

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/6400001>

# [Biotypes and antibiotic resistance patterns of Gardnerella vaginalis strains isolated from healthy women and women with bacterial vaginosis]

Article in *Mikrobiyoloji Bulteni* · February 2007

Source: PubMed

CITATIONS

7

READS

205

7 authors, including:



**Ilknur Tosun**  
Hitit University

52 PUBLICATIONS 657 CITATIONS

SEE PROFILE



**Şengül Alpay Karaoğlu**  
Recep Tayyip Erdoğan University

202 PUBLICATIONS 4,539 CITATIONS

SEE PROFILE



**Kurtulus Buruk**  
Karadeniz Technical University

98 PUBLICATIONS 1,106 CITATIONS

SEE PROFILE



**Faruk Aydin**  
Manisa Celal Bayar University

74 PUBLICATIONS 776 CITATIONS

SEE PROFILE

**SAĞLIKLI VE BAKTERİYEL VAJİNOZLU KADINLARDAN İZOLE EDİLEN  
GARDNERELLA VAGINALIS SUŞLARININ BİYOTİPLENDİRİLMESİ VE  
ANTİBİYOTİK DİRENÇ DURUMLARININ BELİRLENMESİ**

BIOTYPES AND ANTIBIOTIC RESISTANCE PATTERNS OF *GARDNERELLA VAGINALIS* STRAINS ISOLATED FROM HEALTHY WOMEN AND WOMEN WITH BACTERIAL VAGINOSIS

**İlknur TOSUN\***, **Şengül ALPAY KARAOĞLU\*\***, **Hasan ÇİFTÇİ\*\*\***  
**Celal Kurtuluş BURUK\***, **Faruk AYDIN\***, **Ali Osman KILIÇ\***  
**Murat ERTÜRK\***

**ÖZET:** *Gardnerella vaginalis* normal vajinal floranın bir üyesi olarak kabul edilmekle birlikte bakteriyel vajinoz (BV) ile ilişkilendirilen bakteriler arasında dominant olanıdır. Bu çalışmada, çeşitli nedenlerle Aile Planlaması polikliniklerine başvuran 408 kadından alınan vajinal sürüntü örneklerinden *G.vaginalis* izolasyonu, biyotiplendirilmesi ve izolatların antibiyotik direnç durumlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. İzolatların biyotiplendirmesi hippurat hidrolizi, lipaz ve  $\beta$ -galaktozidaz testleri ile yapılmış; antibiyotik direnç profilleri, metronidazol için agar dilüsyon, klindamisin için disk difüzyon yöntemleri ile araştırılmıştır. Sonuç olarak, Nugent's skorlama protokolüne göre, kadınların 122'sinde (%29.9) BV, 120'sinde (%29.4) ara form (AF), 137'sinde (%33.6) normal vajinal flora (NVF) ve 18'inde (%4.4) mikotik vajinit (MV) tespit edilmiş, tüm örneklerden *G.vaginalis* izolasyon oranı %23 (94/408) olarak belirlenmiştir. İzolatların %56.4'ünün (53/94) BV'lu kadınlardan, %8.5'inin (8/94) ise NVF'si olan kadınlardan alınan örnekler ait olduğu izlenmiş ve aradaki fark anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). *G.vaginalis* suşlarının biyotiplendirilmesinde, tip 1 (%44), 5 (%20) ve 4 (%18) ilk sıralarda yer almış, BV'lu ve NVF'si olan kadınlardan izole edilen biyotipler arasında anlamlı bir fark tespit edilememiştir ( $p = 0.687$ ). Antibiyotik duyarlılık testleri sonunda da, suşların %70'inde metronidazol direnci saptanırken, bunların %57'sinin yüksek metronidazol MİK değerlerine ( $\geq 128 \mu\text{g/ml}$ ) sahip olduğu izlenmiştir. İzolatlarda klindamisin direnci ise %53 oranında tespit edilmiştir. Çalışmamızın verileri, *G.vaginalis* suşlarında metronidazol direncinin göz ardı edilemeyecek kadar yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Bunun yanı sıra normal florada

\* Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Trabzon. (ilknurt@meds.ktu.edu.tr).

\*\* Rize Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Rize.

