

ARTICULO ORIGINAL

Agentes etiológicos de vulvovaginitis en niñas

*Laspina F^{1,2}, Samudio M¹, Céspedes AM², González GM², Balmaceda MA¹

¹Departamento Microbiología del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (UNA).

²Servicio Microbiología del Hospital Central del Instituto de Previsión Social, Hospital Central (IPS)

RESUMEN

La vulvovaginitis (VV) es una de las causas más frecuentes de consulta ginecológica de niñas, especialmente, en centros hospitalarios públicos. El conocimiento de la frecuencia de los agentes que producen esta patología, las condiciones socio-económicas y hábitos de higiene de las afectadas contribuye al desarrollo de programas de prevención y control epidemiológicos. De las 196 niñas con el diagnóstico clínico de vulvovaginitis (presencia de leucorrea e irritación vulvar) se aislaron 330 microorganismos, siendo los más frecuentemente aislados *Gardnerella vaginalis* (17%) y *Candida sp* (13%). La frecuencia de candidiasis fue mayor en el grupo de 6 a 12 años que en las menores. Se encontró reacción inflamatoria (>10 leucocitos por campo) en 103 niñas (52,6%) y en este grupo, el 34% de las niñas presentaba *G. vaginalis* y 24% *Candida sp*, en comparación con el grupo sin reacción inflamatoria quienes presentaron *G. vaginalis* en el 15% y *Candida sp* en el 17%, pero la diferencia no fue significativa. Debido a que la vulvovaginitis ha sido asociada frecuentemente a falta de higiene, sobretodo en las niñas menores de 5 años, es importante resaltar la presencia de gérmenes que provendrían de la flora fecal, tales como enterobacterias (18%) y *Enterococcus sp* (9%). La vulvovaginitis de origen infeccioso estuvo presente en el 52,6% de las niñas, y el resto estaría relacionado a una falta de higiene, que generalmente responden a tratamientos sintomáticos sin antibióticos.

Palabras claves: vulvovaginitis, leucorrea, *Candida*, pubertad.

Etiologic agents of vulvovaginitis in girls

ABSTRACT

Vulvovaginitis (VV) is one of the most common causes of gynecological consultation in girls, especially in public hospitals. The knowledge of the frequency of the causative agents of this pathology, socio-economic conditions and hygiene practices of the affected girls will contribute to the development of epidemiological control programs. Out of 196 girls with a clinical diagnosis of vulvovaginitis (presence of leukorrhea and vulva irritation), 330 microorganisms were isolated being the most frequent microorganisms *Gardnerella vaginalis* (17%) and *Candida sp* (13%). The frequency of candidiasis was higher in the age group of 6 to 12 years than in younger girls and inflammatory reaction (>10 leucocytes per field) was found in 103 girls (52.6%). In this group, 34% of the girls presented *G. vaginalis* and 24% *Candida sp*. In comparison to the group without inflammatory reaction where 15% presented *G. vaginalis* and 17% *Candida sp* (difference was not significant). Since vulvovaginitis has been frequently associated to the lack of hygiene, especially in girls younger than 5 years old, it is important to remark the presence of germs from the fecal flora such as enterobacteria (18%) and *Enterococcus sp* (9%). The vulvovaginitis was infectious in 52.6% of the girls while the rest was related to a lack of hygiene and generally responds to symptomatic treatments without antibiotics.

Keywords: vulvovaginitis, leukorrhea, *Candida*, puberty

INTRODUCCION

La VV es una de las patologías ginecológicas más frecuentes en niñas y se la define como una inflamación del epitelio de la vulva y de la vagina, pudiendo originarse por varias causas, ya sean infecciosas o no. Varios factores contribuyen a la inflamación del área

genital, los cuales incluyen concentraciones bajas de estrógenos dejando a la mucosa vaginal susceptible a irritación e infección, exposición a irritantes, higiene deficiente, e infección por patógenos específicos¹.

