

Utilizzo del tocoferolo acetato nella terapia delle vaginosi batteriche in gravidanza

V. GAMBARDELLA, N. SORRENTINO, A. CIOTOLA, G. BORRUTO CARACCILO,
E. PAPADOSIFOU, A. TOLINO

RIASSUNTO: Utilizzo del tocoferolo acetato nella terapia delle vaginosi batteriche in gravidanza.

V. GAMBARDELLA, N. SORRENTINO, A. CIOTOLA, G. BORRUTO CARACCILO, E. PAPADOSIFOU, A. TOLINO

La vaginosi batterica in gravidanza è associata a importanti conseguenze cliniche come aborto tardivo, parto pretermine, rottura prematura o precoce delle membrane e basso peso alla nascita.

È sul rischio di parto pretermine che si è focalizzata la nostra attenzione. I mediatori dell'infiammazione, prodotti a seguito dell'infezione ascendente che si instaura in corso di vaginosi, sono coinvolti nella patogenesi del parto pretermine.

Il nostro studio ha coinvolto 250 pazienti gravide tra le 13 e le 16 settimane di gestazione risultate positive al tampone vaginale per vaginosi batteriche. Scopo dello studio è stato quello di paragonare la terapia topica a base di metronidazolo, convenzionalmente usata per la vaginosi in gravidanza, con la terapia con tocoferolo acetato.

La terapia topica con metronidazolo associata ad un ovulo di tocoferolo acetato risulta migliore rispetto alla sola terapia topica con metronidazolo in caso di vaginosi batteriche in gravidanza.

Il tocoferolo o vitamina E ha un'azione antinfiammatoria tramite l'inattivazione di importanti enzimi leucocitari e la riduzione della formazione di mediatori che potenziano l'infiammazione.

SUMMARY: Tocopherol acetate in the therapy of bacterial vaginosis in pregnancy.

V. GAMBARDELLA, N. SORRENTINO, A. CIOTOLA, G. BORRUTO CARACCILO, E. PAPADOSIFOU, A. TOLINO

Bacterial vaginosis in pregnancy is associated to important clinical consequences as late abortion, preterm delivery, premature or precocious rupture of the membranes and low birth weight. We focused our attention on the risk of preterm delivery. The mediators of the inflammation, produced following ascending infection established during vaginosis, are involved in the pathogenesis of the preterm delivery.

Our study has involved 250 pregnant patients among the 13 and the 16 weeks of pregnancy, positive to vaginal tampon sampling for bacterial vaginosis. The purpose of the study has been to compare topic therapy with metronidazole, conventionally used for the vaginosis in pregnancy, to the therapy with tocopherol acetate.

Topic therapy with metronidazole associated to an ovule of tocopherol acetate is better than the topic therapy with metronidazole alone in case of bacterial vaginosis in pregnancy.

Tocopherol acetate or vitamin E has an anti-inflammatory action through inactivation of important leukocytary enzymes and reduction of the developing of mediators that increase inflammation.

KEY WORDS: Vaginosi batterica - Parto pretermine - Tocoferolo acetato.
Bacterial vaginosis - Preterm delivery - Tocopherol acetate.

Introduzione

La vaginosi batterica è una patologia ad etiologia polimicrobica, caratterizzata da due fattori principali: profonde modificazioni dell'ecosistema vaginale e mancanza dei fenomeni tipici delle vaginiti.

La flora batterica vaginale normale è ricca di lattobacilli produttori perossido e ha un ph acido di 4-5.

Nelle vaginosi batteriche, invece, la flora vaginale è

costituita principalmente da microrganismi anaerobi: in primis *Gardnerella vaginalis* (presente nel 50-90% delle colture), seguita da *bacteroides*, *peptostreptococchi*, *mobiluncus*; frequente è il riscontro di *Mycoplasma hominis* (1, 4, 21).

I lattobacilli produttori perossido sono scarsi (< 5%); al loro posto si rilevano lattobacilli non produttori perossido e il ph vaginale è meno acido (5-5.5) rispetto al normale (1, 16).