\*\*\* T.C. Sağlık Bakanlığı, Trabzon Numune Eğitim Hastanesi, Trabzon.

bulunabilen *G.vaginalis* suşlarının daha geniş ve farklı gruplarda yapılacak çalışmalarla biyotiplendirilmesinin, farklı biyotipler ile BV oluşumu arasındaki ilişkinin aydınlatılmasında yararlı olacağı kanısına varılmıştır.

**Anahtar sözcükler:** Bakteriyel vajinoz, *Gardnerella vaginalis*, antibiyotik direnci.

**ABSTRACT:** As *Gardnerella vaginalis* is accepted as a member of normal vaginal flora, it is one of the dominant species which has been related to bacterial vaginosis (BV). The aim of this study was to determine the isolation rate, biotypes and antibiotic resistance patterns of *G.vaginalis* from the vaginal swab samples of 408 women who were admitted to the outpatient clinics of Family Planning Center. Hippurate hydrolysis, lipase and  $\beta$ -galactosidase tests were performed for biotyping the isolates, and agar dilution (for metronidazole) and disk diffusion (for clindamycin) tests were used for the detection of antibiotic resistance patterns. As a result, by Nugent's BV scoring protocol, 122 (29.9%), 20 (29.4%), 137 (33.6%), and 18 (4.4%) of the women were diagnosed as BV, intermediate form, normal vaginal flora (NVF) and mycotic vaginosis, respectively. The overall isolation rate of *G.vaginalis* was found as 23% (94/408). Of them, 56.4% (53/94) and 8.5% (8/94) were isolated from samples of BV cases and subjects with NVF, respectively, and the difference was statistically significant ( $p < 0.05$ ). The biotyping results showed that the most frequently detected types were biotype 1 (44%), 5 (20%) and 4 (18%). There was no statistically significant difference between the biotype distribution of BV patients and the subjects who have NVF ( $p = 0.687$ ). The results of antibiotic susceptibility tests indicated that 70% and 53% of the isolates were resistant to metronidazole and clindamycin, respectively. It was of interest that MIC values for metronidazole was  $\geq 128$   $\mu\text{g/ml}$  in 57% of resistant strains. The data of this study has emphasized that the metronidazole resistance is very high in our population, and the large scale studies are needed to clarify the relationship between BV and *G.vaginalis* biotypes, which can be found in the normal vaginal flora.

**Key words:** Bacterial vaginosis, *Gardnerella vaginalis*, antibiotic resistance.

## G İ R İ Ő

Bakteriyel vajinoz (BV), vajinal floranın bozulması sonucu zorunlu ve fakültatif anaerobik bakteri florasının değişmesi ile ortaya çıkan bir enfeksiyondur<sup>1</sup>. BV'da, laktobasil türlerinin sayıları azalır veya tamamen kaybolurken, *G.vaginalis*, genital mikoplazmalar, anaerobik Gram negatif basiller (*Bacteroides* ve *Mobiluncus* türleri) ve Gram pozitif kok türleri artmaktadır<sup>2-4</sup>. Son yıllarda preterm doğum ve intrauterin enfeksiyonlar, pelvik inflamatuvar hastalık ve postoperatif enfeksiyonların BV ile ilişkili olduğu gösterilmiş; ayrıca, cinsel yolla bulaşan enfeksiyonların kazanılmasında da rolünün olduğu vurgulanmıştır<sup>5-7</sup>.

Normal vajinal florada %20-40 oranında bulunabilen *G.vaginalis*'in epidemiyolojisi ile ilgili bilgiler ve izolatların biyotiplendirilmesinin, bu bakteri ile BV arasındaki ilişkinin anlaşılmasına yardım edeceği düşünülmektedir<sup>8-10</sup>. *G.vaginalis* suşları, hippurat hidrolizi,  $\beta$ -galaktozidaz ve lipaz aktivitelerine göre 8 farklı biyotipe ayrılmaktadır<sup>9</sup>.

*G.vaginalis*, BV'lu kadınların vajinal sıvılarında dominant olan ve en kolay izlenebilecek belirleyici bir mikroorganizmadır. BV'un tedavisi *G.vaginalis* ve diğer anaerobların baskılanması veya azaltılıp normal ekolojik dengesine indirilmesiyle yakından ilişkilidir<sup>11</sup>. BV için "Centers for Disease Control" (CDC) tarafından önerilen tedavi, oral veya vajinal yolla metronidazol ya da klindamisin kullanılmasıdır<sup>12</sup>. Bazı çalışmalarda ise, tedaviye rağmen gelişen antibiyotik direnç nedeniyle tekrarlama oranlarında artışın olduğu bildirilmiştir<sup>13</sup>.