*Correspondencia: microbiologia@iics.una.py

La leucorrea vaginal y la irritación vulvar son síntomas frecuentes de VV, y su aumento constante supone un porcentaje elevado del trabajo en la consulta ginecológica. Siempre existe algún grado de leucorrea vaginal, pero la cantidad varía según el estado hormonal de la paciente. La vagina de la recién nacida se coloniza por bacterias aerobias y anaerobias, adquiridas durante su paso por el canal del parto; en este momento, el epitelio de la vagina es rico en glucógeno, gracias a la influencia de los estrógenos maternos y placentarios, que por su pH bajo, permite que sobrevivan y crezcan los microorganismos que la colonizan; luego del nacimiento los niveles estrogénicos disminuyen y el pH asciende a valores entre 6-8, siendo así la flora predominante, la de cocos y bacilos Gram positivos^{2,3}.

Al principio de la pubertad la vagina vuelve a estar bajo la influencia de los estrógenos, siendo la predominancia de gérmenes la de los lactobacilos de Doderlein, en vagina sana⁴. La flora vulvovaginal normal sufre cambios fisiológicos con la edad, como resultado de modificaciones hormonales. Así, cuando la niña se acerca a la menarca, en cuya etapa el epitelio vaginal queda expuesto nuevamente a los estrógenos, aparece una leucorrea fisiológica no irritante, moderada y sin gérmenes patógenos. Es conocida la influencia de la antibioticoterapia en el desequilibrio de la flora normal, por ejemplo, candidiasis secundaria a tratamientos con antimicrobianos de amplio espectro².

Es motivo de controversia en la literatura actual, si la infección por clamidia causa o no vaginitis en vaginas anestrogénicas por lo tanto su presencia en las mismas, puede asociarse a VV y debe tenerse en cuenta la posibilidad de persistencia de la infección por largos períodos, ya que se describen casos de contagio perinatal, en que el agente etiológico perduró durante años². Existen gérmenes que integran la flora habitual, como ciertos estreptococos, que impiden el desarrollo de gérmenes patógenos, como la *Neisseria gonorrhoeae* y *Gardnerella vaginalis*⁵.

Hamerschlag y col encuentran una prevalencia total de VV del 13,5%, correspondiendo el 18% a las menores de 2 años, el 2,5% entre los 3 y los 10 años y el 63% entre los 11 y los 15 años; de estas pacientes, dos tercios fueron consideradas asintomáticas^{6,7}. En estudios realizados en Buenos Aires entre 1989 y 1990, los patógenos

aislados fueron, el *Haemophilus sp* constituyendo el 19,8%, *Shigella sp* 15% y *Streptococcus pneumoniae* 6,8%⁸. En nuestro país los estudios realizados en 1984 por Nicolichia y colaboradores, en pacientes de la Cátedra de Pediatría del Hospital de Clínicas, refieren una frecuencia de VV del 33,8%, siendo *G. vaginalis* el 15,6%, la *N. gonorrhoeae* 6,2% y en igual proporción *Candida albicans* y *Trichomonas vaginalis* 3,1%⁹.

Como la VV es la causa más frecuente de consulta ginecológica en niñas, y el proceso fisiopatológico que provoca la aparición del cuadro clínico es poco conocido, reconocer los agentes que la producen, su frecuencia, las condiciones socio-económicas y hábitos de higiene de las pacientes, contribuiría a establecer programas de prevención, educación y al conocimiento de su epidemiología y su control. El presente estudio tiene como objetivo determinar la prevalencia de VV y los agentes etiológicos más frecuentes en niñas que concurren en el consultorio externo de ginecología del Hospital Central de IPS entre 1 de junio de 1995 al 31 de agosto de 1996. Además se indagó las condiciones socioeconómicas y hábitos de higiene de las niñas.

MATERIALES Y METODOS

Población en estudio: Se estudiaron 196 niñas con el diagnóstico clínico de VV (presencia de leucorrea e irritación vulvar) que concurren al consultorio externo de ginecología del Hospital Central de IPS, entre el 1 de junio de 1995 al 31 de agosto de 1996.