Questa patologia è tipica delle donne sessualmente attive e con livelli di estrogeni normali o aumentati. Il contagio è secondario a rapporti sessuali, ma anche all'uso di servizi igienici, asciugamani o indumenti contaminati.

Una volta stabilitasi l'infezione, i germi possono colonizzare il retto, che diventa pertanto un importante serbatoio di microrganismi e dunque causa di frequenti recidive.

Il quadro sintomatologico è piuttosto modesto, infatti, solo poche pazienti riferiscono bruciore e prurito, mentre nella maggior parte dei casi lamentano unicamente perdite di colore grigio o giallastro.

Tali perdite hanno la caratteristica di emanare un cattivo odore ("di pesce avariato"), più intenso dopo il coito, che è frutto della liberazione di amine (cadaverina e putresceina) prodotte dal metabolismo batterico non soltanto della Gardnerella, ma dei molteplici microrganismi che ad essa si associano.

In gravidanza la vaginosi batterica può comportare diversi problemi.

Quando è diagnosticata fra le 12 e le 16 settimane di gestazione, in assenza di terapia, vi è un aumentato rischio di aborto tardivo, di parto pretermine o di rottura prematura o precoce delle membrane e di basso peso alla nascita (1-3, 5, 9, 17, 20).

Non è noto se nelle prime settimane di gravidanza la vaginosi aumenti anche il rischio di aborto precoce.

La fisiopatologia di tali condizioni sembra sia strettamente correlata al fatto che, in caso di vaginosi, è facilitata la penetrazione dei germi nel canale cervicale e nella cavità uterina; a seguito di ciò si verificherebbe un'infezione della decidua, una corionamnionite o un'infezione endoamniotica in varia combinazione (raramente potrebbe prodursi persino una sepsi fetale e la morte del feto) (1, 7, 8, 11-13, 15, 19).

La reazione infiammatoria stimola la produzione di citochine e prostaglandine (PG) da parte della decidua e delle membrane amniocoriali con conseguente rischio di aborto tardivo e di parto pretermine.

Le citochine proinfiammatorie sono prodotte dai macrofagi presenti nella decidua e nel corion (soprattutto IL1 e TNF) che a loro volta attivano la produzione locale di prostaglandine (PG), leucotrieni ed endotelina.

Questo effetto è amplificato dall'IL6, la cui produzione da parte di decidua e corion è intensificata dall'azione dell'IL1 e del TNF. Le citochine proinfiammatorie favoriscono inoltre l'espressione di enzimi proteolitici da parte dei medesimi tessuti (decidua e corion), quali le proteasi attive sul collagene (collagenasi) e l'IL8 che a sua volta esercita azione chemiotattica sui neutrofilii.

Questi ultimi producono elastasi che, insieme alla collagenasi, da un lato potenziano l'azione delle PG nell'indurre la tipica trasformazione strutturale del collo uterino che consente il parto (maturazione cervicale), dall'altro facilitano la separazione del corion dalla decidua, infine disgregano l'architettura delle membrane amniocoriali favorendone la spontanea rottura.

L'ipersollecitazione materna e fetale (stress materno e fetale) determina l'immissione in circolo di ormoni della reazione allo stress quali: cortisolo, catecolamine, vasopressina, ossitocina ed ormone del rilascio della corticotropina (CRH).

Il CRH è un peptide prodotto non solo dall'ipotalamo, ma anche dal corion, dall'amnios e dalla decidua.

Il cortisolo inibisce la produzione ipotalamica di CRH, ma la potenzia a livello periferico (membrane amnio-coriali e decidua).

A sua volta il CRH non solo stimola un'aumentata secrezione di cortisolo fetale (che accelera la maturazione di molti tessuti fetali ed in particolare del polmone fetale), ma promuove anche la produzione locale di PG.

Poiché le PG come il cortisolo, stimolano la produzione locale di CRH, si forma un circolo di autopotenziamento a livello delle cellule corion-amnio-deciduali fra CRH da un lato e cortisolo e PG dall'altro. Questo circolo di autopotenziamento è ulteriormente rafforzato dall'azione di noradrenalina e vasopressina, che favoriscono anch'esse le produzioni di CRH da parte delle cellule corion-amnio-deciduali.

