

Frecuencia de vaginitis por *G. vaginalis* en pacientes que acuden a consulta a un centro de atención primaria en salud

Ma. Catalina Ortiz Zaragoza, Alberto González Pedraza Avilés, Laura Moreno Altamirano, Silvia Giono Cerezo, Margarita Camorlinga Ponce y Rosario Morales Espinoza, Facultad de Medicina, UNAM

Resumen

Se estudiaron 248 mujeres a las que se les diagnosticó vaginitis que acudieron a consulta al "Centro de Estudios en Atención Primaria de la Salud". Se les aplicó un cuestionario confidencial para conocer la relación entre la colonización de *Gardnerella vaginalis* con algunos factores como la edad, estado civil, embarazo, número de relaciones sexuales por semana, utilización o no de métodos de control de natalidad, nunca embarazadas o con uno o más embarazos, cero abortos o uno o más abortos. De las 248 muestras procesadas, se encontraron positivas a *G. vaginalis* 93 (37.5%) de los casos. *G. vaginalis* fue el microorganismo aislado más frecuente. No se observó asociación entre la presencia de *G. vaginalis* y los factores de riesgo seleccionados. Se concluyó que *G. vaginalis* es un microorganismo con alto grado de colonización, que por su potencial patogénico debe vigilarse.

Summary

Vaginal cultures for *Gardnerella vaginalis* and confidential questionnaires were obtained from women with signs and symptoms of "bacterial vaginitis" who consulted a physician in the "Centro de Estudios en Atención Primaria de la Salud", Tlalpán, Mexico. In all, 248 women were studied, 93 (37.5%) of whom were colonized with *Gardnerella vaginalis*. Statistical analysis (χ^2) showed that there was no association between colonization with *Gardnerella vaginalis* and: age, pregnancy, ever pregnant or never pregnant, and other factors. We conclude that *Gardnerella vaginalis* (*Haemophilus vaginalis*, *Corynebacterium vaginale*) vaginitis can be precisely defined, grows specific vaginal infection, is sexually transmitted, and can be distinguished from most vaginitis, previously classified as "nonspecific".

Introducción

La vaginitis inespecífica es uno de los problemas ginecológicos más frecuentes, algunos autores prefieren darle el término de "vaginosis", caracterizada por flujo vaginal en donde no se demuestra ni tricomonas, ni levaduras, ni gonococos, pero que se supone un origen infeccioso debido a un agente etiológico no definido, acompañado de una respuesta inflamatoria de la mucosa vaginal^{1, 2}.

La denominación de vaginitis inespecífica para todas aquellas vaginosis producidas posiblemente por uno o varios agentes microbianos, aún cuando no sean identificados como tales, pone de manifiesto una actividad patógena indudable sobre la mucosa vaginal, pero no deslinda cual podría ser el agente causal.

El uso indiscriminado de antiparasitarios y de antibióti-

cos de alto espectro para el tratamiento de las vaginitis, además de todos los efectos indeseables consecuentes a su uso, propicia cambios en la flora normal y altera el microambiente.

Leopold y col. en 1953^{1*}, analizaron por primera vez el exudado cervical, encontrando un bacilo Gram negativo, no móvil, no capsulado, pleomórfico, que formaba colonias diminutas y requería medios ricos en sustancias nutritivas para su crecimiento. Este microorganismo guardaba relación aparente con el género *Haemophilus* y se le puso este nombre para determinar el género, debido a su morfología colonial y microscópica; aunque se determinó posteriormente que no requería los factores X (hemina) y V (nicotinamida adenin dinucleótido); pero no se le atribuyeron los síntomas de vaginitis.

Gardner y Dukes¹² en su artículo clásico, publicado en

1955, atribuyeron la vaginitis bacteriana a un bacilo Gram negativo, pleomórfico, con características similares al descrito por Leopold, por lo que le llamaron *Haemophilus vaginilis*. El hallazgo en cultivo se correlacionó con "células indicadoras" o "células clave" que son células del epitelio vaginal con gran cantidad de bacilos adheridos a la superficie.

