

---

---

## Posible papel de *Bacteroides fragilis* enterotoxigénico en la etiología de la vaginitis infecciosa.

Nina Polanco<sup>1</sup>, Lorna Manzi<sup>1</sup> y Oswaldo Carmona<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Patogenicidad Bacteriana, Cátedra de Microbiología, Escuela de Bioanálisis,  
<sup>2</sup>Cátedra de Microbiología, Escuela de Medicina José María Vargas,  
Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

**Palabras clave:** vaginitis, infección mixta, *Bacteroides fragilis* enterotoxigénico, células HT-29.

**Resumen.** La vaginitis es un trastorno ginecológico frecuente producido por distintas causas, algunas de las cuales permanecen desconocidas. *Bacteroides fragilis* es el anaerobio más importante en bacteriología clínica. Algunas cepas son enterotoxigénicas y se asocian con síndromes intestinales y extraintestinales. Recientemente han sido aisladas de pacientes con vaginitis. En este trabajo se planteó investigar la posible asociación de *B. fragilis* enterotoxigénico con la vaginitis infecciosa. Fueron procesadas 265 muestras de exudado vaginal. 202 de mujeres sintomáticas y 63 mujeres sanas. La identificación de los microorganismos se realizó por métodos convencionales. En 31,2% de las pacientes sintomáticas se identificaron: *Gardnerella vaginalis*, *Candida albicans*, *Mobiluncus*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* y *Streptococcus agalactiae*. En 27 pacientes sintomáticas y en 5 mujeres sanas se identificó *B. fragilis*. Estas cepas fueron cultivadas en medio líquido e incubadas durante 48 h a 36° C en anaerobiosis. La toxicidad en los sobrenadantes se ensayó en células HT-29. 18 cepas de *B. fragilis* aisladas de pacientes sintomáticas fueron enterotoxigénicas, ya que indujeron alteraciones en la monocapa celular y en las células. No se identificó en mujeres sanas (P<0,05). 77,7% de las cepas de *B. fragilis* enterotoxigénicas no se encontraron asociadas con otros patógenos específicos. Este hecho sugiere que pudiera ser un agente causante de vaginitis, ya que el efecto de la enterotoxina sobre la E-cadherina del epitelio vaginal podría facilitar la invasión y su posible papel patógeno en la vagina. Esta es la primera investigación que asocia a *Bacteroides fragilis* enterotoxigénico como posible causa de vaginitis infecciosa.

**Possible role of enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* in the etiology of infectious vaginitis.***Invest Clin 2012; 53(1): 28 - 37*

**Keywords:** vaginitis, mixed infection, enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*, HT-29 cells.

**Abstract.** Vaginitis is a common gynecologic disorder. It is due to several causes, some even unknown. *Bacteroides fragilis* is the most important anaerobe in clinical bacteriology, some strains of this group are notable for being enterotoxigenic and they have been associated with intestinal and extraintestinal syndromes. They have recently been isolated from patients with vaginitis. The purpose of this study was to investigate a possible association of enterotoxigenic *B. fragilis* with infectious vaginitis. 265 samples of vaginal exudate were processed, 202 from symptomatic patients and 63 healthy women. The identification of the microorganisms was carried out by conventional methods. In 31.2% of symptomatic patients were identified: *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus*, *Candida albicans*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* and *Streptococcus agalactiae*. *B. fragilis* was identified in 27 symptomatic patients and 5 healthy women. These strains were cultivated in liquid medium and incubated during 48 h at 36°C in anaerobe chambers. Supernatant activity was assayed in HT-29 cells. Eighteen *B. fragilis* strains isolated from symptomatic patients were enterotoxigenic, because induced alterations in target cell morphology. It was not identified in healthy women ( $P < 0.05$ ). 77.7% of enterotoxigenic *B. fragilis* strains were not associated with other specific pathogens. This fact suggests that enterotoxigenic *B. fragilis* could be a cause for vaginitis. The effect of enterotoxin on E-cadherin of vaginal epithelium could facilitate invasion and its possible pathogenic role in the vagina. This is the first report that associates enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* as a possible cause of infectious vaginitis.

*Recibido: 21-01-2011 Aceptado: 15-09-2011*

## INTRODUCCIÓN

La vaginitis es un desorden ginecológico, caracterizado por la inflamación de la mucosa vaginal, asociada con flujo, eritema, mal olor, prurito y/o ardor (1). Aunque este cuadro es común, su frecuencia no está bien determinada debido a que en algunos casos, suele ser asintomático y en otros, por la práctica de la automedicación, las pacientes no son evaluadas en los centros de atención ginecológica.

