

bioanálise



Trichomonas vaginalis – Aspectos Clínicos e Diagnóstico Laboratorial

Trichomonas vaginalis – Clinical aspects and laboratorial diagnosis

Estudo Comparativo de Dois Métodos Rápidos para o Diagnóstico de Infecção por *Mycoplasma* spp. e *Ureaplasma* spp. em Mulheres Grávidas

Comparative Study of Two Rapid Methods for Infection Diagnosis by *Mycoplasm* spp. and *Ureaplasm* spp. in Pregnant Women

Avaliação da Prevalência de *Trichomonas vaginalis* pelos Métodos Directo e Cultural

Evaluation of the Prevalence of *Trichomonas*

vaginalis by Direct and Cultural Methods

VIII CONGRESSO DE ANÁLISES CLÍNICAS E SAÚDE PÚBLICA DA SOCIEDADE

PORTUGUESA DE BIOANALISTAS CLÍNICOS

8th CONGRESS OF CLINICAL ANALYSES AND PUBLIC HEALTH OF THE PORTUGUESE SOCIETY OF CLINICAL BIOANALYSTS



Sociedade Portuguesa de BioAnalistas Clínicos

bio análise



PUBLICAÇÃO OFICIAL DA SOCIEDADE PORTUGUESA DE BIOANALISTAS CLÍNICOS

Director Científico

Elísio Sousa Costa, Porto

Director Científico Adjunto

Francisco José Freitas, Viseu

Conselho Científico

Abel Fonseca Ferreira, Guarda
Altina Ramos Lopes, Porto
Ana Silva Galante, Coimbra
Ana Vieira Gonçalves, Coimbra
Andrea Rebelo Santos, Lisboa
António Marques Metello, Coimbra
Célia Custódio Morais, Coimbra
Cristina Caldas Peres, Lisboa
Dalila Ferreira Patrício, Coimbra
Elsa Ribeiro Lopes, Porto
Fátima Barreto Simões, Coimbra
Glória Fernandes Almeida, Lisboa
Isabel Soares Henriques, Porto
João Almeida Santos, Lisboa
José Alípio Simões, Coimbra
Rogério Cerqueira Barreira, Coimbra
Fátima Pinto Monteiro, Porto
Maria Fortunato Alves, Porto
Sandra Teixeira Pereira, Porto
Sónia Graziela Rocha, Porto
Sónia Neiva Santos, Porto
Susana Almeida Santos, Coimbra
Vânia Viriato Oliveira, Lisboa

Director Geral

Teobaldo Correia Simões

Director Administrativo

Moisés de Brito Vaz

Director Financeiro

Manuela Costa Silva

Marketing, Distribuição e Publicidade

Ana Cristina Pinto
Elisa Rocha Gouveia
Maria José Reis

**Propriedade, Administração,
Produção, Edição e Redacção**
Sociedade Portuguesa
de BioAnalistas Clínicos

Contactos da Redacção e Produção

Apt. 2009
3501-909 Viseu
Tlm: 969 235 980
E-mail: spbs@portugalmail.pt
Site: www.spbs.pt

Depósito Legal N° 221837/05
ISSN 1646-1266

Design, Montagem e Impressão
Tip. Beira Alta, Lda. - Viseu

ÓRGÃOS SOCIAIS SPBS

DIRECÇÃO

Presidente

Teobaldo Correia Simões

Vice-Presidente

Elisa Rocha Gouveia

Secretário

Moisés de Brito Vaz

Tesoureiro

Manuela Costa Silva

Vogais

Abel Fonseca Ferreira
Inês Ferreira Pinto
Maria José Reis
Maria Sameiro Portela
Paulo Roque Nunes