Estos investigadores observaron un frotis de descarga vaginal de mujeres con vaginitis inespecífica, con escasos leucocitos y ausencia de bacilos de Döderlein, y pH alcalino.

El nombre de *Haemophilus vaginalis* fue aceptado hasta que Lapage¹⁷, en 1961, observó que los factores X (hemina) y V (NAD), no se requerían para su crecimiento y sugirió que podría entrar al género *Corynebacterium*, por su apariencia Gram variable y por la presencia de abundantes gránulos de volutina.

Greenwood y Pickett, en 1980¹⁴, determinaron que la taxonomía del microorganismo era errónea, señalando que posee claramente características distintas de estos dos géneros (*Haemophilus* y *Corynebacterium*) y propusieron la creación de un nuevo género llamado *Gardnerella* y su correspondiente especie *vaginalis*.

G. vaginalis se describe como un bacilo pequeño (0.3 a 0.6 por 1 a 2 micras) con extremos redondeados, pleomórficos, con coloración Gram negativa a Gram variable, son catalasa y oxidasa negativa, no capsulados, no tienen flagelos ni esporas, es anaerobio facultativo, fermenta carbohidratos con ácido acético como producto final a partir de L-arabinosa, fructuosa, galactosa, lactosa, manosa y xilosa⁶; se inhibe por el agua oxigenada y por *Streptococcus pneumoniae*, es sensible a la optoquina e hidroliza el almidón y el hipurato³⁰.

G. vaginalis es difícil de cultivar, ya que para su desarrollo exige medios enriquecidos como el de Casman, Agar V o medios similares. La incubación en atmósfera de CO₂ favorece su crecimiento después de 48 horas.

Totten y cols²⁷, en 1980, describieron un medio selectivo y diferencial conocido como HBT, que consiste de una capa basal de 7 ml que contiene base de agar Columbia (Bioxon), 1% de proteosa peptona No. 3 (Difco) más Tween 80 (BBL) al 0.0075%, agregando una segunda capa de 14 ml que contiene la misma composición más colistina (10 ug/ml), ácido nalidíxico (15 ug/ml), anfotericina B (2 ug/ml) y sangre humana al 5%. Este medio permite mejorar el aislamiento de este microorganismo.

Desde 1955, en que Gardner y Dukes describieron el microorganismo se ha cuestionado mucho acerca del papel de éste, como agente etiológico de la vaginitis inespecífica¹².

Durante los años 50, *Gardnerella vaginalis* fue descrita tanto en Europa como en Estados Unidos y en los últimos 25 años ha sido objeto de múltiples controversias respecto a su papel como patógeno vaginal. Un estudio que apoya a *Gardnerella vaginalis* como agente causal de vaginitis inespecífica es el que realizaron, en 1969, Criswell y cols⁵, quienes demostraron experimentalmente que al inocular *Gardnerella vaginalis* en mujeres sanas se producía una vaginitis típica en más de la mitad de ellas. Como anteriormente, Gardner y Dukes lo habían demostrado en 1955¹².

Las características epidemiológicas sugieren que su prevalencia entre la población normal es elevada y se requiere de algunos factores predisponentes para que exhiba su papel como patógeno, productor de vaginitis inespecífica.

McCormack y cols, en 1977²⁰, encontraron a *G. vaginalis* en mujeres que no tenían síntomas o signos de vaginitis, con lo que concluyeron que la bacteria probablemente podía formar parte de la flora vaginal normal.

Sin embargo, la mayoría de los autores concuerdan en que existe una fuerte correlación entre vaginitis inespecífica y *G. vaginalis*, debido a que ésta se encuentra en pacientes con el síndrome de vaginitis inespecífica con mayor frecuencia que en las que no lo presentan. Además, hacen falta estudios adecuados para conocer el microorganismo, definir su frecuencia y sus manifestaciones clínicas.