Bu çalışmada, Aile Planlaması polikliniklerine çeşitli nedenlerle başvuran kadınlarda BV oranının belirlenmesi ve sağlıklı ve BV'lu kadınlardan izole edilen *G.vaginalis* suşlarının biyotip dağılımının ve BV tedavisinde yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere direnç durumunun tespit edilmesi amaçlanmıştır.

### GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma kapsamına, Sağlık Bakanlığı Trabzon Doğum ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi ile Trabzon Ana ve Çocuk Sağlığı Merkezinin Aile Planlaması Polikliniklerine başvuran 408 kadın dahil edildi. Gebe ve son bir ay içerisinde antibiyotik kullanan kadınlar çalışma dışı bırakıldı. Doğurganlık çağındaki kadınlardan izinleri alındıktan sonra jinekolojik muayene esnasında steril eküvyon ile vajinal yan duvarlar ve posterior fornixten olmak üzere ikişer adet sürüntü örneği alındı. Sürüntü örnekleri, tiyoglikolat besiyeri içeren tüplere konularak soğuk koşullarda laboratuvara ulaştırıldı.

Örneklerden bir tanesinden nativ ve boyalı preparatlar hazırlandı. Gram yöntemi ile boyanmış preparatlar Nugent ve arkadaşlarının<sup>14</sup> önerdiği yöntemle göre değerlendirilerek BV skorlamaları yapıldı. Diğer eküvyon ise ekim işlemiyle kullanıldı. Örnekler *G.vaginalis* izolasyonu amacı ile hemin, vitamin K<sub>1</sub> ve %5 insan kanı ilave edilmiş Columbia Nalidiksik Asit Agar (CNA) besiyerine tek koloni ekim yöntemi ile ekildi ve kültürler %5 CO<sub>2</sub>'li ortamda 48 saat inkübe edildi. Katalaz ve oksidaz reaksiyonları negatif, kültür ve boyanma özellikleri *G.vaginalis* olması muhtemel kolonilerden saf kültürler yapıldı.

Saf kültürlerden Nath ve arkadaşlarının<sup>15</sup> önerdiği yöntemle göre kromozomal DNA izolasyonu yapıldı. *G.vaginalis*'in 16S rRNA genine özgül primerler kullanılarak yapılan polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile pozitif kontrolle (*G. vaginalis* ATCC 49145) aynı ürün büyüklüğüne sahip izolatlar *G.vaginalis* olarak tiplendirildi<sup>16</sup>. *G.vaginalis* olduğu saptanan izolatların biyotiplendirmeleri Piot ve arkadaşlarının<sup>9</sup> önerdiği lipaz,  $\beta$ -galaktozidaz ve hippurat hidrolizi testleri ile yapıldı (Tablo I).

Tablo I: *G.vaginalis* Biyotiplendirmesinde Kullanılan Biyokimyasal Testler

Biyokimyasal testler	Epidemiyolojik Biyotipler							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Beta-galaktozidaz	+	-	-	+	-	+	-	+
Lipaz	+	+	+	+	-	-	-	-
Hippurat Hidrolizi	+	+	-	-	+	+	-	-

Antibiyotik duyarlılık testleri, gerek izolatların tekrar pasajlarındaki üreme başarısızlıkları gerekse antibiyotik etken maddelerinin yetersizliği nedeniyle sadece 40 izolat için uygulanabildi. Metronidazol için MİK değerleri agar dilüsyon yöntemi ile belirlendi<sup>17</sup>. Klindamisin içinse, ilacın etken maddesi elde edilemediği için direnç paternleri disk difüzyon testi ile değerlendirildi<sup>18</sup>.

İstatistiksel değerlendirme Fisher's ve ki kare testleri kullanılarak yapıldı.

## B U L G U L A R

Çalışmaya alınan kadınların %29.9'u (122/408) Nugent<sup>14</sup> skorlamasına göre mikroskopik olarak bakteriyel vajinoz (BV) olarak değerlendirilmiştir (Tablo II). Tüm örneklerden *G.vaginalis* izolasyon oranı ise %23 (94/408) olarak saptanmıştır. İzolatların %56.4'ünün (53/94) BV'lu kadınlardan, %8.5'inin ise (8/94) normal vajinal floraya sahip kadınlardan izole edildiği belirlenmiş ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Örneklerin mikroskopik tanılarına göre dağılımı ve kültürden *G.vaginalis* izolasyon oranları Tablo II'de görülmektedir.

