

HOSPITAL DOCENTE MATERNO INFANTIL "10 DE OCTUBRE"
CENTRO NACIONAL DE SANIDAD AGROPECUARIA (CENSA)

Evaluación de un método de aglutinación con partículas látex sensibilizadas para el diagnóstico de trichomoniasis vaginal

Lic. Ana María López Abraham,¹ Lic. Mayelín de la C. Llanos Artilles,² Dr. Jorge R. Fernández Massó,³ Dra. Dayamí García San Martín,⁴ Dra Magalis Alonso⁵ y Dra. Elba Álvarez Rodríguez⁶

RESUMEN

Se evaluó un método de aglutinación por látex para la detección de trichomoniasis vaginal, elaborado en el Departamento de Parasitología del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria. Se analizaron 240 muestras de exudados vaginales de mujeres que acudieron al Departamento de Microbiología del Hospital Docente Materno Infantil "10 de Octubre". Este método se comparó con el convencional de examen directo utilizado en los laboratorios, tomando el cultivo en medio Diamond como diagnóstico de certeza. El método de látex resultó ser más sensible, eficiente y de mayores valores predictores que el examen directo. La evaluación de esta técnica arrojó una sensibilidad de 97,7 % y una eficiencia de 97,5 %. La nueva técnica de látex brinda el diagnóstico en aproximadamente 3 min y por su sencillez puede realizarse en las propias consultas de ginecología por el personal paramédico y con ello establecer el tratamiento específico el mismo día.

Palabras clave: *Trichomonas vaginalis*, diagnóstico, aglutinación con látex.

Trichomonas vaginalis es uno de los principales agentes microbianos causante de la vaginitis en la mujer. Se calcula que en todo el mundo se reportan anualmente 180 000 000 de casos infectados por este parásito, y solo en EE.UU. se enferman anualmente de trichomoniasis alrededor de 2 a 3 000 000 de mujeres.^{1,2} *Candida albicans* y *Gardnerella vaginalis*, microorganismos causantes también de vaginitis en la mujer, provocan en muchos casos síntomas similares a los causados por *Trichomonas vaginalis*, por lo que se hace imprescindible realizar

un diagnóstico diferencial para establecer el tratamiento adecuado.³⁻⁶

El diagnóstico clásico de la trichomoniasis vaginal se realiza mediante el exudado vaginal visualizado a través de un microscopio óptico (examen directo). Esta técnica es muy sensible cuando los parásitos son abundantes, pero en el caso de que las concentraciones de estos microorganismos no sean tan elevadas, aun mostrando el paciente síntomas de infección o cuando la observación al microscopio se retarda, esta técnica pierde sensibilidad y por consiguiente

¹ Máster en Ciencias. Especialista en Microbiología. Hospital Docente Materno Infantil "10 de Octubre".

² Licenciada en Microbiología.

³ Especialista de I Grado en Ginecología y Obstetricia. Hospital Docente Materno Infantil "10 de Octubre".

⁴ Especialista de I Grado en Microbiología. Hospital Docente Materno Infantil "10 de Octubre".

⁵ Doctora en Ciencias Veterinarias. Investigadora Titular. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria.

⁶ Investigadora Agregada. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria.

se corre el riesgo de que personas infectadas no se detecten, por lo que se hace necesario la utilización de técnicas más sensibles.⁷

El cultivo en medio Diamond para la detección de *Trichomonas vaginalis* sigue siendo la prueba de oro, pero los reactivos para su preparación resultan costosos y solo es usado en ciertos estudios investigativos.⁸

Se han empleado técnicas serológicas como la inmunofluorescencia directa utilizando anticuerpos monoclonales, la cual ha permitido el diagnóstico en 86 % de los casos,⁹⁻¹⁰ la técnica de PCR (*polymerase chain reaction*, siglas en inglés),¹¹ la contraelectroforesis y el ELISA para determinar la presencia del protozoo en las secreciones vaginales,^{12,13} pero estas técnicas requieren de un equipamiento especializado para su ejecución, por lo que solo se utilizan en pocos laboratorios.

En el presente trabajo, sus autores se dieron a la tarea de evaluar un reactivo de látex elaborado en el Departamento de Parasitología del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), estableciendo una comparación en cuanto a especificidad y sensibilidad con respecto a los métodos convencionales que se utilizan en los laboratorios del país, con el fin de mejorar la calidad y rapidez del diagnóstico de *Trichomonas vaginalis*.