Material y métodos

Este trabajo se realizó con 248 mujeres que acudieron a consulta al Centro de Estudios en Atención Primaria de la Salud, se incluyeron aquellas que no tenían tratamiento previo a la investigación con algún antibiótico, que no estuvieran menstruando y que tuvieran vida sexual activa, además de haber presentado un cuadro clínico de vaginitis, previamente diagnosticado por el médico. El objetivo fue determinar la frecuencia de vaginitis causada por *G. vaginalis* y relacionarla con factores de riesgo como el embarazo a la toma, número de relaciones sexuales por semana, método de control de natalidad, número de embarazos y número de abortos.

Se aplicó un cuestionario a cada paciente con el objeto de correlacionar los hallazgos microbiológicos con los datos personales, como edad, inicio de vida sexual activa, número de embarazos, número de abortos, y con los datos clínicos como las características de la leucorrea.

tiempo de la misma, cantidad, consistencia, olor, espuma y pH, disuria, dispareunia, lesiones en genitales externos, cuello y cérvix.

Obtención de la muestra

La secreción se tomó de cérvix y fondo de saco, con 3 hisopos de algodón estériles, con uno de ellos se hizo un frotis para tinción de Gram, el segundo se colocó en solución salina estéril al 0.85%, para observación de tricomas, levaduras y leucocitos, así como de células clave^{13 15 21}. Con el tercer hisopo se recogió secreción y se colocó en un tubo con medio de transporte de Stuart (Bioxon), el cual sirvió para inocular los medios de cultivo: HBT con sangre humana, Thayer Martin, gelosa sangre, Sabouraud, agar de sal y manitol, agar de Mac Conkey.

La presencia de aminas se puso de manifiesto con KOH al 10%, agregándolo directamente al espejo; esta prueba fue positiva cuando apareció un olor a marisco descompuesto al agregar el KOH⁹.

Los medios de HBT, Thayer Martin y gelosa sangre fueron incubados a 37° C, bajo tensión parcial de CO₂, y se observaron a las 24 y 48 horas. Se leyó la morfología colonial y se hizo tinción de Gram, realizándose las pruebas complementarias para su identificación. La identificación de *Gardnerella vaginalis* se hizo simultáneamente con la cepa tipo *G. vaginalis* ATCC 14018 y la cepa aislada en el laboratorio, correlacionándose los siguientes datos: presencia de cocobacilos Gram negativos en el frotis directo y desarrollo, bajo tensión parcial de CO₂ en el medio HBT, de colonias características. La lectura del medio se hizo a las 24 y 48 horas, observándose colonias pequeñas convexas de bordes enteros y brillantes como gota de agua, observándose sus características microscópicas con la tinción de Gram.

Se hicieron las pruebas de oxidasa y catalasa y cuando éstas resultaron negativas, se inoculó en medios con los carbohidratos: glucosa, maltosa, rafinosa e inositol al 1% en base CTA (Bioxon) más 1% de suero humano; se incubaron a 37° C y se leyeron a las 24, 48 y 72 horas.

Se obtuvieron cultivos positivos de *G. vaginalis*, cuando los carbohidratos resultaron glucosa y maltosa positivos y rafinosa e inositol negativos. Además de obtener resultados positivos a las pruebas de hidrólisis del hipurato y del almidón⁴.

Resultados

Se estudiaron 248 mujeres que acudieron a consulta y se

les diagnosticó vaginitis durante los 8 primeros meses de 1988 y que reunían los criterios de inclusión ya enunciados. La muestra incluyó a mujeres cuyo promedio de edad fue de 29.7 años fluctuando entre los 16 y 51 años. Se identificaron 149 casos (60.08%) con cultivo positivo a *Trichomonas*, *Candida*, *Neisseria* y/o *Gardnerella vaginalis* y 99 casos (40.02%) resultaron con cultivos negativos.