Tablo II: Örneklerin Mikroskopik Tanılarına Göre Dağılımı ve *G.vaginalis* İzolasyon Oranları

Mikroskopik Tanı	Sayı (%)	<i>G.vaginalis</i> İzolasyonu Sayı (%)
Bakteriyel vajinoz	122 (29.9)	53 (56.4)
Ara flora	120 (29.4)	32 (34.0)
Normal vajinal flora	137 (33.6)	8 (8.5)
Mikotik vajinit	18 (4.4)	-
Parazitik vajinit	1 (0.2)	-
Değerlendirilemeyen	10 (2.5)	1 (1.0)
<b>Toplam</b>	<b>408 (100)</b>	<b>94 (100)</b>

İzole edilen 94 *G.vaginalis* suşundan üçü, pasajlar sonucu tekrar üretilemediğinden 91 izolat biyotiplendirilebilmiş ve sonuçlar Tablo III'de verilmiştir.

Tablo III: *G.vaginalis* Biyotiplerinin Dağılımı

Biyotip	Sayı (%)
1	40 (43.9)
2	8 (8.7)
3	2 (2.1)
4	16 (17.5)
5	18 (19.7)
6	2 (2.1)
7	2 (2.1)
8	3 (3.2)
<b>Toplam</b>	<b>91 (100)</b>

En sık rastlanan biyotiplerin tip 1, 5 ve 4 olduğu belirlenmiş ve yapılan istatistiksel değerlendirmede, BV'lu ve normal floraya sahip kadınlardan izole edilen suşlar arasında biyotip profilleri açısından bir fark bulunamamıştır ( $p=0.687$ ).

Antibiyotik direnç durumları araştırılan 40 izolatın 28'i (%70) metronidazole dirençli ( $\geq 32 \mu\text{g/ml}$ ) bulunmuş, dirençli olanların 16'sında (%57) yüksek MİK değerleri ( $\geq 128 \mu\text{g/ml}$ ) tespit edilmiştir. İzolatlarda klindamisin direnci ise %53 (21/40) olarak saptanmıştır. Biyotip 1 dışındaki tiplere ait yeterli sayıda izolat bulunmadığı için biyotipler arasında metronidazol ve klindamisin direnci açısından fark olup olmadığı istatistiksel olarak değerlendirilememiştir.

## TARTIŞMA

Bakteriyel vajinoz (BV), doğurganlık çağındaki kadınlarda görülen en yaygın vajinal enfeksiyondur. Gebe olmayan kadınlarda %15-30, gebelerde ise %50'den daha yüksek oranlarda karşımıza çıkmaktadır<sup>19,20</sup>. BV'un tedavisinde en sık kullanılan antibiyotikler metronidazol ve klindamisin, ancak gebe kadınlarda amoksisilin tercih edilmektedir<sup>19</sup>. Her ne kadar normal vajinal floranın bir üyesi olarak kabul edilse de *G.vaginalis*, BV'un etiyolojisinde klinik öneme sahiptir. BV'lu kadınların %98'inden *G.vaginalis* izole edilmesinin de bu hipotezi desteklediği düşünülmektedir<sup>20</sup>.