MÉTODOS

MEDIO DE CULTIVO

El medio de cultivo empleado en este trabajo fue el medio Diamond modificado que favorece considerablemente el crecimiento y la multiplicación de *Trichomonas vaginalis*.⁸

REACTIVO

El reactivo utilizado fue un inmunosuero obtenido en conejos, que se conjugó con partículas látex mediante una técnica desarrollada en el Laboratorio de Parasitología del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) por Alonso y otros (Alonso M. Informe Técnico. CENSA, 1996).

TOMA DE MUESTRA

Se colectaron 240 muestras de exudados vaginales de mujeres que acudieron al laboratorio

de Microbiología del Hospital Docente Materno Infantil "10 de Octubre", determinándose algunos síntomas compatibles con un proceso de vaginitis, como es la presencia de secreción, fetidez, prurito, dolores abdominales e inflamación pélvica.

La obtención de los exudados vaginales se realizó introduciendo en la vagina un aplicador estéril, tomando la muestra directamente de las paredes vaginales y depositando esta en un tubo de 13 × 100 mm con 1 mL de solución salina estéril, agitándola y tomando 20 uL para la prueba del látex.

Después de dejar que la muestra repose para que sedimente, se decanta y se toma una gota del sedimento para realizar el examen directo (observación microscópica), y 100 uL para el cultivo en medio Diamond modificado.

PROCEDIMIENTO

Examen directo: se tomó una gota del sedimento en estudio y se colocó entre portaobjetos y cubreobjetos, observándose detenidamente al microscopio óptico con lente de 40× para determinar la forma y motilidad característica de este microorganismo.

Procedimiento para la prueba de látex

Se tomaron 20 uL de la muestra en estudio con una micropipeta, se colocó sobre una lámina plana que se observaba en fondo oscuro, mezclándose 20 uL del reactivo de látex conjugado e imprimiéndole un movimiento rotacional durante 3 min.

En los casos en que la infección es abundante la aglutinación se observa después de 1 min de rotación. Debe observarse bien que la aglutinación sea característica de los reactivos de látex y similar a la del control positivo, pues en ocasiones pueden producirse aglutinaciones inespecíficas.

Por este motivo se realizó al inicio de cada evaluación, una prueba de aglutinación utilizando el control positivo y otra con el control negativo.

Control positivo: suspensión de *Trichomonas vaginalis* inactivada con formalina a una concentración de 1×10^6 a 1×10^7 células/mL.

Control negativo: buffer glicina pH 7.

CULTIVO

Los cultivos se realizaron tomando con una micropipeta 100 uL del sedimento de la muestra a

evaluar y depositándolos en un tubo de 13 × 100 mm que contenía 3 mL del medio Diamond modificado. Los cultivos se incubaron durante 24-48 h a 37 °C y transcurrido ese tiempo, se decantó el sobrenadante tomándose una gota del sedimento obtenido y observándose al microscopio óptico con lente de 40 ×.

PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

La información recogida fue llevada a una hoja de cálculo en Excel 2003, con la que se conformaron las tablas de los principales resultados, que fueron posteriormente procesados con la opción *pruebas diagnósticas simples*, del menú *pruebas diagnósticas* del programa EPIDAT 3.0 (Programa para análisis epidemiológico para datos tabulados, versión 3.0. Xunta de Galicia, OPS versión 3.0 [Diciembre 2003]. Disponible en: <http://www.paho.org/Spanish/DD/AIS/shaprogs.htm>) desarrollado por la Junta de Galicia, España y la Organización Panamericana de la Salud, que calcula sensibilidad, especificidad, índice de validez, valores predictivos positivo y negativo, prevalencia, índice de Youden y razones de verosimilitud positiva y negativa, con sus respectivos intervalos de confianza de 95 %.

RESULTADOS

En las tablas 1 y 2 se muestran los resultados obtenidos mediante las 3 técnicas empleadas y se puede apreciar que utilizando la prueba del látex se detectaron muchos más casos positivos que a través del examen directo, tomando el cultivo como diagnóstico de certeza. La sensibilidad y especificidad del látex frente al cultivo fue de 97,7 y 97,4 %, respectivamente (tabla 3).