La frecuencia de microorganismos aislados fue la siguiente: *Gardnerella vaginalis*, 93 casos (37.5%); *Escherichia coli*, 26 (10.4%); *Trichomonas vaginalis* 17 (6.8%); *Candida albicans*, 13 (5.2%) (Cuadro 1).

Cuadro 1

Hallazgos microbiológicos de los casos positivos en mujeres con vaginitis

Microorganismo	No. de casos	Porcentaje
<i>G. vaginalis</i>	93	37.5
<i>Escherichia coli</i>	26	10.4
<i>Candida sp</i>	23	9.2
<i>Trichomonas vaginalis</i>	17	6.8
<i>Candida albicans</i>	13	5.2
<i>Proteus sp</i>	5	2.0
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1	0.4
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1	0.4
negativas	99	40.0

En los casos con cultivo positivo a *G. vaginalis* se observó que los 93 casos, en 69 (74.2%) se encontró al microorganismo en cultivo puro, en 12 casos asociados a otra bacteria, en 6 casos asociados a *Candida sp* y en otros 6 a *Trichomonas*. (Cuadro 2).

Cuadro 2

Asociación de *G. vaginalis* con otros microorganismos patógenos aislados de 248 mujeres con diagnóstico de vaginitis

Microorganismos	No. de casos	Porcentaje
<i>G. vaginalis</i>	69	74.2
<i>G. vaginalis</i> asociada a otra bacteria	12	12.9
<i>Candida sp</i>	6	6.5
<i>G. vaginalis</i> asociada a <i>Trichomonas sp</i>	6	6.5
Total:	93	100.0

De la secreción vaginal de las 93 mujeres a las que se les aisló *G. vaginalis* a 88 (94.6%) se les diagnosticó vaginosis bacteriana, utilizando los criterios de Amsel², en los que

al menos 3 de los siguientes criterios estuvieron presentes: descarga vaginal homogénea, pH mayor de 4.5, células clave y olor a marisco descompuesto a la adición de KOH al 10% (Cuadro 3).

Cuadro 3

Características de la secreción vaginal de 93 mujeres con diagnóstico de vaginitis y aislamiento de *Gardnerella vaginalis*

Hallazgos	Número	Porcentaje
Secreción homogénea	88	94.6
pH mayor de 4.5	86	92.5
KOH positivo	84	90.3
Células indicadoras	80	86.9
3 o más de estos hallazgos	88	94.6

En la mayoría de los casos positivos a *Gardnerella vaginalis* se observaron cocobacilos Gram negativos con la morfología característica. Solamente en 5 casos (5.45%) se observaron Lactobacilos (Cuadro 4). La mayor frecuencia de signos y síntomas asociados a la presencia de *Gardnerella vaginalis* fueron el prurito y la fetidez (Cuadro 5). Al analizar las variables involucradas con la prueba de X^2 no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en relación a la colonización por *Gardnerella vaginalis*, dichas variables fueron: edad embarazo a la toma, utilización o no de métodos de control de natalidad, ningún embarazo anterior o uno o más embarazos y sin abortos o uno o más abortos (Cuadro 6).

Cuadro 4

Microscopia por tinción de Gram en 92 casos de mujeres con vaginitis por *Gardnerella vaginalis*

Bacterias	No. de casos	Porcentaje	Leucocitos	Levadura
Cocobacilos Gram negativos	74	80.4	+++ 19 ++ 27	1 1
Cocobacilos Gram negativos más cocos Gram positivos	13	14.1	+++ 3 ++ 7 + 3	0 2 0
Cocobacilos Gram negativos más bacilos de Doderlein	5	5.4	+++ 3 ++ 2	0 0

Cuadro 5

Signos y síntomas en 93 mujeres con diagnóstico de vaginitis y aislamiento de *Gardnerella vaginalis*

Signos y síntomas	No. de casos	Porcentaje
Espuma	37	39.8
Prurito	67	72.1
Ardor	43	46.2
Fetidez	59	63.4
Dispareunia	45	48.4
Disuria	29	31.2