ASSEMBLEIA GERAL

Presidente

Cândido Almeida Teixeira

Vice-Presidente

Ana Fonseca Pinto

Secretário

Francisco Teixeira Soares

Suplentes

Ana Amaral Almeida
Céu Falcão Coelho

CONSELHO FISCAL

Presidente

Elísio Sousa Costa

Redactores

Joaquim Oliveira e Cunha
Sílvia Tadeu Pires

Suplente

Sandra Russo Jorge

Avaliação da Prevalência de *Trichomonas vaginalis* pelos Métodos Directo e Cultural

MARIA JOSÉ ALVES¹, AGOSTINHO CRUZ², JORGE BALTEIRO³, RITA OLIVEIRA⁴, AGOSTINHO CUNHA⁵

¹Hospital Distrital de Chaves, Escola Superior de Saúde de Bragança, ^{2,4,5} Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Porto, ³Escola Superior de Tecnologia de Saúde de Coimbra

RESUMO

A tricomoniose é a doença sexualmente transmitida não viral de maior prevalência nos seres humanos. Apresenta grande variabilidade de manifestações clínicas, desde a ausência de sintomas a um elevado risco de inflamação pélvica e infertilidade. Sinais clínicos e sintomas não são nem sensíveis nem específicos o suficiente para serem usados isoladamente no diagnóstico da tricomoniose, como tal o diagnóstico laboratorial é fundamental na detecção desta parasitose. A baixa sensibilidade dos métodos usados no diagnóstico laboratorial desta infecção subestima a sua prevalência. Consistiram em determinar a prevalência de *Trichomonas vaginalis* em mulheres recorrendo ao exame directo e cultural com intuito de verificar as respectivas sensibilidades. Foi propósito demonstrar a importância da utilização sequencial destas duas metodologias no diagnóstico da tricomoniose. As colheitas dos exsudados vaginais foram efectuadas em 288 mulheres que frequentavam a consulta de planeamento familiar dos Centro de Saúde N.º1, Centro de Saúde N.º 2 e Hospital Distrital de Chaves, recorrendo a duas metodologias de diagnóstico (método Directo/Cultural). Das 288 mulheres investigadas a infecção por *T. vaginalis* foi detectada em 11 (3,8%) recorrendo conjuntamente às duas metodologias. A infecção foi diagnosticada pelo método directo em 4 das 11 mulheres, no entanto o método cultural (Meio TYM) detectou os 11 casos positivos. Apesar de continuar a ser o mais utilizado no diagnóstico da tricomoniose o método directo apresentou uma sensibilidade de apenas 36,3%. Pela

comparação de sensibilidades é visível a elevada precisão do método cultural relativamente ao directo. A associação destas duas metodologias poderá ser uma mais valia no diagnóstico da tricomoniose.

Palavras chave: *Trichomonas vaginalis* • Diagnóstico laboratorial • Cultura • Exame directo

Aceite para publicação: 11 de Agosto de 2010

ABSTRACT

Trichomoniasis is the non viral sexually transmitted disease with greater prevalence in human beings. It presents a great variety of pathological manifestations, from the lack of symptoms to a state of severe pelvic inflammation and infertility. Clinical signals and symptoms are neither sensible nor specific enough to be used alone in the diagnosis of trichomoniasis, therefore the laboratorial diagnosis is fundamental in the detection of this parasitosis. The low sensibility of the methods used in the laboratorial diagnosis of this infection underestimates its prevalence. Thereby, the objectives consisted in determining the prevalence of *Trichomonas vaginalis* in women appealing to the direct and cultural exam with the intention of verifying the concerning sensibilities. It was intended to demonstrate the importance of the sequential use of these two methodologies in the diagnosis of trichomoniasis. The collection of vaginal exudates was performed in 288 women that attended the consultation of family planning at the health Center n.º1, health Center n.º 2 and District Hospital of Chaves, using two methodologies of diagnosis (Direct / cultural methods). Of the 288 women inquired, the infection *T. vaginalis* was detected in 11 (3.8%) using the two methodologies. The infection was diagnosed by the direct method in 4 of the 11 women;