El estudio se realizó con el consentimiento informado de los padres o encargados, y en el momento de la toma de muestras, se administró un cuestionario pre-codificado para obtener datos demográficos y epidemiológicos, incluyendo edad, factores socioeconómicos y factores de riesgo como hábitos de higiene, antecedentes de alguna infección anterior, tratamiento con antimicrobianos, enfermedad de base y otros.

Se consideró que la VV era de origen infeccioso cuando presentaba una reacción inflamatoria, definida como número de leucocitos mayor a 10 por campo.

Estudios microbiológicos. Las muestras fueron extraídas por hisopado de la zona sin utilizar espéculos, remitidas al Laboratorio de Microbiología del Instituto de

Investigaciones en Ciencias de la Salud. Las muestras recibidas se utilizaron para examen en fresco, coloración de Gram y cultivo. El cultivo se realizó en agar sangre de carnero al 5%, agar chocolate al 10% con incubación en estufa a 35°C, con 7% de CO₂; agar eosina azul de metileno (EMB) en estufa a 35°C y agar Sabouraud+ cloranfenicol al 1%, a 28°C; el aislamiento e identificación de los gérmenes aislados, como pruebas bioquímicas y de aglutinación, se realizó con reactivos comerciales, en base a técnicas estandarizadas para gérmenes aerobios y microaerofilicos¹⁰.

Análisis de datos. Los datos del cuestionario fueron introducidos en una planilla electrónica (Microsoft Excell 2000). Se calculó la frecuencia de las variables nominales (nivel socioeconómico, características de la enfermedad, agentes etiológicos). Para el análisis de datos se utilizó métodos estadísticos descriptivos (Epi Info 6.04). Se utilizó estadística analítica para determinar asociaciones entre número de leucocitos y tipos de gérmenes en el Gram, distribución de gérmenes obtenidos de los cultivos por grupo etario.

RESULTADOS

En este estudio se reclutaron 196 niñas con el diagnóstico clínico de VV, cuyas edades estaban comprendidas entre 0 a 12 años (edad promedio de 7 años) El 49,5% de las pacientes tenía edades entre 6-10 años y una paciente tenía menos de 1 año.

Características de la población estudiada. El 26% de las pacientes provenían de Asunción, y el resto de ciudades aledañas a Asunción. En cuanto a la escolaridad de las niñas, 26,5% (n=52) no tenían edad escolar. Con respecto a las madres, el 48,4% (n=95) de ellas tenía estudios secundarios. El mayor porcentaje (70,4%) de las madres eran amas de casa y el resto, 29,6% de profesiones varias.

Características de las viviendas. El 71,4% (n=140) poseían agua corriente y el 28,6% (n=56) pozo artesiano. El baño era moderno en 86,2% (n=169) y letrina en 13,8% (n=27).

Antecedentes de salud. Sesenta y cuatro niñas (33%) refirieron poseer alguna enfermedad anterior, de las cuales, las más frecuentes fueron: asma y alergia (31%). Diez y nueve pacientes refirieron haber estado con tratamiento en el momento de la toma de muestra, consistentes en: amoxicilina (n=7),

metronidazol (n=7), pasta lazzar pomada (n=1), gentamicina (n=4). Para la higiene personal, 125 niñas (64%) usaban agua y algún jabón (tocador, glicerina o de coco) y 59 (30%) usaban además de agua, algún desinfectante y preparados herbolarios, y 30 (15%), utilizaban agua con algún desinfectante comercial.

Veinte pacientes (10,2%) refirieron haber tenido diarrea en la última semana previa a la toma de muestra, 122 niñas (62%) refirieron antecedentes de parasitosis, siendo las más frecuentes por *Giardia lamblia*, 70 casos (57%), *Oxiurus vermicularis* (6,5%) y *Ascaris lumbricoides* (6%). Igualmente en 5 casos (4%) refirieron tener una mezcla de *Giardia* con *Oxiurus* y *Ascaris*. Veinte y ocho niñas (23%) refirieron no saber que parásitos tenían.