Bu çalışmada, vajinal sürüntü örneği alınan 408 kadının yaklaşık %30'unda BV tespit edilmiş ve izole edilen *G.vaginalis* suşlarının %56.4'ünün BV'lu hastalara ait olduğu saptanmıştır. *G.vaginalis* biyotiplerinden tip 1 (%43.9), tip 5 (%19.7) ve tip 4 (%17.5) en sık izole edilirken, tüm kadınlarda en az sıklıkta biyotip 6, 7 ve 8 bulunmuştur. Çalışmamızda, BV'lu ve normal floraya sahip kadınlarda *G.vaginalis* izolasyon oranı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiş ( $p<0.05$ ), ancak izolatların biyotip profilleri açısından bu gruplar arasında önemli bir fark bulunamamıştır ( $p>0.05$ ). Aroutcheva ve arkadaşları<sup>21</sup> BV'lu kadınların %87.5'inden *G.vaginalis* izole etmişler, biyotip 5'in daha ziyade sağlıklı kadınlardan izole edildiğini, buna karşın BV'lu kadınlarda biyotip 7 ve 8'in daha sık olduğunu bildirmişlerdir. Piot ve arkadaşları<sup>9</sup> üç farklı coğrafik bölgede yaptıkları çalışmada, sırasıyla biyotip 1, 5 ve 2'yi en yaygın biyotipler olarak rapor etmişlerdir. Briselden ve arkadaşlarının<sup>22</sup> çalışmasında ise, sık rastlanan biyotip sıralaması tip 5, 6, 1 ve 8 olarak belirlenmiş, tip 7 ise hiç izole edilmemiştir. Pandit ve arkadaşlarının<sup>23</sup> çalışmasında biyotip 5, 1 ve 2 sıklıkla izole edilirken, Simoes ve arkadaşlarının<sup>24</sup> çalışmasında en sık biyotip 7 ve 5 saptanmıştır. Tüm bu veriler, biyotip profil dağılımının bölgesel ve toplumsal farklılıklar gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Son yıllarda *G.vaginalis* suşlarının metronidazol direncinde artış olduğu dikkati çekmektedir. Ayesha ve arkadaşları<sup>25</sup> 1993 yılında yaptıkları çalışmada, %20 oranında metronidazol direnci saptadıklarını ve sadece bir suşta yüksek MİK düzeyi ( $\geq 128 \mu\text{g/ml}$ ) olduğunu bildirmişlerdir. Buna karşın Aroutcheva ve arkadaşlarının<sup>21</sup> 2001 yılında yayınlanan çalışmalarında, *G.vaginalis* izolatlarında metronidazol direnci %64 olarak bildirilmiş ve biyotip 5 ile 7'nin metronidazole dirençli suşların %78'ini oluşturduğu ifade edilmiştir. Yapılan bir başka çalışmada, %28 oranında metronidazol direnci saptanırken, tüm suşların klindamisine duyarlı

olduğu bildirilmiştir<sup>26</sup>. Bannatyne ve arkadaşları<sup>27</sup> da, metronidazole dirençli *G.vaginalis* suşları ile tedavide başarısızlıklar bildirmektedirler. Çalışmamızda, *G.vaginalis* suşlarının %70'inde metronidazol direnci tespit edilmiş, dirençli olanların %57'sinde ise yüksek MİK değerleri saptanmıştır ( $\geq 128 \mu\text{g/ml}$ ). Ancak biyotip 1 dışındaki izolat sayısının yeterli olmaması nedeniyle, biyotipler arasında metronidazol ve klindamisin direnci açısından fark olup olmadığı istatistiksel olarak değerlendirilememiştir.

*G.vaginalis* izolasyon oranının %23 olarak belirlendiği çalışmamızda, izolatların %56.4'ünün bakteriyel vajinozlu kadınlarda saptandığı izlenmiş ve en sık rastlanan biyotiplerin sırasıyla tip 1, 5 ve 4 olduğu tespit edilmiştir. Bulgularımız ayrıca, *G.vaginalis* izolatlarında metronidazol direncinin göz ardı edilemeyecek düzeyde yüksek olduğunu göstermektedir. Sonuç olarak, *G.vaginalis* biyotiplerinin bakteriyel vajinozun patogenezi ve antibiyotik direnci ile olan ilişkilerinin aydınlatılmasında, farklı bölge ve toplumlarda yapılacak olan daha geniş çalışmalara gereksinim vardır.