Anche l'angiotensina II agirebbe nel medesimo senso.

L'ischemia utero-placentare provocata comporta un danneggiamento locale dei tessuti che, da un lato stimola la produzione locale di PG, dall'altro porta ad una condizione di stress materno e soprattutto fetale e quindi ad aumentata produzione di CRH col meccanismo sopra descritto.

Le emorragie deciduali possono comportare condizioni di stress fetali e di ischemia placentare e così attivare i meccanismi a cui si è accennato. Inoltre possono promuovere reclutamento di macrofagi con aumentato rilascio locale di PG.

Il risultato finale dei meccanismi sopra descritti è l'attivazione delle contrazioni del miometrio, la maturazione del collo dell'utero in senso permissivo al parto, lo scollamento parziale del corion della decidua in prossimità del polo inferiore del sacco amniocoriale ed infine la facilitazione della rottura spontanea pretermine prematura delle membrane.

Per avere il travaglio di parto non è necessario che le modificazioni iniziali siano molto vistose, in quanto come abbiamo visto, la produzione di sostanze che lo favoriscono si autopotenzia.

L'azione diretta di mediatori dell'infiammazione sulla permeabilità dei capillari, unita ai disturbi circolatori causati dalle citochine e dalle altre sostanze vasoattive sul circolo cerebrale fetale, porta un'anossia stagnante, ischemica ed istotossica con conseguente encefalopatia fetale anche grave (Encefalopatia asettica concomitante) (21-27).

In corso di vaginosi all'esame ginecologico si osserva una perdita cremosa, grigiastra, in quantità variabile e aderente alla parete vaginale, che non si presenta arrossata né edematosa.

La diagnosi di certezza e soprattutto la diagnosi differenziale con la vaginite da *Trichomonas* è laboratoristica: l'aggiunta di KOH al 10% al vetrino, sul quale sono distese le secrezioni, ne fa accentuare l'odore tipico (sniff test).

All'esame a fresco si riscontrano pochi lattobacilli, assenza di quadri purulenti (leucociti) e numerose cellule epiteliali vaginali punteggiate, granulose e a margini indistinti, dette "clue cells", disposte in ammassi.

L'aspetto punteggiato delle "clue cells" è dovuto all'adesione sulla loro superficie di numerose Gardnerelle, dalle quali vengono parassitate.

Dopo colorazione di Gram, le Gardnerelle si presentano come microrganismi Gram -, con aspetto ricurvo ed estremità arrotondate, accompagnate da scarsi lattobacilli.

Lo screening delle donne in gravidanza e il trattamento precoce delle vaginosi permettono di ridurre l'incidenza degli effetti avversi determinati dall'infezione (18).

Scopo del nostro studio è quello di mettere a confronto la terapia convenzionale topica per la vaginosi batterica in gravidanza (metronidazolo) e la terapia con tocoferolo acetato (7, 10, 14, 28-34).

Materiali e metodi

Lo studio è stato condotto presso la Clinica Ostetrica-Ginecologica dell'AOU Federico II di Napoli tra gennaio 2006 e gennaio 2007 ed ha coinvolto 250 pazienti gravide tra le 13 e le 16 settimane di gestazione

risultate positive al tampone vaginale per vaginosi batteriche. Sono state escluse dallo studio le pazienti con cerchiaggio, affette da diabete, con anamnesi positiva per parto pretermine o pregressa rottura prematura delle membrane, e pazienti con tampone positivo per infezioni sessualmente trasmesse.

Inoltre sono state escluse dallo studio le pazienti sottoposte a terapia antibiotica, sistemica o locale, meno di due settimane prima del reclutamento, le gravidanze gemellari e plurime.

Tale gruppo di gravide è omogeneo per razza, età, altezza e peso. Di queste pazienti 50 non sono state sottoposte ad alcuna terapia (Gruppo A), 50 sono state trattate solo con un ovulo di tocoferolo al giorno (Gruppo B), 50 con un ovulo di tocoferolo e terapia topica (gel vaginale a base di metronidazolo) 1 volta al giorno (Gruppo C), 50 con due ovuli di tocoferolo al giorno (Gruppo D) e 50 pazienti solo con terapia topica (gel vaginale a base di metronidazolo) 1 volta al giorno (Gruppo E) (Tab. 1).