Cuadro 6

Variables estudiadas en 429 mujeres con diagnóstico de vaginitis que no tuvieron significancia estadística en la colonización por *Gardnerella vaginalis*

Variable estudiada	No. estudiado	No. (%) colonizado	Estadístico
Edad			
16 a 25 años	92	40 (43.4)	$X^2 = 2.25$
26 a 35 años	100	33 (33.0)	2.55 menor a 55.9
36 a 45 años	39	15 (38.4)	
Embarazadas	42	16 (38.1)	$X^2 = 0.04$
No embarazadas	206	75 (36.4)	0.04 menor a 3.84
Con método de control de natalidad	149	53 (35.6)	$X^2 = 0.20$
Sin método de control de natalidad	99	38 (38.4)	0.20 menor a 3.84
Nunca embarazadas	18	8 (44.4)	$X^2 = 0.50$
uno o más embarazos	230	83 (36.1)	0.50 menor a 3.84
Cero abortos	168	62 (36.9)	$X^2 = 0.01$
uno o más abortos	80	29 (36.2)	0.01 menor a 3.84
No. de relaciones sexuales por semana			$X^2 = 4.18$
menos de una	64	23 (35.9)	4.18 menor a 5.99
una	87	25 (28.7)	
2 o más	97	42 (43.2)	

Discusión

La importancia que tiene *Gardnerella vaginalis* en mujeres con vaginitis se evidencia en la descripción que se hace de los hallazgos obtenidos en la población estudiada. Se observa que *Gardnerella vaginalis* fue el microorganismo aislado más frecuentemente, en 93 de 248 casos (37%). Este porcentaje concuerda con lo reportado por otros autores como Akerlund y cols en 1974¹, 31.4%; McCormack y cols en 1977²⁰, 33%; Dunkelberg en 1961⁸, 34%; Fleury en 1979¹¹, 32%; Lewis en 1971¹⁹, 44%; Aquino en 1973³, 49%; Yarritu en 1981²⁹, 16.5%. Pero es inferior a los descritos por Kiviat en 1985¹⁶, 70%; Spiegel en 1983; Gardner en 1955 y Amsel en 1983²⁵ 12.2-96%. Los porcentajes obtenidos se atribuyen básicamente al tipo de población estudiado, los métodos de aislamiento empleados en el laboratorio y los criterios clínicos que se utilizaron para definir el término vaginitis.

En 69 casos (74.2%) se encontró al microorganismo en cultivo puro, lo que concuerda con lo descrito por Gardner y Dukes¹³, quienes concluyeron que *Gardnerella vaginalis* es el organismo predominante en la vagina de pacientes con diagnóstico de vaginitis inespecífica y en la mayoría de los casos se observa que se encuentra en cultivo puro.

En base a los criterios mencionados por varios autores¹⁵⁻²⁴ en los que consideran que para establecer el diagnóstico de vaginitis inespecífica se deben cumplir cuando menos 3 de los siguientes cuatro parámetros:

- a) pH mayor de 4.5
- b) descarga vaginal homogénea
- c) prueba de KOH positiva
- d) presencia de células clave.

Obtuvimos los siguientes resultados: En 86 de las 93 mujeres con aislamiento de *G. vaginalis* (92.5%) se observó que presentaron un pH mayor de 5.0 valor similar a los descritos por Gardner¹³, Pheifer²² y Piot²³, entre otros que mencionan valores del 92 al 100% de los casos.

La prueba de KOH se presentó en 84 de las 93 mujeres (90.3%), por 94% descrito por Piot²³, 93% de Hovik¹⁵ y 86% de Spiegel²⁴. Las células clave estuvieron presentes en 96.9% de los casos. Gardner y cols.¹² describieron 92%

y Pheifer y cols.²² las encontraron en 91% de los casos estudiados.