La etiología de la vaginitis puede ser no infecciosa e infecciosa. La vaginitis de origen no infeccioso es favorecida por el descenso de los estrógenos, el tratamiento prolongado con antibióticos y corticoides, el uso de anticonceptivos hormonales, la exposición a radiaciones y el uso de sustancias y objetos irritantes. La inflamación de la vagina por la acción de agentes infecciosos es frecuente (2, 3). En un alto porcentaje es causada por *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans* y secundariamente, por

bacterias causantes de la vaginosis bacteriana tales como: *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, por anaerobios como *Prevotella*, *Mobiluncus*, *Bacteroides* y *Peptoestreptococcus* (4, 5).

*Bacteroides fragilis* es un bacilo Gram-negativo anaerobio que forma parte de la flora normal de diversas cavidades del cuerpo incluyendo la vagina en donde se encuentra en escasa proporción (6). Es el anaerobio más importante desde el punto de vista clínico, no solo por su alta frecuencia (7,8) sino también por la resistencia que posee a los agentes antimicrobianos usados tradicionalmente para combatirlo (9).

Clásicamente, los factores de virulencia de *B. fragilis* son: cápsula, fimbrias, proteína de membrana externa, lipopolisacáridos, enzimas y algunos metabolitos (10), pero en las últimas décadas, se ha identificado una enterotoxina como factor de patogenicidad, la cual ha sido asociada con cuadros diarreicos en distintos animales neonatos, en niños y adultos (11-13). La enterotoxina, también conocida como fragilisina, es una exotoxina de 20 kDa que pertenece a la familia de las metaloproteasas dependientes del zinc (14, 15). Esta toxina hidroliza el dominio extracelular de la E-cadherina, proteína primaria de la *zónula adherens*. De esta manera, altera la adhesión celular e incrementa la permeabilidad del epitelio, causando la redistribución intracelular de la actina, con cambios morfológicos de las células, liberación de la  $\beta$ -catenina, la cual transloca el núcleo y finalmente incrementa la proliferación celular (16).

Los genes que codifican la fragilisina se encuentran en una región cromosomal de 6 kb denominada isla de patogenicidad de *B. fragilis* (IPBF) que comprende los loci para tres isotipos de la enterotoxina denominados *bft-1*, *bft-2* y *bft-3* (17,18). Esta toxina estimula la secreción de la interleuquina-8 (IL-8) en células HT-29, T84 y Caco-2 (19, 20, 21). Particularmente, las células

HT-29/C1 son extremadamente sensibles a la toxina, incluso a dosis tan bajas como 12,5 pM (22), la alteración que en ellas produce es tan evidente que frecuentemente son utilizadas para diferenciar cepas de *B. fragilis* enterotoxigénicas de las no enterotoxigénicas, así como para identificar sus toxinas y su mecanismo de acción (23).

Aunque las cepas toxigénicas de *B. fragilis* se aislaron inicialmente de heces de animales neonatos y niños (11-13), en la actualidad también se aíslan de fuentes clínicas extraintestinales, principalmente de muestras de sangre (24, 25). Recientemente, se ha identificado en cáncer de colon (26), exudado vaginal (27), piel, heridas quirúrgicas y de abscesos perirectales e intraabdominales (28, 29). Este hecho lo coloca como un microorganismo de importancia en microbiología clínica. En consideración de lo anteriormente expuesto, se planteó investigar la posible asociación de *B. fragilis* enterotoxigénico con la vaginitis.

## PACIENTES Y MÉTODOS

El material de estudio estuvo constituido por 265 muestras de exudado vaginal, provenientes de mujeres sexualmente activas, en un rango de edad entre 15 y 55 años. De ellas, 202 eran sintomáticas y fueron referidas por especialistas del área metropolitana de Caracas para la investigación de agentes específicos de infección genital, por presentar leucorrea asociada a uno o más de las siguientes manifestaciones clínicas: ardor, mal olor, prurito y eritema vulvo-vaginal. El resto, 63 mujeres sanas, pertenecían al mismo rango de edad, cuya asistencia a los centros de salud era exclusivamente para evaluación ginecológica de rutina. Fueron atendidas en la Unidad de Diagnóstico Microbiológico del Centro Aloa de la ciudad de Caracas y en el Servicio de Enfermedades de Transmisión Sexual y Planificación Familiar del Distrito Sanitario N°

4 en la misma ciudad. EL período de estudio estuvo comprendido entre el año 2008 y 2010.