Un secondo tampone è stato eseguito circa 7 giorni dopo l'esecuzione della terapia. La terapia è stata considerata efficace quando ha portato alla negativizzazione del tampone vaginale. Sono inoltre stati considerati anche gli effetti collaterali delle varie terapie.

Risultati

Nel Gruppo A il 98% delle pazienti, ad un successivo controllo tramite tampone vaginale a distanza di 7 giorni, è risultato positivo per infezione da vaginosi batterica. Dopo il trattamento con un ovulo al giorno di tocoferolo acetato per 15 giorni (Gruppo B), il 94% delle pazienti ha mostrato una persistenza della flora batterica vaginale anomala. Nel Gruppo E, sottoposto

TABELLA 1 - TIPI DI TERAPIA NELLE 5 CLASSI DI PAZIENTI.

GRUPPO A	50 Pazienti	Placebo
GRUPPO B	50 Pazienti	1 ovulo di Tocoferolo acetato al giorno
GRUPPO C	50 Pazienti	1 ovulo di Tocoferolo acetato e terapia topica (gel vaginale a base di metronidazolo)
GRUPPO D	50 Pazienti	2 ovuli di Tocoferolo acetato
GRUPPO E	50 Pazienti	Terapia topica (gel vaginale a base di metronidazolo)

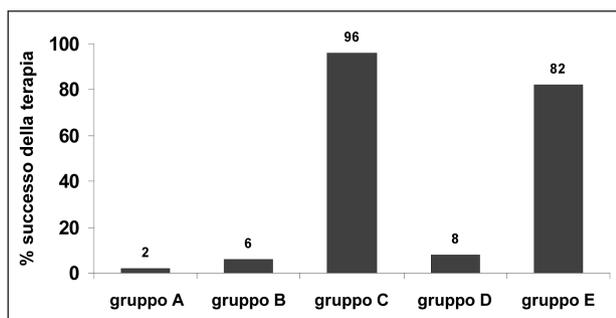


Fig. 1 - Percentuale di successo delle varie terapie nei diversi gruppi.

alla sola terapia topica, l'82% a termine del trattamento è risultato negativo per infezione batterica vaginale.

Inoltre, il Gruppo C presentava il 96% di successo della terapia, mentre nel Gruppo D in cui il 92% delle pazienti presentava a distanza di 7 giorni dalla terapia ancora infezione da vaginosi batterica (Fig. 1). Non si sono verificati parti pretermine né si sono evidenziate differenze tra i Gruppi C, D ed E per quanto riguarda epoca, modalità del parto ed outcome neonatale. Invece, parti pretermine si sono presentati nel 30% delle pazienti del Gruppo A e nel 20% delle pazienti nel Gruppo B. Da ciò si evince l'importanza dell'utilizzo della terapia topica associata ad un ovulo di tocoferolo acetato in caso di vaginosi batteriche in gravidanza. Per quanto riguarda gli effetti collaterali, il tocoferolo acetato è risultato ben tollerato rispetto alla terapia topica, che ha dato nel

4% dei casi reazioni quali cefalea e secchezza delle fauci nelle donne che avevano avuto solo terapia con metronidazolo (Tab. 2).

Le sole manifestazioni avverse riscontrate tra le donne che avevano assunto solo tocoferolo acetato sono state bruciore e prurito vaginale in una piccola percentuale di casi (1 e 2% rispettivamente), nonostante il tampone fosse negativo, contro il 4 e il 6% rispettivamente della terapia con metronidazolo.

Per verificare la significatività della differenza tra i risultati ottenuti nei gruppi C e E (Fig. 1) è stato effettuato un test statistico χ^2 .

L'ipotesi nulla è che non esista differenza di efficacia significativa tra le terapie dei gruppi C ed E.

Sono state realizzate due tabelle di contingenza, una per i dati osservati (Tab. 3) e una per i dati attesi (Tab. 4).