La tinción de Gram, con una preparación típica de pacientes con vaginitis bacteriana, permite detectar células clave acompañadas de una flora mixta consistente de bacilos pequeños Gram negativos a Gram variables, cocos Gram positivos, bacilos curvos Gram negativos, estos muy probablemente de origen anaerobio²⁶; además de una ausencia casi total de bacilos Gram positivos largos (Lactobacilos)¹⁰⁻²⁵.

Los síntomas más frecuentes en mujeres con vaginitis inespecífica fueron prurito vulvar o ardor mínimo, incremento en el material expulsado por vagina, particularmente un líquido de olor fuerte, el cual ha sido descrito como desagradable o con olor a pescado²⁸. La colonización por *Gardnerella vaginalis* no guardó relación con ninguna de las variables estudiadas. Vontver²⁸ tampoco halló correlación con la edad, el número de compañeros o las prácticas sexuales y McCormack²⁰ halló que no había relación de la colonización con la edad, el método anticonceptivo y las prácticas sexuales.

Conclusiones

Gardnerella vaginalis se aisló en 37.5% de los casos de mujeres con diagnóstico de vaginitis, lo que representa 4 de cada 10 mujeres. Ocupa el primer lugar dentro de los organismos de transmisión sexual, dejando atrás a microorganismos causantes de enfermedades venereas clásicas del pasado como gonorrea y sífilis, lo que hace necesario la utilización de medio HBT o alguno similar (agar V. Casman) en la búsqueda de *Gardnerella vaginalis* de rutina. Los criterios de Amsel son útiles para dar un diagnóstico clínico de *G. vaginalis*, sin embargo, es indispensable la utilización de los medios de cultivo adecuados para un diagnóstico certero.

Gardnerella vaginalis es un patógeno que no requiere de factores predisponentes para su colonización, pues ni la edad, el embarazo, los métodos de control de natalidad, el número de embarazos, el número de abortos o el número de relaciones sexuales por semana tuvieron valor estadístico significativo en nuestra población.

Referencias

1. Akerlund, M., Mardh P.: Isolation and identification of *Corynebacterium vaginale* (*Haemophilus vaginalis*) in women with infections of the lower genital tract. Acta Obstet. Gynecol Scand. 53: 85-90, 1974.
2. Amsel, R., Totten, P. A. y Spiegel, C.A.: Nonspecific vaginitis diagnostic criteria and microbiological and epidemiological associations. Am. J. Med. 74: 14-22, 1983.
3. Aquino, S.C.: Métodos para el cultivo e inmunofluorescencia para