Las muestras fueron obtenidas siguiendo las normas del Código de Bioética y Bioseguridad del Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología (FONACIT) (30). Se tomaron como criterios de exclusión la administración de tratamiento antimicrobiano durante los siete días previos a la toma de la muestra, edades por fuera del rango mencionado, pacientes con cervicitis, así como la positividad de la serología para HIV.

El exudado vaginal fue tomado del fondo de saco posterior de la vagina e inmediatamente examinado al microscopio óptico (400X) a fin de investigar la presencia de *Trichomonas vaginalis*, levaduras y filamentos, células claves y leucocitos polimorfonucleares. Para los efectos de esta investigación, el criterio de inflamación utilizado fue la presencia, en el exudado vaginal, de 20 ó más leucocitos PMN/c. Las muestras fueron transportadas en condiciones de anaerobiosis (31) para su procesamiento inmediato en el Laboratorio de Patogenicidad Bacteriana de la Cátedra de Bacteriología en la Escuela de Bioanálisis de la Universidad Central de Venezuela.

### Estudio bacteriológico

Se realizó la investigación de *Gardnerella vaginalis*, *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans*, *Mycoplasma hominis*, *Mobiluncus sp*, *Streptococcus agalactiae* y *Ureaplasma urealyticum* y, para descartar los agentes específicos de cervicitis, se investigó *Neisseria gonorrhoeae* (31) y *Chlamydia trachomatis* mediante inmunoensayo enzimático (32).

### Aislamiento e identificación de *Bacteroides fragilis*

Las muestras en estudio se sembraron en Agar sangre (Difco) suplementado con vitamina K<sub>1</sub> (20 µg/mL) y hemina

(5 µg/mL), se incubaron a 35° C por 48 horas en atmósfera anaeróbica (GasPacK Anaerobe System). A las colonias desarrolladas en estas condiciones se les comprobó el carácter de anaerobio (33), y se les realizó la coloración de Gram. Confirmadas las características típicas de *B. fragilis*, se realizaron las siguientes pruebas bioquímicas: Crecimiento en bilis al 20% (Difco), indol, producción de lipasa, de hidrógeno sulfurado, síntesis de la enzima catalasa, fermentación de los carbohidratos (manitol, trealosa y rammosa, glucosa, sacarosa, lactosa, arabinosa, maltosa, mannososa, rafinosa, salicina, xilosa y sorbitol) (34) y su comportamiento ante los antibióticos Penicilina (2 U, Oxoid), Kanamicina (1.000 µg, Oxoid) y Rifampicina (15 µg, Oxoid) (35).

Las cepas controles de *B. fragilis*, fueron la 086 productora de la toxina BFT-2 y la TM 400, no toxigénica, ambas suministradas por el Dr. Augusto Franco, de la Escuela de Medicina de la Universidad John Hopkins, Maryland, USA.

Las cepas de *Bacteroides fragilis* identificadas en todas las muestras de exudado, así como los controles fueron sembradas en placas de agar base triptosa suplementada con 5% de sangre de conejo desfibrinada suplementado con vitamina K<sub>1</sub> (1 µg/mL) más hemina (5 µg/mL) y se incubaron en atmósfera de anaerobiosis a 35°C durante 48 horas. De estas placas se tomaron varias colonias y se inocularon por duplicado en 5 mL de caldo infusión cerebro corazón (Difco), suplementado con extracto de levadura-BBL (0,05%), vitamina K<sub>1</sub> (1 µg/mL) más hemina (5 µg/mL) hasta alcanzar la turbidez del patrón de McFarland N° 1 y nuevamente se incubaron en anaerobiosis durante 48 h, una serie y durante 72 h la otra serie. Transcurrido este tiempo cada cultivo se centrifugó a 12.000 g, rotor A-841 (Sorvall Ultra centrifuge, Dupont, OTD 55B) a 4° C durante 15 min. El sobrenadante obtenido se filtró a través de un filtro millipore

(0,22  $\mu\text{m}$ ) y se ensayó en los cultivos celulares (29).