Correspondência:

Maria José Gonçalves Alves, Rua Fonte do Leite, Ed. Buenos Aires, Bloco A, 3.º Esq.º, 5400-258 Chaves, e-mail: mjose@serviconta.com.pt, telef.: 936209525; 276201063,

however the cultural method (Half TYM) detected the 11 positive cases. In spite of being the most used method in the diagnosis of the trichomoniasis, the direct method presented a sensibility of only 36.3%. When comparing sensibilities, the sensibility of the cultural method is higher. The association of these two methodologies can be very useful in the diagnosis of the trichomoniasis.

Keywords – *Trichomonas vaginalis* • Laboratorial diagnostic • Culture • Wet mount

Accepted for publication: 11 August 2010

INTRODUÇÃO

Trichomonas vaginalis é um protozoário flagelado, elipsóide, periforme ou oval, responsável pela tricomoniose, doença sexualmente transmissível (DST) não viral mais comum no mundo (1, 2, 3).

A tricomoniose apresenta grande variabilidade de manifestações clínicas que vão desde a ausência de sintomas a um elevado risco de inflamação pélvica e infertilidade⁴. A esta parasitose estão associadas ainda outras complicações de saúde, parecendo promover a transmissão do vírus do HIV (5,6,7), sendo causa de baixo peso em bebés, bem como de nascimentos prematuros (8), neoplasia cervical (9, 10) e infertilidade (11).

A apresentação clínica da infecção depende provavelmente do número e virulência do parasita e também da resistência do hospedeiro. Das mulheres infectadas, entre 25 e 50% são assintomáticas, apresentando pH e flora vaginal normal (12).

Sinais clínicos e sintomas não são nem sensíveis nem específicos o suficiente para serem usados isoladamente no diagnóstico da tricomoniose (13).

O diagnóstico laboratorial da tricomoniose tem dependido tradicionalmente da observação microscópica da mobilidade do trofozoíto em secreções vaginais e do cervix, um procedimento que foi descrito por *Donné* em 1836 (14). Quando se observam células móveis, este método tem um elevado grau de especificidade (> 95%), todavia um resultado negativo não elimina a possibilidade de tricomoniose (15). É o método que apresenta menores custos, maior rapidez e facilidade de execução, no entanto apresenta sensibilidade limitada entre os 60 a 70% (16).

Apesar de o método directo ser a metodologia mais usada para diagnóstico da tricomoniose nas unidades de saúde em Portugal e outros países, está longe de ser o melhor em termos de sensibilidade (13).

O método de cultura é o padrão para o diagnóstico por ser simples de interpretar e requerer apenas 300 a 500 células de *T. vaginalis* por mililitro de inóculo para iniciar o crescimento (12). A cultura em meio Diamond tem a capacidade de identificar até 95% das infecções por *T. vaginalis*, alcançando tanto um elevado grau de sensibilidade (85%-95%) como de especificidade (> 97%) (12). Há no entanto limitações inerentes ao diagnóstico por este exigir um período de incubação de 2 a 7 dias tempo durante o qual os pacientes infectados continuam a disseminar a infecção^{11,12}. A alternativa ao método cultural inclui numa primeira fase uma triagem recorrendo ao exame directo, seguida pela cultura das amostras cujos resultados sejam negativos (5). Esta abordagem é considerada uma mais valia no diagnóstico da tricomoniose (19) possibilitando nas situações de diagnóstico positivo por recurso ao exame directo o início imediato do tratamento.

Métodos de coloração como o que recorre à laranja de acridina (18) e o método de Papanicolau (Pap) (16), comercialmente disponíveis, apresentam menor sensibilidade que a cultura associada ou não ao exame directo. O recurso às técnicas de (PCR) também se tem posicionado como alternativa de diagnóstico. Possuem sensibilidades muito próxima dos 100% mas estão ainda restritas a locais de investigação devido à complexidade técnica e elevados custos (20). Nas mulheres esta metodologia não sugere vantagem no diagnóstico da tricomoniose relativamente ao método cultura (18).