El método de examen directo fue menos sensible que la prueba rápida de látex, porque al compararla con el cultivo tuvo una sensibilidad de 40,2 % (tabla 3).

Los valores predictores positivo y negativo para el examen directo fueron de 89,7 y 74,6 % respectivamente, mientras que los valores predictores positivo y negativo para el látex fueron de 95,5 y 98,7 %, respectivamente.

El nuevo método de látex tuvo una eficiencia de 97,5 %, mientras que el examen directo alcanzó un valor de 77,1 % (tabla 3).

TABLA 1. Evaluación del método de examen directo en relación con el cultivo *in vitro*

	Cultivo	
	Positivo	Negativo
Examen directo Positiva	35	4
Negativa	51	150
Total	86	154

TABLA 2. Evaluación del método de látex en relación con el cultivo *in vitro*

Látex	Cultivo	
	Positivo	Negativo
Positivo	84	4
Negativo	2	150
Total	86	154

TABLA 3. Sensibilidad, especificidad, valores predictores y eficiencia del método de látex y del examen directo en relación con el cultivo *in vitro*

	Examen directo		Látex	
	Valor	IC 95 %	Valor	IC 95 %
Sensibilidad	40,7	30,4 - 51,8	97,7	91,1 - 99,6 *
Especificidad	97,4	93,1 - 99,1	97,4	93,1 - 99,2
VPP	89,7	74,8 - 96,7	95,5	88,1 - 98,5
VPN	74,6	67,9 - 80,4	98,7	94,8 - 99,8 *
Eficiencia	77,1	71,4 - 82,1	97,5	94,4 - 98,9 *

VPP: valor predictor positivo, VPN: valor predictor negativo, IC: intervalo de confianza, * $p > 0,05$

DISCUSIÓN

En este estudio se confirmó por cultivo la presencia de *Trichomonas vaginalis* en 35,8 % del total de muestras estudiadas.

Es importante aclarar, que este alto porcentaje de positividad se debe a que las muestras investigadas provenían de pacientes con algún síntoma característico de trichomoniasis vaginal.

Al comparar los resultados de este trabajo con otros estudios, se encontró que algunos autores sostienen que el examen directo es poco sensible.^{14,15} Para esta técnica se reportan en la literatura valores de sensibilidad de 30-80 %.¹⁶

Otros autores han realizado estudios para evaluar la sensibilidad y especificidad de reactivos de látex para la detección de *Trichomonas vaginalis*.

Carney y otros mencionan un método de aglutinación con partículas látex que se utilizó con

buenos resultados para el diagnóstico a partir de exudados previamente congelados. Esta prueba de látex resultó específica y no mostró reacciones cruzadas con otras infecciones del tracto genital.¹⁴

Otros investigadores señalan que este examen inmunoquímico resultó negativo en aquellos pacientes donde el cultivo del microorganismo también había sido negativo, lo que evidencia su alto nivel de sensibilidad y concordancia con respecto a la prueba de oro.¹⁷

Dymon y otros reportan en un estudio realizado, valores de sensibilidad y especificidad para la prueba de látex de 98,0 y 99,8 %, respectivamente. Estos autores señalaron que en los casos de trichomoniasis aguda los resultados obtenidos con la prueba de látex y los métodos convencionales fueron casi idénticos, mientras que en los casos crónicos y asintomáticos de la enfermedad, los resultados fueron superiores a los obtenidos mediante el empleo de las técnicas convencionales.¹⁸

Más recientemente, Adu-Sarkodie y otros reportan un método de aglutinación por látex con valores de sensibilidad de 98,8 % y valores de especificidad de 92,1 %.¹⁶

En este trabajo la prueba de látex tuvo una eficiencia de 97,5 %, siendo superior a la técnica convencional de examen directo utilizada en los laboratorios y centros asistenciales cubanos, lo que unida a su rapidez y a lo fácil de su ejecución puede ser realizada en las propias consultas de ginecologías de las policlínicas y los médicos de familia, y de esa forma contribuir a un diagnóstico rápido y certero de esta enfermedad.