### Ensayos de citotoxicidad

Los ensayos de citotoxicidad se realizaron en células HT-29, obtenidas de la Unidad de Cultivos celulares del Centro de Bioquímica y Biofísica del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Caracas-Venezuela. La monocapa de las células fue tratada con tripsina-EDTA al 0,5% durante 5 min, posteriormente lavadas con PBS pH 7,2 y resuspendidas en DMEM (Dulbecco Modified Eagle Medium) a razón de  $3,6 \times 10^5$  cels/mL. De esta suspensión celular se añadieron por duplicado 500  $\mu\text{L}$  a cada uno de los 24 pozos de las placas de cultivo, para lograr una concentración de 180.000 cels/pozo. Seguidamente se incubaron en estufa de  $\text{CO}_2$  hasta alcanzar el 80% de confluencia, cuando fueron tratadas con las siguientes fracciones: I- Sobrenadante de cultivo de *B. fragilis* 086 productora de la toxina BFT-2. II- Sobrenadante de cultivo de *B. fragilis* TM 400 (no toxigénica). III- Medio de cultivo DMEM, más caldo infusión cerebro corazón suplementado con vitamina  $\text{K}_1$  (1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) y hemina (5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) y IV- DMEM. Posteriormente las placas fueron incubadas a  $37^\circ\text{C}$  en estufa de  $\text{CO}_2$  y observadas con el microscopio invertido a las 3, 24 y 48 h. Transcurrido este tiempo, las células se lavaron con PBS (pH 7,2), se fijaron con metanol al 90% durante 5 min, se colorearon con Giemsa y se registraron las impresiones fotográficas (29).

La actividad de la toxina, fue registrada en un modelo cualitativo según las alteraciones morfológicas en la monocapa celular (22), usando una escala de acuerdo a los siguientes patrones: 4+: Desprendimiento total de la monocapa, redondeamiento del 100% de las células, expansión y separación de las mismas; 3+: Desprendimiento de un 75% de la monocapa, disolución de los acúmulos celulares, redondeamiento del 100%

de las células, expansión y separación de las mismas; 2+: Desprendimiento del 30%-40% de la monocapa, redondeamiento, expansión y separación de las células y 1+: Expansión y separación leve de las células con escaso desprendimiento de la monocapa.

Los resultados relacionados con la frecuencia de identificación de *B. fragilis* enterotoxigénico, en los grupos de estudio y control, fueron analizados mediante la Prueba de Fisher con un nivel de significación de 0,05.

## RESULTADOS

En el examen microscópico al fresco del flujo vaginal (400X) se evidenció la presencia de neutrófilos polimorfonucleares ( $\geq 20$  PMN/c), así como la disminución de lactobacilos ( $\leq 6$ ). Todas las pacientes presentaban flujo vaginal, cuyo pH varió entre 6 y 7.

En el exudado vaginal de las pacientes sintomáticas se identificaron en un 31,2% microorganismos considerados patógenos vaginales (Tabla I). En un 39,0%, se aislaron especies anaeróbicas de las cuales, el 21,3% fueron cocos Gram-positivos y el 17,8% fueron bacilos Gram-negativos, de éstos, el 13,3% (27 casos) fueron identificados como *Bacteroides fragilis* por sus características en la coloración de Gram como bacilos Gram-negativos, delgados, con extremos redondeados, ligeramente pleomórficos y capsulados, por la estimulación del crecimiento en presencia de bilis al 20%, la precipitación de la misma alrededor de las colonias, la hidrólisis de la esculina, catalasa positivo, indol negativo, no productor de  $\text{H}_2\text{S}$ , no fermentadores de manitol, trehalosa y ramosa y por la resistencia a Penicilina (2 U), Kanamicina (1.000 mg) y la sensibilidad a Rifampicina (15 mg).

En ninguna de las 63 muestras de mujeres sanas se detectaron bacterias patóge-

**TABLA I**  
MICROORGANISMOS PATÓGENOS AISLADOS  
DE EXUDADO VAGINAL DE PACIENTES  
SINTOMÁTICAS

Microorganismo	%
<i>Gardnerella vaginalis</i>	5,44
<i>Candida albicans</i>	13,36
<i>G. vaginalis</i> + <i>C. albicans</i>	0,49
<i>G. vaginalis</i> + <i>Mobiluncus</i>	0,49

nas, sin embargo, en cinco de ellas se identificó *B. fragilis* (7,9%).

Los ensayos de toxicidad revelaron que, las células HT-29 permanecieron inalteradas durante todo el período de incubación de las placas, cuando fueron tratadas con medio de cultivo solamente y con el sobrenadante de cultivo de *B. fragilis* TM-400 (cepa no toxigénica). Mientras que el sobre-

nadante del control positivo, cepa de *B. fragilis* 086 productora de toxina BFT2, indujo alteraciones en la morfología de la monocapa las cuales se hicieron evidentes a las 3 h de incubación, este efecto fue más prominente a las 48 h, cuando se observó el desprendimiento de la monocapa en un 80%, así como el redondeamiento, expansión y separación de las células. Estas alteraciones fueron registradas con un Patrón de 3+.

De las 27 cepas de *B. fragilis* identificadas en las pacientes sintomáticas, 18 resultaron enterotoxigénicas, mientras que las cepas de *B. fragilis* identificadas en los controles sanos no mostraron efecto alguno, diferencia estadísticamente significativa ( $P < 0,05$ ).