Assim, os objectivos consistiram em avaliar a prevalência de *T. vaginalis* em mulheres utilizando duas metodologias de diagnóstico (exame directo e cultural) e verificar as respectivas sensibilidades. Foi propósito demonstrar a importância da utilização sequencial destas duas metodologias no diagnóstico da tricomoniose.

MÉTODOS

Local e Duração do estudo

A recolha de exsudados vaginais foi efectuada entre

Fevereiro e Julho de 2005 em mulheres que frequentavam a consulta de planeamento familiar dos Centros de Saúde Nº1, Cento de Saúde Nº 2 e Hospital Distrital de Chaves, na cidade de Chaves. A componente laboratorial do estudo foi realizada no serviço de patologia clínica do Hospital Distrital de Chaves (pesquisa de *T. vaginalis* método directo e cultural).

População em estudo e amostra

População em estudo

Mulheres que frequentavam a consulta de planeamento familiar entre Fevereiro e Julho de 2005 nos Centros de Saúde Nº1, Cento de Saúde Nº 2 e Hospital Distrital de Chaves, na cidade de Chaves.

Amostra estudada

Foram sujeitas a diagnóstico 288 mulheres com idades compreendidas entre 17 e os 60 anos, sintomáticas e assintomáticas (Cento de Saúde Nº1: n=190; Cento de Saúde Nº 2: n= 49; Hospital Distrital de Chaves: n=49).

A todas as pacientes foi pedido o consentimento informado para participar no estudo, sendo aplicado um inquérito pelo clínico onde foram recolhidos alguns dados sócio demográficos, comportamento sexual, sintomas da doença, bem como de terapêutica administrada anteriormente.

Recolha e processamento das amostras

As colheitas dos exsudados vaginais foram recolhidos pelos médicos de clínica geral nos centros de Saúde e ginecologistas no Hospital depois da inserção do espéculo utilizando uma zaragatoa estéril. Esta foi inoculada em meio de Stuart a 37°C, seguido de exame directo e cultura em meio TYM²¹. (Diamond, 1957). Após 24 horas e diariamente, durante 6 dias após a sementeira, foi efectuado novo exame microscópico^{4,22}.

Análise Estatística

A análise estatística foi efectuada recorrendo ao programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versão 11.5.

RESULTADOS

Das 288 mulheres envolvidas no estudo 277 não apresentavam tricomoniose, sendo detectados 11 casos positivos em mulheres com uma idade média de 41,4 ($\pm 7,6$) anos. Assim a prevalência da *T. vaginalis* nesta população é de 3,8% recorrendo às duas metodologias laboratoriais exame directo e exame cultural.

A infecção foi diagnosticada pelo método directo em apenas 4 das 11 mulheres, no entanto o método cultural (Meio TYM) detectou os 11 casos positivos.

Apesar de continuar a ser o mais utilizado no diagnóstico da tricomoniose o método directo apresentou uma sensibilidade de apenas 36,3%, no entanto a sua especificidade é de 100%.

DISCUSSÃO/CONCLUSÃO

Pelo facto de a tricomoniose ser uma Doença Sexualmente Transmitida (DST) facilmente diagnosticada e tratada, recebeu pouco ênfase dos programas de controlo de Doenças sexualmente transmitidas em Saúde Pública. Contudo, o aparecimento de taxas de prevalência elevada, a associação da tricomoniose com resultados adversos na gravidez e com a transmissão do vírus HIV tem levado a uma reunião de esforços no controlo da infecção (22).