- el diagnóstico de vaginitis causada por *Haemophilus vaginalis*. Tesis profesional, ENCB, IPN, 1973.
4. Bergery's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 1. Ed. N.R. Krieg and J.G. Holt. Williams Wilkins E.U.A. 586-591, 1984.
5. Criswell, B.S., Ladwing, C.L.: Gardner, H.L., Dukes, C.B.: *Haemophilus vaginalis*: vaginitis by inoculation from culture. *Obstet. Gynecol.* 33: 195-199, 1969.
6. Conde, C.J.: Cervicovaginitis, una visión panorámica. *Infectología (editorial)* 5:30-31, 1985.
7. De la Cruz, R. y Calderon, E.: Diagnóstico rápido de infecciones cervicovaginales. *Infectología* 5:115-120, 1985.
8. Dunkelberg, W.E., Bosman, R.I.: *Haemophilus vaginalis*. Incidence among 431 specimens examined. *Milit Med* 26:920, 1961.
9. Erkkola, R., Jarvinen, H., Terho, P., y Meurman, O. Microbial flora in women showing symptoms of nonspecific vaginosis: applicability of KOH test for diagnosis. *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.* 40:59-63, 1983.
10. Eschenbach, D.A., Crithlow, C.W., Watkins, H. y Smith, K.: A dose duration study of metronidazole for the treatment of nonspecific vaginosis. *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.* 40:73-80, 1983.
11. Fleuty, F. J.: The Clinical Signs and symptoms of *Gardnerella vaginalis* associated vaginosis. *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.* 40:41-72, 1983.
12. Gardner, H.L., Dukes, C.D.: *Haemophilus vaginalis* vaginitis. A newly defined specific infection previously classified "nonspecific" vaginitis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 69:962-976, 1955.
13. Gardner, H.L.: "Non-specific" vaginitis: A non entity. *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.* 40: 7-10, 1983.
14. Greenwood, J.R. y Pickett, M.J.: Transfer of *Haemophilus vaginalis* (Gardner y Dukes) to a new genus, *Gardnerella*. *Int. J. System Bacteriol.* 30:170, 1980.
15. Hovik, P.: Nonspecific vaginitis in an outpatient clinic. *Scand. J. Infec. Dis. Suppl.* 40:107-110, 1983.
16. Kiviant, N.B.: Cytologic manifestations of cervical and vaginal infections. *JAMA.* 253:989-995, 1985.
17. Lapage, S.P.: *Haemophilus vaginalis* and its role in vaginitis. *Act. Pathol. Microbiol. Scand.* 52:34, 1961.
18. Leopold, S.: Heretofore undescribed organism isolated from the genitourinary system. *U.S. Armed Forces Medical Journal.* 4:263-266, 1953.
19. Lewis, P.J., O'Brien S.M., Ural U.M., Burke T.: *Coryne bacterium* *vaginale* in pregnant women. *Am. J. Clin. Pathol* 56:580, 1971.
20. McCormack, W.M. y Hayes, C.H. y Rosner, B.: Colonization with *Corynebacterium vaginale* (*Haemophilus vaginalis*) *J. Infect. Dis.* 136: 6:740-745, 1977.
21. Petersen, E.E.: Diagnosis and Therapy of nonspecific vaginitis. *Scand. J. Infect Dis. Suppl.* 40:97-99, 1983.
22. Pfeifer, T.A., Forsyth, P.S., Duffee, M.A.: Nonspecific vaginitis role of *Haemophilus vaginalis* and the treatment with metronidazole. *N. Engl. J. Med.* 298: 1429-1434, 1978.
23. Piot, P., Van Dyck E.: Isolation and identification of *Gardnerella vaginalis*. *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.* 40: 15-18, 1983.
24. Spiegel, C.A., Amsel, R., Eschenbach, D.A., Schoenknecht, F. y Holmes, K.K.: Anaerobic bacteria in nonspecific vaginitis. *N. Engl. J. Med.* 303: 601-607, 1980.
25. Spiegel, C.A., Davik, P., Totten, P.A., y Chen, C.S. *Gardnerella vaginalis* and anaerobic bacteria in the etiology of bacterial (nonspecific) vaginosis. *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.* 40:41-46, 1983.
26. Thomason, J.L. y cols. Clinical and microbiological characterization of patients with nonspecific vaginosis associated with motile curved anaerobic rods. *J. Infect. Dis.* 149:801-808, 1984.
27. Totten, P.A., Amsel, R.R., Hale, J., Piot, P., y Holmes, K.K.: Selective differential human blood bilayer media for isolation of *Gardnerella vaginalis*. *J. Clin. Microbiol.* 15:141-147, 1982.
28. Vontver, L.A. Eschenbach, D.A.: Participación de *Gardnerella vaginalis* en la vaginitis inespecífica. *Clin. Obstet. Gynecol.* 2:447-468, 1981.
29. Yarritu, S.M. Investigación de *Haemophilus vaginalis* (*Gardnerella vaginalis*) en mujeres con vaginitis de la población derechohabiente de la clínica No. 7 del IMSS. Tesis profesional. ENCB. IPN. México. 1981.
30. Yong, D.C.: Rapid microbiobiochemical method for identification of *Gardnerella vaginalis*. *J. Clin. Microbiol.* 16:30-33, 1982.