Signos y síntomas de VV. Las molestias más frecuentemente observadas fueron dolor y picazón en 135 niñas (69%), y 41 niñas (21%) no referían molestia alguna. Con respecto a la duración del flujo, 46 niñas (23%) refirieron tener el flujo dentro de las dos semanas anteriores a la toma de muestra, 88 (45%) hasta tres meses anteriores, y 35 (18%) presentaban una larga cronicidad (hasta 5 años). En relación al color del flujo, 167 (85%) eran de color amarillo y en 90 niñas (46%) el flujo poseía algún tipo de olor.

Resultados laboratoriales. El 52,6% (n=103) de las pacientes presentaron VV de origen infeccioso, siendo esta reacción moderada (11-20 células/campo) en el 29% de los casos y severa (20 o más células / campo) en el 24%.Tabla 1.

TABLA 1
Distribución de la cantidad de Leucocitos en las 196 pacientes

Cantidad de leucocitos	n (%)
Ausencia	1 (0,5)
1+ (1-10 p/ campo)	92 (46,9)
2+ (11-20 p/campo)	56 (28,6)
3+ (20 o más)	47 (24)

Relación entre recuento de leucocitos y gérmenes al Gram: La presencia de leucocitos >10 por campo está relacionada (p<0,05) con los cocobacilos Gram negativos (*Haemophilus* y la *Gardnerella vaginalis*), según puede observarse en la Tabla 2.

Prevalencia de los gérmenes aislados. Se aislaron 330 microorganismos de las 196 niñas estudiadas, constituyendo

Gardnerella vaginalis el germen más frecuentemente aislado: 55 casos (17%), seguido de *Candida sp*: 42 casos (13%), *Staphylococcus aureus*: 26 (8%), *Haemophilus sp*: 14 (4%), *Lactobacillus sp*: 12 (3,6%), *Streptococcus agalactiae*: 5 (1,5%) y *Streptococcus pyogenes*: 2 (0,6%). Además, se aislaron gérmenes de flora fecal, tales como enterobacterias en 60 casos (18%) y *Enterococcus spp*: 30 casos (9%). En 3 casos (1%) se identificaron Shigellas, que fueron aisladas de pacientes con diarrea sanguinolenta, anteriores a la presencia de flujo. Tabla 3.

TABLA 2

Distribución de gérmenes observados al Gram de acuerdo al N° de leucocitos

Tipo de gérmenes observados al Gram	>10	0-10
	p/campo (n=103)	p/campo (n=93)
Cocobacilos Gram (-)	47 (46%)	23 (25%)
Esporos	26 (25%)	18 (20%)
Bacilos gram (+)	35 (34%)	38 (41%)
Bacilos gram (-)	32 (31%)	32 (35%)
Cocos Gram (+)	56 (54%)	50 (54%)

Nota: para cocobacilos la diferencia fue significativa $p < 0,05$

TABLA 3

Distribución de los 330 microorganismos aislados

Germen	Frecuencia (%)
<i>Gardnerella vaginalis</i>	55 (17%)
<i>Candida sp</i>	42 (13%)
<i>Escherichia coli</i>	37 (11%)
<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	35 (11%)
<i>Corynebacterium sp</i>	34 (10%)
<i>Enterococcus sp</i>	30 (9%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	26 (8%)
<i>Haemophilus sp</i>	14 (4%)
<i>Lactobacillus sp</i>	12 (3,6%)
<i>Proteus mirabilis</i>	9 (2,7%)
<i>Enterobacter cloacae</i>	8 (2%)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	5 (1,5%)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	5 (1,5%)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	2 (0,6%)
<i>Shigella flexneri</i>	2 (0,6%)
<i>Shigella sonnei</i>	1 (0,3%)
Otros	13 (4%)

En otros se incluyeron: *Streptococcus (viridans)*, Grupo C, Grupo F, Grupo G), *Citrobacter diversus*, *Kleb. pneumoniae*, *Ps. aeruginosa*, *Acinetobacter sp*

Asociación entre los gérmenes y el grupo etario. La prevalencia de infección por *C. albicans* (26%) fue mayor en el grupo de 6-

12 años. Sin embargo, la frecuencia de enterobacterias y enterococos fue mayor en el grupo de 0-5 años. Tabla 4.