Per il tipo di Tabella usato 2x2 il test è stato effettuato per 1 grado di libertà perché:
 gradi di libertà = (n° di righe-1) x (n° di colonne-1).

La formula del χ^2 è: $\chi^2 = \sum_{i=1} (O_i - A_i)^2 / A_i$
 dove O rappresenta i valori osservati e A i valori attesi;

Sostituendo i valori delle due tabelle di contingenza (Tabb. 3 e 4) si ha:

$$\chi^2 = 4.99$$

confrontando il valore ottenuto con i valori del χ^2 per 1 grado di libertà (Tab. 5) si giunge alla conclusione che è possibile rifiutare l'ipotesi nulla (cioè che non c'è differenza tra i trattamenti dei gruppi C ed E) a un li-

TABELLA 2 - EFFETTI COLLATERALI DEL TOCOFEROLO ACETATO E DELLA TERAPIA TOPICA.

Effetto collaterale	Tocoferolo acetato (Gruppo B)	Terapia topica (Gruppo E)
Bruciore vaginale	1%	4%
Cefalea e secchezza delle fauci	0%	4%
Prurito vaginale	2%	6%

TABELLA 3 - TABELLA DATI OSSERVATI O.

	Persone guarite	Persone non guarite	totale
Tocoferolo+ metronidazolo	48	2	50
metronidazolo	41	9	50
totale	89	11	100

TABELLA 4 - TABELLA DATI ATTESI A.

	Persone guarite	Persone non guarite	totale
Tocoferolo+ metronidazolo	44.5	5.5	50
metronidazolo	44.5	5.5	50
totale	89	11	100

TABELLA 5 - VALORI DI χ^2 .

Gradi di libertà	Probabilità	
	5%	1%
1	3.841	6.635
2	5.991	9.210
3	7.815	11.345
4	9.488	13.277
5	11.070	15.086
6	12.592	16.812
7	14.067	18.475
...

vello di probabilità del 5%, in quanto il risultato è superiore a 3.841.

Poiché il test è stato eseguito per 1 grado di libertà e poiché il numero di osservazioni è inferiore a 500, per avere una maggiore accuratezza del test è preferibile applicare alla formula del χ^2 anche la correzione di Yates ovvero il valore osservato più alto deve essere ridotto di 0.5; il valore più basso deve essere aumentato di 0.5. In questo caso si ha:

$$\chi^2 = 4.33$$

confrontando il valore ottenuto con i valori del χ^2 per 1 grado di libertà (Tab. 5) si osserva che, anche con la correzione di Yates, il risultato non cambia, perché il risultato è superiore a 3.841, dunque rifiutiamo l'ipotesi nulla a un livello di probabilità del 5%.

A questo punto si può affermare che in base al risultato del test del χ^2 la differenza di efficacia tra i trat-

tamenti delle persone dei Gruppi C ed E risulta statisticamente significativa ad un livello di probabilità del 5%, il che vuol dire che è possibile rifiutare l'ipotesi nulla e si può dichiarare che l'associazione di tocoferolo e metronidazolo permette di migliorare significativamente i risultati terapeutici ottenuti, rispetto alla sola somministrazione topica di metronidazolo.

Conclusioni

Lo screening delle vaginosi batteriche in gravidanza va effettuato entro le 16 settimane di amenorrea, poiché dopo quest'epoca qualsiasi terapia risulta inutile dal momento che l'eventuale danno da vaginosi batterica si è già realizzato. Ruolo fondamentale nella terapia del parto pretermine è svolta dal tocoferolo acetato per molteplici effetti antinfiammatori.

Esso ha azione antiossidante attraverso la rimozione e la disattivazione dei radicali liberi, responsabili dello stato infiammatorio.

Ha, pertanto, un'azione antinfiammatoria tramite l'inattivazione di importanti enzimi leucocitari e la riduzione della formazione di mediatori che potenziano l'infiammazione.

Il tocoferolo acetato svolge anche un'azione tonificante per effetto dermatrofico, rendendo le mucose più reattive e meno sensibili agli insulti. Da ciò si evince anche la buona tollerabilità dello stesso.