Evaluation of an agglutination method with latex particles sensitised for the diagnosis of vaginal trichomoniasis

SUMMARY

A latex agglutination method for the detection of vaginal trichomoniasis, designed at the Parasitology Department of the National Center of Farming and Stockbreeding Health (CNSA, in Spanish), was evaluated. 240 samples of vaginal exudates from women that visited the Microbiology Department of "10 de Octubre" Maternal and Children's Hospital, were analysed. This method was compared to the conventional direct examination used in the laboratories, taking the culture in Diamond medium as an accurate diagnosis. The latex method proved to be more sensitive, efficient and with higher predicting values than the direct examination. The evaluation of this technique showed a sensitivity of 97.7 % and an efficiency of 97.5 %. The new latex technique provides the diagnosis in approximately 3 minutes and due to its simplicity it may be carried out by the paramedical personnel at the own gynecologist's office to establish the specific treatment on the same day.

Key words: *Trichomonas vaginalis*, diagnosis, latex agglutination

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Berdayes H. Patologías Femeninas y un nuevo Kid diagnóstico. El Habanero. Edición Digital La Habana, Cuba, 2000. Disponible en: <http://www.elhabanero.cubaweb.cu/>
- Garita García J. Tricomoniasis vaginal. El Nuevo Diario. Managua, Nicaragua, 1999.
- Hopwood V, Evans EGV, Carney JA. Rapid diagnosis of vaginal candidiasis by látex particle agglutination. J Clin Pathol 1985;38:455-8 .
- Cabronero MC, Campos E, Picaso JJ, Romero J. Evaluación de métodos de aglutinación con partículas látex para la aglutinación de candidiasis vaginal. Med Clin 1990;94:329-32.
- Patel SR, Wiese W, Patel SC. Systematic review of diagnostic tests for vaginal trichomoniasis. Infect Dis Obstet Gynecol 2000;8:248-57.
- Blanco Toloza J, Carreto E, Introini S, Toscanini C, Ghierra R, Viola M. Prevalencia de la infección genital baja, en mujeres de una población de consulta hospitalaria. Arch Ginecol Obstet 1996;34 (1):83-90.
- Guijón. F. Vaginal microbial flora as a cofactor in the pathogenesis of uterine cervical intraepithelial neoplasia. International J Gynecol Obstet 1992;3(3):185-91.
- Diamond LS. The establishment of various *Trichomonas* of animals and man in axenic cultures. J Parasitol 1957;43:488-90.
- Issler JR. Infecciones del tracto genital inferior. Rev Postgrado Cátedra Via Medicina 2001;102:21-38.
- Greco B. Serodiagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection and indirect fluorescent antibody tests: a short technical note. Rev Inmunol Inmunofarmacol 1991;11(3):123-4.
- Wendel KA, Erbeling EJ, Gaydos CA. *Trichomonas vaginalis* polymerase chain reaction compared to standard diagnostic and therapeutic tools for detection and treatment of vaginal trichomoniasis. Clin Infect Dis 2002;35:576-80.
- Levett PN. Bacterial vaginosis. West Indian Med 1989;38(3):126-32.
- El Ganayni G. A preliminary study on vaginal trichomonal antigens using CIEP and modified Elisa. J Egyptian Society Parasitology 1992;122(1):145-51 .
- Carney JA, Unadkat P, Yule A, Rajakumar R, Lancey CJN, Parker J. New rapid látex agglutination test for diagnosing *Trichomonas vaginalis*. Infection J Clin Pathol 1988;43:806-8.
- Lossick JG, Kent HL. Trichomoniasis: trends in diagnosis and management. Am J Obstet Gynecol. 1991;165 (4 Pt 2):1217-22.
- Adu-Sarkodie Y, Opoku BK, Danso KA, Weiss HA, Mabey D. Comparison of latex agglutination, wet preparation, and culture for the detection of *Trichomonas vaginalis*. Sex Transm Infect 2004;80(3):201-3.
- Gombôsoba A, Valent M, Klobusicky M. Super duo látex fixation test: an alternative diagnostic method for trichomoniasis. Bratisl Lek Listy 1992;93(10):538-40.
- Dymon M, Zemburoma T, Balda R, Potec Z. Comparison of látex agglutination test with conventional methods for diagnosis of trichomoniasis. Wiad Parazitol 1994;40(2):141-2.

Recibido: 4 de febrero de 2004. Aprobado: 4 de marzo de 2005.
Lic. Ana María López Abraham. Hospital Docente Materno Infantil "10 de Octubre". Nuestra Señora de Regla # 52 esquina a Remedios, Luyanó. Teléf: 557168. Correo electrónico: anala@infomed.sld.cu; hijasgal@infomed.sld.cu