Praticamente todos os estudos que são realizados acerca da prevalência desta infecção utilizam populações muito dispersas e com sintomatologia ou outras DSTs. Acresce ao problema o facto de serem usadas diferentes metodologias com oscilantes graus de sensibilidade no diagnóstico da tricomoniose. Desta forma, ao fazer uma revisão epidemiológica desta parasitose a nível mundial é encontrada uma amplitude excessiva na prevalência desta infecção. Alguns estudos podem ser agrupados, outros há, que não seguem nenhum padrão específico sendo assim muito difícil retirar elações sobre a prevalência nos diferentes países.

No presente trabalho, em 288 mulheres submetidas a diagnóstico foram detectados 11 casos positivos (3,8%) o que concede uma prevalência mais elevada que a descrita por outros autores para Espanha (1), EUA (23), Nova Zelândia (24), Brasil (25), Tanzânia (26), Nigéria (27), Arábia Saudita (28), mas inferior à encontrada noutros estudos como o Brasil (29), Estados Unidos América (30, 31), Reino Unido (32), Austrália (33, 34), Egipto (35), Turquia (19) entre outros.

De todos os estudos referidos anteriormente só alguns deles recorrem ao exame directo e ao exame cultural; um desses estudos foi realizado em Madrid (Espanha) em mulheres que frequentavam a consulta de planeamento familiar nos Centros de Saúde onde foi detectada uma prevalência de 1,2%. Esta baixa prevalência relativamente ao estudo actual poderá ser devida ao melhoramento do acesso regular aos cuidados de saúde o que demonstra um melhoramento no

controlo das DSTs em Espanha, tal como os autores referem (4).

Nos Estados Unidos Swygard (36) e seus colaboradores recorrendo às duas metodologias de diagnóstico tal como no presente estudo demonstraram uma prevalência de 17,5% em mulheres que consultaram clínicas para pesquisa de DSTs. Esta diferença de prevalência com o presente estudo poderá ser devida ao tipo de população estudada já que os autores recorreram apenas a mulheres que acederam a clínicas para tratamento de DSTs, enquanto no estudo actual a amostragem foi seleccionada aleatoriamente de entre as mulheres que recorreram às consultas de planeamento familiar (sintomáticas e assintomáticas).

Tendo em consideração a análise da sensibilidade das 2 metodologias em estudo de um total de 11 casos apenas 4 foram detectados simultaneamente pelo exame directo e cultural, sendo os restantes 7 diagnosticados apenas pelo método de cultura. Assim, o recurso ao método directo isoladamente para o diagnóstico laboratorial da tricomoniose detectaria apenas uma prevalência de 1,0%. Por outro lado as 7 mulheres com resultado positivo só em cultura não seriam diagnosticadas continuando a ser possíveis focos de infecção.

Desta forma no presente estudo a sensibilidade do exame directo foi de apenas 36,3 %, no entanto o exame cultural apresentou uma sensibilidade de 100%. Madico (30) e seus colaboradores (1998) demonstraram que mesmo o exame directo sendo feito à cabeceira do doente apresenta uma sensibilidade de apenas 36%. Contrariamente ao exame directo a cultura apresenta elevado grau de sensibilidade (85% - 95%) sendo considerada por muitos autores (15, 12) o método de referência no diagnóstico da tricomoniose. Diferentes investigadores (37, 38, 39) consideram o método da cultura uma excelente metodologia no diagnóstico da tricomoniose contudo há limitações, que se traduzem na demora do diagnóstico e no seu custo (12, 1).

Já em 2004 Swygard (40) e seus colaboradores tentaram desenvolver um modelo que permitisse às mulheres com exame directo negativo usufruir do método cultural, no entanto, defendiam que só em situações

especiais (uso de drogas, infecção anterior por *T. vaginalis*, entre outras) deveria ser usado o método cultural. Em (2005) Sakru (36) e seus colaboradores, para fazer o diagnóstico da tricomoniose, efectuaram em simultâneo o exame directo e o exame cultural em 93 mulheres. De todos os casos positivos (8,6%), recorrendo ao exame directo foram detectados apenas (3,2%), sendo os restantes (5,4%) detectados por cultura.