L'associazione del tocoferolo acetato alla terapia topica con metronidazolo nel trattamento delle vaginosi batteriche in gravidanza, permette di migliorare significativamente i risultati terapeutici ottenuti, rispetto alla sola somministrazione topica di metronidazolo, coadiuvando l'azione di quest'ultimo.

Bibliografia

1. NELSON DB, BELLAMY S, NACHAMKIN I, RUFFIN A, ALLEN-TAYLOR L, FRIEDENBERG FK. *Characteristics and Pregnancy Outcomes of Pregnant Women Asymptomatic for Bacterial Vaginosis*. Matern Child Health J. 2007 Jun 2.
2. NELSON DB, BELLAMY S, NACHAMKIN I, NESS RB, MACONES GA, ALLEN-TAYLOR L. *First trimester bacterial vaginosis, individual microorganism levels, and risk of second trimester pregnancy loss among urban women*. Fertil Steril. 2007 Apr 13.
3. THANAVUTH A, CHALERMCHOCKCHAROENKIT A, BORIBOONHIRUNSARN D, SIRISOMBOON R, PIMOL K. *Prevalence of bacterial vaginosis in Thai pregnant women with preterm labor in Siriraj hospital*. J Med Assoc Thai. 2007 Mar;90(3):437-41.
4. TAYLOR-ROBINSON D. *The role of mycoplasmas in pregnancy outcome*. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2007 Jun;21(3):425-38. Epub 2007 Mar 19.
5. KARAT C, MADHIVANAN P, KRUPP K, POORNIMA S, JAYANTHI NV, SUGUNA JS, MATHAI E. *The clinical and microbiological correlates of premature rupture of membranes*. Indian J Med Microbiol 2006 Oct;24(4):283-5.
6. UGWUMADU AH, HAY P. *Bacterial vaginosis: sequelae and management*. Curr Opin Infect Dis. 1999 Feb;12(1):53-9.
7. KALINKA J, KRAJEWSKI P, SOBALA W, WASIELA M, BRZEZINSKA-BLASCZYK E. *The association between maternal cervicovaginal proinflammatory cytokines concentrations during pregnancy and subsequent early-onset neonatal infection*. J Perinat Med. 2006;34(5):371-7.
8. PARARAS MV, SKEVAKI CL, KAFETZIS DA. *Preterm birth due to maternal infection: Causative pathogens and modes of prevention*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2006 Sep;25(9):562-9.
9. AZARGOON A, DARVISHZADEH S. *Association of bacterial vaginosis, trichomonas vaginalis, and vaginal acidity with outcome of pregnancy*. Arch Iran Med. 2006 Jul;9(3):213-7.
10. YUDIN MH. *Bacterial vaginosis in pregnancy: diagnosis, screening, and management*. Clin Perinatol 2005 Sep;32(3):617-27.