TABLA 4
Distribución de gérmenes de acuerdo al grupo etario

Germen	Grupo etario	
	0-5 años (%)	6-12 años (%)
<i>Gardnerella vaginalis</i>	27 (42)	26 (20)
<i>Candida albicans</i>	7 (11)	34 (26)
<i>Staphylococcus aureus</i>	13 (20)	17 (13)
Enterobacterias	21 (33)	1 (0,8)
<i>Enterococcus sp</i>	20 (31)	5 (3,8)
<i>Streptococcus spp</i>	2 (3)	11 (8,3)
<i>Lactobacillus sp</i>	0 (0)	12 (9)
Total de pacientes	64	132

Nota: Un paciente puede presentar más de un germen

Asociación entre reacción inflamatoria y germen aislado. La VV es considerada infecciosa cuando se aísla un germen potencialmente patógeno en presencia de una reacción inflamatoria. El 52,6% (n=103) de las niñas presentaron reacción inflamatoria; en presencia de *G. vaginalis* en el 34% de los casos, *C. albicans* (25%), Tabla 5.

TABLA 5

Asociación entre germen aislado y reacción inflamatoria

Germen	Con inflamación	Sin inflamación
	n(%)	n(%)
<i>Gardnerella vaginalis</i>	35 (34)	20 (22)
<i>Candida albicans</i>	26 (25)	16 (17)
<i>Staphylococcus aureus</i>	23 (22)	3 (3)
Enterobacterias	25 (24)	20 (22)
<i>Enterococcus sp</i>	13 (6)	17 (18)
<i>Lactobacillus sp</i>	4 (4)	8 (9)
<i>Streptococcus spp</i>	11 (11)	5 (5)
Total de pacientes	103	93

Nota: Un paciente puede presentar más de un germen

DISCUSION

En este estudio se reclutaron 196 niñas con el diagnóstico clínico de VV. Como el IPS atiende principalmente a la población cercana a la capital, alrededor del 80% de las pacientes eran de Asunción o zonas aledañas. En general, las niñas provenían de familias con un nivel socioeconómico medio-bajo, evidenciado por el hecho de que muy pocas madres tenían estudios universitarios, alrededor del 50% tenían estudios secundarios y 44,3% solo

instrucción primaria; la mayoría de las madres (70,4%) eran amas de casa y habitaban en casas con agua corriente y baño moderno. En varios trabajos se ha mencionado que la VV está relacionada al nivel socioeconómico y cultural, por asociarse con los hábitos de mala higiene^{11,12}. En el presente estudio, una importante cantidad de niñas compartía la cama, toallas y aún ropa interior con los hermanos/as principalmente.

A pesar de que no se investigó específicamente parasitosis en esta población, el 62% de las niñas refirieron tener antecedente de parasitosis, siendo *Giardia lamblia* (57%) la más frecuentemente referida. También refirieron haber tenido *Oxiurus vermicularis* (6,5%), cuya presencia es frecuente en la zona perianal y podría causar vulvovaginitis¹³, y que debería investigarse en todos casos con sospecha clínica de VV. A pesar de que 20 pacientes refirieron haber tenido diarrea en la última semana previa a la toma de muestra no se pudo realizar la búsqueda de parásitos en ellas.

Se aislaron 330 microorganismos de las 196 niñas estudiadas. Los gérmenes más frecuentemente aislados fueron *Gardnerella vaginalis* (17%) y *Candida sp* (13%), descritos en numerosas ocasiones como causa de vulvovaginitis en niñas. Las prevalencias de *G. vaginalis* y *Candida sp* son comparables con otras series, pero sus presencias no siempre estuvieron asociados con reacción inflamatoria. *G. vaginalis* representa un indicador de vaginosis en mujeres adultas pero en niñas se ha encontrado en el estudio de Hammerschlag et al, colonizando hasta un 14%⁶.