Embora diferentes estudos (4, 38, 1), demonstrem a elevada sensibilidade do método cultural e os limites do exame directo, este continua a fazer parte da prática clínica na pesquisa de tricomoniose em Portugal e em outros países, sendo a cultura por questões económicas não implementada na prática clínica. Muitos resultados dados como negativos devido à baixa sensibilidade desta metodologia podem ser falsos negativos, sendo assim difícil tirar conclusões acerca da prevalência da tricomoniose em Portugal. Advém ao problema o facto de existir uma elevada prevalência de casos assintomáticos e o único controlo efectuado às mulheres que frequentam a consulta de planeamento familiar ser o exame de papanicolau (PAP), que apresenta tal como o directo baixa sensibilidade (29, 16). Estes resultados sugerem que os parasitas com formas irregulares, sem núcleo e sem flagelos claramente definidos, bem como a lise induzida por bactérias no parasita limitam a habilidade do PAP na detecção da *T. vaginalis* (29).

Em suma, pela análise dos resultados obtidos é nítida a baixa sensibilidade do exame directo, bem como do PAP usado no controlo nas mulheres que frequentam as consultas de planeamento familiar, como tal é urgente que estas metodologias sejam substituídas no rastreio da tricomoniose. A associação do exame directo com o método cultural parece ter sucesso já que o directo permite sempre que positivo medicar imediatamente, no caso de resultado negativo efectua-se a confirmação por cultura, inibindo os falsos negativos. Por fim é urgente criar programas de prevenção e sensibilização com o intuito de informar a população acerca do elevado número de casos assintomáticos, bem como dos problemas associados a esta parasitose.