En la Fig. 1, se muestran las alteraciones de las células inducidas por los sobrenadantes de cultivos Bf-v.006 (1C), Bf-v.025 (1D), Bf-v.023 (1E), las cuales fueron regis-

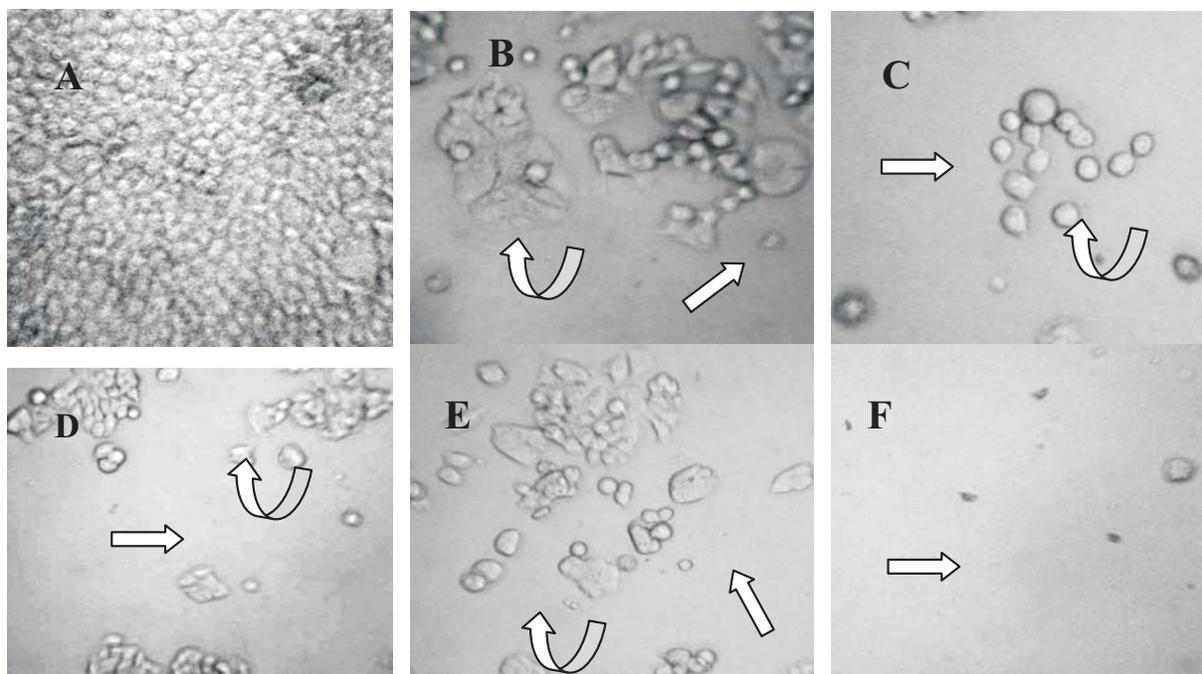


Fig. 1. Alteraciones morfológicas en células HT-29, inducidas por sobrenadantes de cultivo de *Bacteroides fragilis*, identificados en pacientes con vaginitis. Magnificación 400X. A: *B. fragilis* cepa TM-400, no toxigénica. Monocapa intacta. B: *B. fragilis* cepa 086, toxigénica. C: Bf-v. 006. D: Bf-v. 025. E: Bf-v. 023. F: Bf-v. 001. Desprendimiento de la monocapa (flechas rectas). Disolución de los acúmulos celulares, expansión y redondeamiento celular (flechas curvas).

tradas con un patrón de 3+, y con un patrón de 4+, la cepa 001 (1F). Algunos sobrenadantes de *B. fragilis* presentaron actividad citotóxica cuando fueron cultivados durante 48 h, mientras que otros, cuando se cultivaron durante 72 h.

En el 22,2%, *B. fragilis* enterotoxigénico se identificó conjuntamente con *Candida albicans* y de éstos, en un caso con *Mycoplasma hominis* y en otro con *Staphylococcus aureus*. En el 77,7% de las cepas de *B. fragilis* enterotoxigénico no se encontró asociado a ningún patógeno conocido (Tabla II).

## DISCUSIÓN

Aunque la vaginitis infecciosa es un trastorno ginecológico común, su etiología en muchos casos queda sin definición, por tal motivo, la búsqueda de agentes que pudieran explicar este síndrome es de primordial importancia en microbiología clínica. Recientemente, en un estudio constituido por 140 pacientes con vaginitis, se determinó que el 80% de las cepas de *B. fragilis* identificadas fueron enterotoxigénicas (27). Sin embargo, su papel como patógeno vaginal no ha sido estudiado, por lo cual se planteó investigar la posible asociación de *B. fragilis* enterotoxigénico con la vaginitis infecciosa.