Además, se aislaron *Staphylococcus aureus* (8%), *Haemophilus sp* (4%), *Streptococcus agalactiae* (1,5%) y *Streptococcus pyogenes* (0,6%). El aislamiento de estos gérmenes resulta controvertido, porque aunque son patógenos potenciales y no forman frecuentemente parte de la flora normal de las niñas, se los han considerado en muchos casos de valor dudoso^{14,16}.

El manejo de las VV puede ser complicado debido a que los gérmenes que se aíslan, con o sin reacción inflamatoria, son generalmente de la flora normal de la zona genital. La VV generalmente responde a tratamientos sintomáticos simples sin necesidad de antibióticos, por lo tanto decidir en que casos se debe tratar con antibióticos a una niña con VV es controversial, pues la

presencia de un determinado organismo no implica que sea el agente causal. Tanto el cuadro clínico como el microbiológico deben ser considerados antes de decidir si existe o no infección.

Existen pocos trabajos publicados sobre la flora normal o patológica de un frotis vaginal en niñas, por lo que debe considerarse al mismo, más bien como instrumento de apoyo más que uno primario. Jacquierey et al¹¹, encontraron que la flora vaginal era muy similar en el grupo de niñas con o sin síntomas de VV. Los autores encontraron que los organismos predominantes de la vagina fueron *Staphylococcus epidermidis*, difteroides, y anaerobios. Estos organismos también fueron los predominantes en los estudios de Gerstner¹⁷ y Hill¹⁸ quienes tomaron las muestras vaginales vía catéter o hisopados de la parte superior de la vagina, no mostrando estos últimos ninguna ventaja.

En 103 niñas (52,6%) la VV fue considerada infecciosa, que estuvo relacionado en forma significativa con la presencia de cocobacilos Gram negativos (*Haemophilus spp* y *Gardnerella vaginalis*). Entre las niñas con VV infecciosa, *G. vaginalis* estuvo presente en 35 arrojando una prevalencia relativa de 34% y en las niñas sin reacción inflamatoria fue de 22% (20/93), pero esta diferencia no alcanzó significancia estadística ($p=0,07$). Tampoco la candidiasis se relacionó por sí sola a una reacción inflamatoria, las prevalencias relativas fueron 25% vs 17 respectivamente ($p>0,05$).

Debido a que la VV está frecuentemente relacionada a falta de higiene, sobretodo en las niñas menores de 5 años, es importante resaltar la presencia de gérmenes que probablemente provendrían de flora fecal, tales como enterobacterias (18%), y *Enterococcus sp* (9%). Además, resaltamos la presencia de Shigellas en 3 casos (1%) que fueron aisladas de pacientes con diarrea sanguinolenta, anteriores a la presencia de flujo.

Los estudios microbiológicos se justifican si hay un flujo vaginal visible al examen e inflamación moderada o severa. Esto debería incluir frotis con coloración de Gram y prueba para oxiurus, particularmente si hay mucha picazón. Un tratamiento sintomático simple con baño de sal o vinagre es generalmente apropiado en primeras instancias. Se debería utilizar antibiótico solo si se identifica un patógeno (*N. gonorrhoeae*, etc).

Hubo diferencias con respecto a las prevalencias de candidiasis y enterobacterias y/o *Enterococcus sp* entre los grupos etarios <12 y >12 años. La candidiasis estuvo presente en mayor porcentaje en las niñas de 6-12 años comparados con las niñas menores.

En este estudio como en otros, se demostró que en la mayoría de los casos, el abuso sexual no estuvo relacionado a la VV; en nuestra serie sólo se tuvo un caso, del cual no se aisló *Neisseria gonorrhoeae*.

La etiología de la VV en niñas prepúberes no está totalmente definida, por lo que es necesario siempre investigar los gérmenes tradicionalmente patógenos, incluyendo *Neisseria gonorrhoeae*, además se debe establecer el diagnóstico diferencial de infestación por *Enterobius vermicularis* (oxiuros)¹³. Es difícil determinar el rol de los gérmenes potencialmente patógenos en la producción de VV por la falta de un grupo control en este estudio, debido a la dificultad en la toma de muestras de las pequeñas pacientes.

