, D. H. **Mother to Child Transmission of HIV – another Complication of Bacterial Vaginosis?** Journal of Acquired Immune Deficiency Syndrome. v 60:3. 221. **2012.**

Weinbauer, M. G. **Ecology of Prokaryotic viruses.** Federation of European Microbiology Society – Microbiology Reviews. V 28. 127 – 181. **2004.**

Wiesenfeld, H. C.; Hillier, S. L.; Krohn, M. A.; Landers, D. V.; Sweet, R. L. **Bacterial Vaginosis Is a Strong Predictor of Neisseria gonorrhoeae and Chlamydia trachomatis Infection.** CID. v 36. 663 – 668. **2003.**

Wilson J. **Managing recurrent bacterial vaginosis.** Sexually Transmitted Infections. 80:8–11. **2004.**

World Health Organization (WHO). **Sexually Transmitted and Other Reproductive Tract Infections – A guide to essential practice.** **2005.**

Yen, S.; Shafer, M. A.; Moncada, J.; Campbell, C. J.; Flinn, S. D.; Boyer, C. B. **Bacterial vaginosis in sexually experienced and non-sexually experienced young women entering the military?** Obstetrics & Gynecology. V 102:5, 927 – 933. **2003.**