REFERÊNCIAS

1. De Carli G. A. 2000. Tricomonas. In: Neves, D.P. Parasitologia humana. São Paulo. Ateheueu. pp. 101-105.
2. De Carli G. A. & Tasca T. 2001. *Trichomonas vaginalis*. In: De Carli, G.A. Parasitologia clínica: seleção de métodos e técnicas de laboratório para diagnóstico das parasitoses humanas. São Paulo. Atheneu. pp 453-67.
3. Gerbase A. C., Rowley J. T., Heymann D. H., Berkley S. F., Piot P. Global prevalence and incidence estimates of selected curable STDs. *Sex Transm Infect* 1998; **74** (Suppl 1):S12-S16.
4. Barrio A. G., Ruiz J. N., Pereira D. M., Gallego E. R., Fernandez E. R., Escario J. A. Biological Variability in clinical Isolates of *Trichomonas vaginalis*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2002; **97**(6):893-896.
5. Sorvillo F., Smith L., Kerndt P., Ash L. *Trichomonas vaginalis*, HIV, and African-Americans. *Emerg Infect Dis* 2001; **7**(6):927-932.
6. Fleming A.T. & Wesserheit J.N. From epidemiological synergy to public health policy e practice: the contribution of other sexually transmitted diseases to sexual transmission of HIV infection. *Sex Transm Inf* 1999; **75**:3-17.
7. Laga M., Manoka A., Kivuvu M., Malele B., Tuliza M., Nzila N., Goeman J., Behets F., Batter V., Alary M. Non-ulcerative sexually transmitted diseases as risk factors for HIV-1 transmission in women: results from a cohort study. *AIDS* 1993; **7**(1):95-102
8. Cotch M. F., Pastorek J. G., Nugent R. P., Hillier S. L., Gibbs R. S., Martin D. H., Eschenbach D. A., Edelman R., Carey J. C., Regan J. A., Krohn M. A., Klebanoff M. A., Rao A. V., Rhoads G. G. *Trichomonas vaginalis* associated with low birth weight and preterm delivery: The Vaginal Infections and Prematurity Study Group. *Sex Transm Dis* 1997; **24**(6):353-360.
9. Zhang Z. F. & Begg C. B. Is *Trichomonas vaginalis* a cause of cervical neoplasia? Results from a combined analysis of 24 studies. *Int J Epidemiol* 1994; **23**(4):682-690.
10. Kharsany A. B., Hoosen A. A., Moodley J., Bagaratee J., Gouws E. The association between sexually transmitted pathogens and cervical intra-epithelial neoplasia in a developing community. *Genitourin Med* 1993; **69**(5):357-360.
11. Grodstein F., Goldman M. B., Cramer D. W. Relation of tubal infertility to history of sexually transmitted diseases. *Am J Epidemiol* 1993; **137** (5):577-584.
12. Petrin D., Delgaty K., Bahatt R., Gaber G. Clinical and microbiological aspects of *Tricomonas vaginalis*. *Clin Microbiol rev*1998 ; **11**:300-317.
13. Sobel J. D. Vaginitis. *N Engl J Med* 1997 ; **337**(26):1896-1903.
14. Donné M.A. Animacules observes dans les matières purulents et le produit des sécrétions des organes génitaux l'homme et de la femme. *C R Acad Sci* 1836; **3**:385-386.
15. Lossick J.G. & Kent H.L. Trichomoniasis: trends in diagnosis and management. *Am J Obstet Gynecol* 1991; **165**(4 Pt 2):1217-1222.
16. Wiese W., Patel S. R., Patel S. C., Ohl C. A., Estrada C. A. A meta-analysis of the Papanicolaou smear and wet mount for the diagnosis of vaginal trichomoniasis. *Am J Med.* 2000; **108**(4):301-308.
17. Churakov A. A., Kulichenko A. N., Suvorov A. P., Glybochko P. V., Kutyrev V. V. Comparative assessment of the diagnostic value of the laboratory diagnostic methods for trichomoniasis. *Med Parazitol (Mosk)* 2005; **3**: 22-25.
18. Radonjic I. V., Dzamic A. M., Mitrovic S. M., Arsic Arsenijevic V. S., Popadic D. M., Kranjcic Zec I. F. Diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection: The sensitivities and specificities of microscopy, culture and PCR assay. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2006; **126**(1):116-120.
19. Sakru N., Toz S. O., Yetkin A. C., Akinci P. Y., Kirca U. Increased sensitivity of *Trichomonas vaginalis* isolation from vaginal secretions by subsequent blind passage of preliminary negative cultures. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; **52**(1):75-67
20. Leherker M. W. & Alderete J. F. Biology of trichomonosis. *Curr Opin Infect Dis* 2000; **13**(1):37-45.
21. Diamond L.S. The establishment of various trichomonads of animals and man in axenic cultures. *J Parasitol* 1957; **43**(4):488-90.
22. Schwebke J. R. and Burgess D. 2004. Trichomoniasis. *Clin Microbiol Rev.* **17** (4):794-803.
23. Shrader S., Hernandez E., Gaughan J. 2003. Is there a seasonal difference in the detection of *Trichomonas Vaginalis* by cervical cytology? *Scientific World Journal.* **3**: 45-50.
24. Lo M., Reid M., Brokenshire M. 2002. Epidemiological features of women with trichomoniasis in Auckland sexual health clinics: 1998-99. *N Z Med J.* **115**(1159):U119.
25. Andrea N. & Ansell J. 2003. Management of thrombosis in the cancer patient. *J Support Oncol.* **4**: 235
26. Kapiga S. H., Sam N. E., Masenga E. J., Manongi R., Shao J. F. 2005. Risk factors for bacterial vaginosis among bar and hotel workers in Northern Tanzania.