11. DE SETA F, SARTORE A, PICCOLI M, MASO G, ZICARI S, PANERARI F, GUASCHINO S. *Bacterial vaginosis and preterm delivery: an open question*. J Reprod Med 2005 May;50(5):313-8.
12. GOYAL R, SHARMA P, KAUR I, AGGARWAL N, TALWAR V. *Bacterial vaginosis and vaginal anaerobes in preterm labour*. J Indian Med Assoc 2004 Oct;102(10):548-50, 553.
13. CANOVA I, CAPUTO S, CIARDO A, STRAGAPEDE B. *Bacterial vaginosis and pregnancy*. Clin Ter 2002 Sep-Oct;153(5):343-6.
14. MATHEW R, KALYANI J, BIBI R, MALLIKA M. *Prevalence of bacterial vaginosis in antenatal women*. Indian J Pathol Microbiol 2001 Apr; 44(2):113-6.
15. PURWAR M, UGHADE S, BHAGAT B, AGARWAL V, KULKARNI H. *Bacterial vaginosis in early pregnancy and adverse pregnancy outcome*. J Obstet Gynaecol Res 2001 Aug;27(4):175-81.
16. WANG J. *Bacterial vaginosis*. Prim Care Update Ob Gyns 2000 Sep;7(5):181-185.
17. FRENCH JI, MCGREGOR JA, DRAPER D, PARKER R, MCFEE J. *Gestational bleeding, bacterial vaginosis, and common reproductive tract infections: risk for preterm birth and benefit of treatment*. Obstet Gynecol 1999 May;93(5 Pt 1):715-24.
18. WOODROW N, LAMONT RF. *Bacterial vaginosis: its importance in obstetrics*. Hosp Med 1998 Jun;59(6):447-50.
19. SHERMAN DJ, TOVBIN J, LAZAROVICH T, AVRECH O, REIF R, HOFFMANN S, CASPI E, BOLDUR I. *Chorioamnionitis caused by gram-negative bacteria as an etiologic factor in preterm birth*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1997 Jun;16(6):417-23.
20. HAY PE, LAMONT RF, TAYLOR-ROBINSON D, MORGAN DJ, ISON C, PEARSON J. *Abnormal bacterial colonisation of the genital tract and subsequent preterm delivery and late miscarriage*. BMJ 1994 Jan 29;308(6924):295-8.
21. IAMS JD. *The epidemiology of preterm birth*. Clin Perinatol 2003 Dec;30(4):651-64.
22. BIBBY E, STEWART A. *The epidemiology of preterm birth*. Neuro Endocrinol Lett 2004 Dec;25 Suppl 1:43-7.
23. BOGGESS KA. *Pathophysiology of preterm birth: emerging concepts of maternal infection*. Clin Perinatol 2005 Sep;32(3):561-9.
24. PARK JS, PARK CW, LOCKWOOD CJ, NORWITZ ER. *Role of cytokines in preterm labor and birth*. Minerva Ginecol. 2005 Aug;57(4):349-66.
25. MENON R, FORTUNATO SJ. *Infection and the role of inflammation in preterm premature rupture of the membranes*. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol 2007 Jun;21(3):467-78. Epub 2007 Apr 19.
26. MAZAKI-TOVI S, ROMERO R, KUSANOVIC JP, EREZ O, PINELES BL, GOTSCH F, MITTAL P, GABOR THAN N, ESPINOZA J, HASSAN SS. *Recurrent preterm birth*. Semin Perinatol 2007 Jun;31(3):142-58.
27. NEWTON ER. *Preterm labor, preterm premature rupture of membranes, and chorioamnionitis*. Clin Perinatol 2005 Sep; 32(3):571-600.
28. HILL GB. *The microbiology of bacterial vaginosis*. Am J Obstet Gynecol 1993 Aug;169(2 Pt 2):450-4.
29. HAGER WD, RAPP RP. *Metronidazole*. Obstet Gynecol Clin North Am 1992 Sep;19(3):497-510.
30. MCDONALD HM, BROCKLEHURST P, GORDON A. *Antibiotics for treating bacterial vaginosis in pregnancy*. Cochrane Database Syst Rev 2007 Jan 24;(1):CD000262.
31. UGWUMADU A. *Role of antibiotic therapy for bacterial vaginosis and intermediate flora in pregnancy*. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol 2007 Jun;21(3):391-402. Epub 2007 May 18.
32. NYIRJESY P, MCINTOSH MJ, STEINMETZ JI, SCHUMACHER RJ, JOFFRION JL. *The effects of intravaginal clindamycin and metronidazole therapy on vaginal mobiluncus morphotypes in patients with bacterial vaginosis*. Sex Transm Dis 2007 Apr;34(4):197-202.
33. VERSTRAELEN H, SENOK AC. *Vaginal lactobacilli, probiotics, and IVF*. Reprod Biomed Online 2005 Dec;11(6):674-5.
34. SOBEL JD, FERRIS D, SCHWEBKE J, NYIRJESY P, WIESENFIELD HC, PEIPERT J, SOPER D, OHMIT SE, HILLIER SL. *Suppressive antibacterial therapy with 0.75% metronidazole vaginal gel to prevent recurrent bacterial vaginosis*. Am J Obstet Gynecol 2006 May;194(5):1283-9. Epub 2006 Apr 21.