REFERENCIAS

- 1- Vandevan AM. Vulvovaginitis in the child and adolescent. *Pediatric in Review* 1993;14:141-46.
- 2- Zeiguer N, Saveg V, Muchnik G, Galvagno A y Comparato M. Servicio Ginecología, Hospital J.A. Fernández-IDEFE "*Chlamydia trachomatis* asociada a vulvovaginitis en niñas: Prevalencia y clínica". En: Libro de Resúmenes del XI Congreso Latinoamericano de Microbiología; 1991. Bs As Argentina.
- 3- García Rodríguez JA y Muñoz JJ. Vaginitis Bacteriana: Enfermedad infecciosa o alteración ecológica?. *Enferm Infecc Microbiol Clín* 1991;9(5):265-67.
- 4- Gunning J. Infecciones vaginales y vulvares. En Meville H, Moore G. *Compendio de Ginecología y Obstetricia*. McGraw Hill; 1989. p. 331-39.
- 5- Bulton GC. Enfermedades venéreas en los adolescentes-Ginecología del adolescente: una guía para clínicos Alfred M. Bongiovanni Editorial El Ateneo. 1989; 125-41.
- 6- Hammerchlag MR, Alpert S, Rosner I, et al. Microbiology of the vagina in children: Normal and potencial pathogenic organims. *Pediatrics* 1978; 62:57
- 7- Zeiguer BK de. "Vulvovaginitis específicas en la infancia y adolescencia -Ginecología infanto-juvenil. 2ª ed Editorial Médica Panamericana; 1988; 164-87.
- 8- Rial MJ, Alarcón NA. Laboratorio de Microbiología-Hospital Pedro Elizalde. *Haemophilus spp, Shigella spp y Streptococcus pneumoniae*: Su implicancia como agentes etiológicos de vulvovaginitis en niñas. Libro de resúmenes del XI Congreso Latinoamericano de Microbiología; 1991. Bs. As. Argentina.
- 9- Nicolichia MD, Carrillo Iramain A, Rivas HM, Richer Y. Vulvovaginitis en la niñez. *Revista Sociedad Paraguaya de Pediatría*: 1985;13(1): 37-49.
- 10- Lennette E, Balows A, Hausler W Jr, Shadowy J. 4º ed. *Manual of Clinical Microbiology*. Washington DC. American Society For Microbiology, 1985 (Cap.5).
- 11- Jaquiere A, Stylianopoulos, Hogg G, Grover S. Vulvovaginitis: clinical features, aetiology, and microbiology of the genital tract. *Arch Dis Child* 1999;81:64-7.
- 12- Pierce AM. Vulvovaginitis: causes and management. *Arch Dis Child* 1992;67:509-12.
- 13- Straumanis JP Group A beta-hemolytic streptococcal vulvovaginitis in prepubertal girls: a case report and review of the past twenty years. *Paediatric Infect Dis J* 1990;9:845-8.
- 14- Pena MJ, Campos Herrero MI, Ruiz MC, Rodriguez H, Lafarga B. Estudio microbiológico de vulvovaginitis en niñas prepúberes. *Enferm infecc Microbiol clín* 1996;14:311-3.
- 15- Heller RH, Joseph JM, Davis HJ. Vulvovaginitis in the premenarcheal child. *J Pediatr* 1969;74:370.
- 16- Emans SJ, Goldstein DP. The gynecologic examination of the prepubertal child with vulvovaginitis: use of the knee-chest position. *Pediatrics* 1980;65: 758-60.
- 17- Gerstner GJ. Vaginal organisms in prepubertal children with and without vulvovaginitis. *Arch Gynaecol* 1982;231:247-52.
- 18- Hill GB. Anaerobes predominate among the vaginal microflora of prepubertal girls. *Clinical Infectious Diseases* 1995;20 (suppl. 2):269-70.