- East Afr Med J.* **82**(2):85-91.
27. Kehinde A. O. & Lawoyin T. O. 2005. STI/HIV co-infections in UCH, Ibadan. Nigeria. *Afr J Reprod Health.* **9**(1):42-48.
 28. Alzanbaji N. A., Salem H. S., Al Braiken F. 2005. Trichomoniasis among women with vaginal discharge in Jeddah city, Saudi Arabia. *J Egypt Soc Parasitol.* **35**(3):1071-1080.
 29. Lobo T. T., Feijo G., Carvalho S. E., Costa P. L., Chagas C., Xavier J., Simões-Barbosa A., 2003. A comparative evaluation of the Papanicolaou test for the diagnosis of trichomoniasis. *Sex Transm Dis.* **30**(9):694-699.
 30. Madico G., Quinn T. C., Rompalo A., McKee K. T., Gaydos C. A., 1998. Diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection by PCR using vaginal swab samples. *J Clin Microbiol.* **36**(11): 3205-3210.
 31. Brown H. L., Fuller D. D., Jasper L. T., Davis T. E., Wright J. D., 2004. Clinical evaluation of affirm VPIII in the detection and identification of *Trichomonas vaginalis*, *Gardnerella vaginalis*, and *Candida* species in vaginitis/vaginosis. *Infect Dis Obstet Gynecol.* **12**(1): 17-21.
 32. Adu-Sarkodie Y., Opoku B. K., Danso K. A., Weiss H. A., Mabey D. 2004 Comparison of latex agglutination, wet preparation, and culture for the detection of *Trichomonas vaginalis*. *Sex Transm Infect.* **80**(3):201-203.
 33. Garrow S. C., Smith D. W., Harnett G. B. 2002. The diagnosis of chlamydia, gonorrhoea, and trichomonas infections by self obtained low vaginal swabs, in remote northern Australian clinical practice. *Sex Transm Infect.* **78**(4):278-281.
 34. Knox J., Tabrizi S. N., Miller P., Petoumenos K., Law M., Chen S., Garland S. M. 2002. Practitioner-collected samples for detection of *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, and *Trichomonas vaginalis* by polymerase chain reaction among women living in remote areas. *Sex Transm Dis.* **29**(11):647-654.
 35. Mahmoud M. S., Abdel-Aziz S. S., El-Sherif E. A., Swidan K. H. 1999. Diagnosis of symptomatic and asymptomatic *Trichomonas vaginalis* infection by applying one tube nested PCR to vaginal discharge. *J Egypt Soc Parasitol.* **29**(3):1031-1046.
 36. Sakru N., Toz S. O., Yetkin A. C., Akinci P. Y., Kirca U. 2005. Increased sensitivity of *Trichomonas vaginalis* isolation from vaginal secretions by subsequent blind passage of preliminary negative cultures. *Diagn Microbiol Infect Dis.* **52**(1):75-76.
 37. Wendel K. A., Rompalo A. M., Erbeling E. J., Chang T. H., Alderete J. F. Double-stranded RNA viral infection of *Trichomonas vaginalis* infecting patients attending a sexually transmitted diseases clinic. *J Infect Dis* 2002; **186**(4):558-561.
 38. Rivero L. R., Pena M. R., Perez C. S., Monroy S. P., Sario Ramos I., Nodarse J. F. Frequency of *Trichomonas vaginalis* infection in couples with fertility problems. *Rev Cubana Med Trop* 2002; **54**(2):85-90.
 39. Kissinger P. J., Dumestre J., Clark R. A., Wenthold L., Mohammed H., Hagensee M. E., Martin D. H. Vaginal swabs versus lavage for detection of *Trichomonas vaginalis* and bacterial vaginosis among HIV-positive women. *Sex Transm Dis* 2005; **32**(4):227-230.
 40. Swygard H., Miller W.C., Kaydos-Daniels S. C., Cohen M. S., Leone P. A., Hobbs M. M., Sena A. C. Targeted screening for *Trichomonas vaginalis* with culture using a two step method in women presenting for STD evaluation. *Sex Transm Dis* 2004; **31**(11): 659-664.