La presencia de un  $N^{\circ} \geq 20$  leucocitos PMN/c de 400 X en la preparación al fresco del exudado vaginal, reveló la respuesta inflamatoria en las pacientes sintomáticas. La identificación en estas pacientes del 31,2% de diferentes especies consideradas patógenos vaginales, así como el gran número de anaerobios aislados (39,0%), podría explicar en algunos casos el desarrollo de la vaginitis, ya que varios de estos microorganismos han sido asociados con vaginosis bacteriana que según algunos autores podría preceder a esta entidad clínica (4,5), por esta razón y por la elevada proporción en el crecimiento

**TABLA II**  
BACTEROIDES FRAGILIS  
ENTEROTOXIGÉNICO Y OTROS  
MICROORGANISMOS IDENTIFICADOS  
EN PACIENTES CON VAGINITIS

<i>B. fragilis</i> enterotoxigénico <sup>(1)</sup>	Otros microorganismos <sup>(2)</sup>
14	-
2	<i>Candida albicans</i>
1	<i>C. albicans</i> + <i>Mycoplasma hominis</i>
1	<i>C. albicans</i> + <i>Staphylococcus aureus</i>

<sup>(1)</sup>*B. fragilis* enterotoxigénico por paciente. <sup>(2)</sup>Microorganismos aislados conjuntamente con *B. fragilis* enterotoxigénico.

en las placas de cultivo de *Gardnerella vaginalis*, así como por la presencia de un porcentaje significativo (20%) de células claves en el Gram del exudado se incluyó como patógeno potencial en este estudio.

De las 27 cepas de *B. fragilis* identificadas en las pacientes sintomáticas, 18 resultaron enterotoxigénicas, evidenciadas mediante las alteraciones que indujeron en la monocapa de las células HT/29. Estas alteraciones fueron desprendimiento de la monocapa, disolución de los acúmulos y cambios visibles en la morfología celular. Algunas cepas fueron más tóxicas que otras. Se ha demostrado que este efecto es tiempo y concentración dependiente (16). La cepa Bf-v. 001, cuyo sobrenadante disgregó totalmente los acúmulos en células individuales y generó cambios morfológicos visibles en todas las células, presentó el efecto tóxico cuando su sobrenadante se obtuvo a las 72 h de cultivo y no a las 48 h, sin embargo, esta no parece ser la razón de su mayor actividad, ya que las cepas Bf-v.006 y Bf-v.025, también presentaron actividad tóxica solamente cuando fueron cultivadas durante 72 h y su efecto tóxico fue similar al de la cepa Bf-v.023 la cual presentó toxicidad tanto a

las 48 h como a las 72. La variabilidad en el tiempo de la producción de la toxina ha permitido el planteamiento de varias hipótesis, las cuales contemplan diferencias en la expresión o tiempo de secreción de la toxina, así como la presencia de otros factores de virulencia. Información más reciente utilizando cepas con baja producción de enterotoxina, derivadas de cepas altamente toxigénicas, indican que el mecanismo probablemente responsable de este comportamiento está a nivel de la regulación de la transcripción de los genes que codifican la enterotoxina (19). Para evitar la aparición de falsos negativos, debe considerarse la variación en la producción de la enterotoxina, especialmente cuando se hacen ensayos con sistemas biológicos como son los cultivos celulares y en animales de experimentación. En estas condiciones experimentales el tiempo óptimo para detectar la enterotoxina fue de 72 h. Este lapso incluye las cepas que la producen a las 48 h.

La separación de los acúmulos celulares y los cambios morfológicos inducidos en la monocapa se debe a que la toxina hidroliza el dominio extracelular de la E-cadherina, proteína primaria de la *zonula adherens*, de esta manera altera la adhesión celular e incrementa la permeabilidad del epitelio, causando la redistribución intracelular de la actina, con cambios morfológicos en las células (16).

La presencia en las pacientes sintomáticas de *B. fragilis* enterotoxigénico en altos porcentajes (77,7%), sin asociación con otros patógenos específicos y su ausencia en los controles sanos, sugiere que la enterotoxina pueda tener un papel importante en la inflamación de la mucosa cérvico-vaginal de estas pacientes. La aparición de otros patógenos en un 22,2%, conjuntamente con *B. fragilis* enterotoxigénico no excluye la posibilidad de que este anaerobio forme parte de la etiología de este cuadro clínico. Esta circunstancia podría interpretarse

se como una acción sinérgica entre ambos microorganismos en la aparición de la vaginitis.