#### KAYNAKLAR

1. İnan İ, Erbaş O, Acar N, Ereser N. Vajinitler, teşhis ve vajinal kültür. T Klin Jinekoloj Obstet 1993; 3: 64-6.
2. Holts E, Wathne B, Hovelius B, Mardh P. Bacterial vaginosis: microbiological and clinical findings. Eur J Clin Microbiol 1987; 6: 536-41.
3. Eschenbach D, Hillier SL, Critchlow C, Stevens C, DeRouen T, Holmes K. Diagnosis and clinical manifestations of bacterial vaginosis. Am J Obstet Gynecol 1988; 158: 819-29.
4. Beigi RH, Austin MN, Meyn LA, Krohn MA, Hillier SL. Antimicrobial resistance associated with the treatment of bacterial vaginosis. Am J Obstet Gynecol 2004; 191: 1124-9.
5. Taha TE, Hoover DR, Dallabetta GA, et al. Bacterial vaginosis and disturbances of vaginal flora: association with increased acquisition of HIV. AIDS 1998; 12: 1699-706.
6. Weisenfeld HC, Hillier SL, Krohn MA, Landers DV, Sweet RL. Bacterial vaginosis is a strong predictor of *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* infection. Clin Infect Dis 2003; 36: 663-8.
7. Cherpes TL, Meyn LA, Krohn MA, Lurie JG, Hillier SL. Association between acquisition of herpes simplex virus type 2 in women and bacterial vaginosis. Clin Infect Dis 2003; 37: 319-25.
8. Akata F: Bakteriyel vajinoz. Flora 1997; 3: 216-22.
9. Piot P, Van Dyck E, Peeters M, Hale J, Totten PA, Holmes KK. Biotypes of *Gardnerella vaginalis*. J Clin Microbiol 1984; 20: 677-9.
10. Nath K, Devlin D, Beddoe AM. Heterogeneity in restriction patterns of *G.vaginalis* isolates from individuals with bacterial vaginosis. Res Microbiol 1992; 143: 199-209.
11. Catlin BW. *Gardnerella vaginalis*: characteristics, clinical considerations and controversies. Clin Microbiol Rev 1992; 5: 213-37.
12. Center for Disease Control. Sexually transmitted diseases treatment guidelines. Morb Mortal Wkly Rep MMWR 2002; 51: 42-8.
13. Hillier SL, Holmes KK. Bacterial vaginosis, pp: 563-86. In: Holmes KK, Sparling PF, Mardh PA, Lemon SM, Stamm WE, Piot P (eds), Sexually Transmitted Diseases. 1999, McGraw Hill Co, New York.
14. Nugent RP, Khron MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of Gram stain interpretation. J Clin Microbiol 1991; 29: 297-301.
15. Nath K, Galdi J. Rapid salt based mini scale *G.vaginalis* DNA isolation procedure. Biotechniques 1995; 19: 738-40.

16. Yıldızbaş K. Bakteriyel vajinozis olgularında *G.vaginalis*'in tanısında kullanılan klasik yöntemler ve bir erken tanı yöntemi olarak PCR'in yeri. 1997, Yüksek Lisans Tezi. KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
17. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria. Approved Standard, NCCLS Document M11-A5. 2001, 5<sup>th</sup> ed. Wayne, PA.
18. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. NCCLS Document M100-S9. 1999, 9th Informational Supplement Vol 19. Wayne, PA.
19. Spiegel CA. Bacterial vaginosis. Clin Microbiol Rev 1991; 4: 485-502.
20. Eschenbach DA. History and review of bacterial vaginosis. Am J Obstet Gynecol 1993; 169: 441-5.
21. Aroutcheva AA, Simoes JA, Behbakht K, Faro S. *Gardnerella vaginalis* isolated from patients with bacterial vaginosis and from patients with healthy vaginal ecosystems. CID 2001; 33: 1022-6.
22. Briselden AM, Hillier SL. Longitudinal study of the biotypes of *Gardnerella vaginalis*. J Clin Microbiol 1990; 28: 2761-4.
23. Pandit DV, Barve SM, Deodhar LP. Biotypes of *Gardnerella vaginalis* isolated from non-specific vaginitis patients in Bombay. Indian J Med Res 1989; 89: 435-8.
24. Simoes JA, Aroutcheva AA, Heimler I, Shoot S, Faro S. Bacteriocin susceptibility of *Gardnerella vaginalis* and its relationship to biotype, genotype and metronidazole susceptibility. Am J Obstet Gynecol 2001; 185: 1186-90.
25. Ayesha BM, Hoosen AA, Vandende J. Antimicrobial susceptibilities of *Gardnerella vaginalis*. Antimicrob Agent Chemother 1993; 37: 2733-5.
26. Goldstein EJC, Citron DM, Merriam CV, Warren YA, Tyrrell KL, Fernandez HT. In vitro activities of garenoxacin (BMS-284756) against 108 clinical isolates of *Gardnerella vaginalis*. Antimicrob Agent Chemother 2002; 46: 3995-6.
27. Bannatyne RM, Smith AM. Recurrent bacterial vaginosis and metronidazole resistance in *G.vaginalis*. Sex Transm Infect 1998; 74: 455-6.