Aun cuando el mecanismo de acción de la enterotoxina de *B. fragilis* no está totalmente comprendido, la información disponible permite sugerir que así como actúa sobre la E-caderina del epitelio intestinal, pueda actuar en la E-caderina del epitelio vaginal, ya que esta proteína se encuentra en todos los tejidos epiteliales, incluyendo el de la mucosa vaginal (36) y así podría favorecer la invasión de *B. fragilis* enterotoxigénico, tal como ocurre con *Candida albicans* en el epitelio de la mucosa bucal (37).

Esta es la primera investigación que asocia a *Bacteroides fragilis* enterotoxigénico con la vaginitis infecciosa. Sin embargo, se requieren estudios adicionales para definir su papel etiológico en esta patología, así como la búsqueda de nuevos agentes que puedan explicar el alto porcentaje de vaginitis sin etiología conocida.

#### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Yolyver Higuerey de la Unidad de Cultivo de Células y Tejidos del Centro de Biofísica y Bioquímica del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), por facilitarnos amablemente la línea celular HT-29.

#### REFERENCIAS

1. **Quan M.** Vaginitis: meeting the clinical challenge. Clin Cornerstone 2000; 3: 36-41.
2. **Babic M, Hukic M.** Candida albicans and non-albicans species as etiological agent of vaginitis in pregnant and non pregnant women. J Basic Med Sci 2010;10:89-97.
3. **Mashburn J.** Etiology, diagnosis and management of vaginitis. J Mid Wom Health 2006; 51: 423-430.
4. **Curran D.** Bacterial vaginosis: Medicine obstetrics and gynecology. Indian J Med 2010;131:88-91.

5. **Workowski K, Berman S.** Diseases characterized by vaginal discharge. Sexually transmitted diseases treatment guidelines 2006. Centers for Disease Control and Prevention. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2006; 55(RR-11): 49-56.
6. **Finegold S.** Overview of clinically important anaerobes. Clin Infect Dis 1995; 20: 205-207.
7. **Gnocchi C.** Infección intraabdominal y nuevas quinolonas. Medicina 1999; 59: 47-54.
8. **Walker C, Wiesenfeld H.** Antibiotic therapy for acute pelvis inflammatory disease. The 2006 centers for disease control and prevention sexually transmitted diseases treatment guidelines. Clin Infect Dis 2007; 44: S111-S122.
9. **Aldridge K, Ashcraft T, O'Brian M, Sanders C.** Bacteremia due to *Bacteroides fragilis* group: Distribution of species,  $\beta$ -lactamase production and antimicrobial susceptibility patterns. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47:148-153.
10. **Jotwani R, Gupta U.** Virulence factors in *Bacteroides fragilis* group. Indian J Med Res 1991; 93: 232-235.
11. **Myers L, Firehammer B, Shoop D, Border M.** *Bacteroides fragilis*: A possible cause of acute diarrheal disease in newborn lambs. Infect Immun 1984; 44: 241-244.
12. **Myers L, Shoop D, Byars T.** Diarrhea associated with enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* foals. Am J Vet Res 1987; 48: 1565-1567.
13. **Myers L, Shoop D, Stackhouse L, Newman F, Flaherty R, Letson G, Sack B.** Isolation of enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* from humans with diarrhea. J Clin Microbiol 1987; 25: 2330-2333.
14. **Moncrief J, Obiso J, Barroso L, Kling J, Wright R, Van Tasell R, Lyerly D, Wilkins T.** The enterotoxin of *Bacteroides fragilis* is a metalloprotease. Infect Immun 1995; 66: 175-181.
15. **Obiso R, Lyerli M, Van Tasell R, Wilkins T.** Proteolytic activity of the *Bacteroides fragilis* enterotoxin causes fluid secretion and intestinal drenaje in vivo. Infect Immun 1995; 63: 3820-3826.
16. **Wu S, Lim K, Huang J, Saidi R, Sears C.** *Bacteroides fragilis* enterotoxin cleaves the zonula adherens protein E-cadherin. Proc Natl Acad Sci (USA) 1998; 95: 14979-14984.
17. **Ulger N, Rajendram D, Yagci A, Gharbia S, Shah H, Golluoglu B, Levhi A., Dermikalem P, Celenk T, Soyletir G.** The distribution of the bft alleles among enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* strains from stool specimens and extraintestinal sites. Anaerobe 2006; 12: 1271-1274.
18. **Franco A, Cheng R, Chung G, Wu S, Oh O, Sears C.** Molecular evolution of the pathogenicity island of enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* strains. J Bacteriol 1999; 181: 6623-6633.
19. **Sanfillippo L, Li C, Seth R, Balwin T, Menozzi M, Mahida Y.** *Bacteroides fragilis* enterotoxin induces the expression of IL-8 and transforming growth factor-beta (TGF-beta) by human colonic epithelial cells. Clin Exp Immunol 2000; 119: 456-463.
20. **Chambers F, Koshy S, Saidi R, Clark D, Moore R, Sears C.** *Bacteroides fragilis* toxin exhibits polar activity on monolayers of human intestinal epithelial cells (T84 cells) in vitro. Infect Immun 1997; 65: 3561-3570.
21. **Van Tassell R, Lyerly D, Wilkins T.** Purification and characterization of an enterotoxin from *Bacteroides fragilis*. Infect Immun 1992; 60: 1343-1350.
22. **Weikel C, Grieco F, Reuben J, Myers L, Sack R.** Human colonic epithelial cells, HT29/C1, treated with crude *Bacteroides fragilis* enterotoxin dramatically alter their morphology. Infect Immun 1992; 60: 321-327.
23. **Wells C, Van de Weaterlo E, Jechoreck R, Feltis B, Wilkins T, Erlandsen S.** *Bacteroides fragilis* enterotoxin modulates epithelial permeability and bacterial internalization by HT-29 enterocytes. Gastroenterology 1996; 110: 1429-1437.
24. **Mundy M, Sears C.** Detection of toxin production by *Bacteroides fragilis*: Assay development and screening of extraintestinal clinical isolates. Clin Infect Dis 1996; 23: 2899-2903.

25. **Kato N, Kato H, Watanabe K, Ueno K.** Association of *Bacteroides fragilis* with bacteremia. Clin Infect Dis 1996; 23: S83-S86.
26. **Toprak N, Yağci A, Gulluoğlu B, Akin M, Demirkalem P, Celenk T, Soyletir G.** A possible role of *Bacteroides fragilis* enterotoxin in the etiology of colorectal cancer. Clin Microbiol Infect 2006; 12: 782-786.
27. **Polanco N, López T, Urbina G, Carmona O.** *Bacteroides fragilis* enterotoxigénico aislado de pacientes con vaginitis. Rev Soc Ven Microb 2008; 28: 43-47.
28. **Avila-Campos M, Liu C, Song Y, Rowlinson M, Finegold S.** Determination of bft gene subtypes in *Bacteroides fragilis* clinical isolated. J Clin Microbiol 2007; 45:1336-1338.
29. **Sears C.** Enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*: A rogue among symbiotes. Clin Microbiol Rev 2009; 22: 49-69.
30. **Briceño E, Suárez E, Michelangi C, Feliciangeli D, Ptaiza E, Mendible J, Villalón M, Aguilera M, Ceballo H, Godoy J.** Código de Bioética y Bioseguridad 2002 capítulo 2 y 3. Ministerio de Ciencia y Tecnología (FONACIT) 2da Edición. Venezuela.
31. **Thomson RB, Miller JM.** Specimen collection, transport and processing Bacteriology. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Tenover FC, Tenover FC, editors. Manual of Clinical Microbiology, 8th ed. Washington: ASM Press; 2003, p.283-315.
32. **Van Dyck E, Leven M, Patlyn S, Van Damme L, Lağa M.** Detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae by enzyme immunoassay, culture, and three nucleic acid amplification tests. J Clin Microbiol 2001; 39(5):1751-1756.
33. **Jousimies-Somer HR, Summanen PH, Citron DM, Baron EJ, Wexler HM, Finegold.** Wadsworth-KTL Anaerobic Bacteriology Manual, 6th ed. Belmont, California: Star Publishing Company; 2002.
34. **Finegold SM, Edelstein M.A.** Bacilos Gram-negativos anaerobios no formadores de esporas. En: Lenette EH, Ballows A, Hausler WJ, Shadom HJ editores. Manual de Microbiología Clínica. Cuarta edición. 1987. p. 561-591.
35. **Dowell VR, Hawkins M.** Laboratory methods in anaerobic bacteriology. Laboratory Manual. Center for disease control (CDC) N°78. Atlanta.
36. **Epithelial cell Markers.** <http://www.antibodiesonline.com/news/2/485/>
37. **Villar C, Kashleva H, Nobile C, Mitchell A, Dongari-Bagtzoglou A.** Mucosal tissue invasion by *Candida albicans* is associated with E-cadherin degradation, mediated by transcription factor rim 101p and protease sap5p. Infect Immun 2007; 75: 2126-2135.