

ORIGINALES

¿Es útil la tinción de Papanicolaou como auxiliar del diagnóstico de algunas infecciones de transmisión sexual?

A. González Pedraza Avilés^a, C. Ortiz Zaragoza^a, L. Topete Barrera^b, R. Mota Vázquez^b
y R. Ponce Rosas^a

Centro de Salud Dr. José Castro Villagrana. Tlalpan. México.

Objetivo. Validar si la tinción de Papanicolaou es útil para el diagnóstico de tres de las patologías mayormente asociadas a infecciones de transmisión sexual (ITS): vaginosis bacteriana (VB), candidiasis y tricomoniasis.

Diseño. Estudio prospectivo, descriptivo y transversal.

Emplazamiento. El estudio se realizó en la Unidad de Atención Primaria Dr. José Castro Villagrana, Tlalpan, México, DF, entre enero de 1997 y febrero de 2000.

Participantes. A 271 pacientes de 16-66 años (media, 32,2) con diagnóstico de cervicovaginitis se les realizó toma de muestra cervical para tinción de Papanicolaou (Pap) y toma de muestra vaginal para pruebas de laboratorio de rutina.

Mediciones y resultados principales. La prevalencia de VB diagnosticada por criterios de Amsel fue de 33,9%, de candidiasis por cultivo de 17,3% y de tricomoniasis por fresco del 1,8%.

Para VB utilizando el sistema Bethesda para interpretar el Pap se obtuvo 66% de sensibilidad y 86% de especificidad y valores predictivos positivo y negativo (VPP y VPN) del 79% y 84%, respectivamente.

Para candidiasis se obtuvo 21% de sensibilidad, 99% de especificidad, VPP y VPN de 90% y 85%, respectivamente.

Conclusiones. El Pap tiene baja sensibilidad y elevada especificidad para detectar ITS, por lo tanto parece más adecuado para excluir que para diagnosticar dichas infecciones.

Tanto los métodos de laboratorio, como los criterios para diagnosticar ITS no son uniformes, por lo que el Pap no debe usarse en lugar de una prueba diagnóstica más efectiva y el tratamiento no debe basarse en los hallazgos citológicos.

Palabras clave: Tinción de Papanicolaou. Diagnóstico. Vaginosis bacteriana. Tricomoniasis. Candidiasis. Transmisión sexual.

IS THE PAPANICOLAOU SMEAR USEFUL FOR DIAGNOSING SOME SEXUALLY TRANSMITTED INFECTIONS?

Objective. We undertook this study to assess the validity of cytologic diagnosis of sexually transmitted infections like: bacterial vaginosis (BV), trichomoniasis and candidiasis using the Papanicolaou (Pap) smear.

Design. Prospective, descriptive transverse study.

Setting. The present study was carried out in the Health Center Dr. José Castro Villagrana in Tlalpan, México, D.F. from January 1997, to February 2000.

Participants. Routine Pap smears and vaginal secretion smears were collected from two hundred and seventy one patients ranged from age 16–66 years, with cervicovaginitis diagnosis.

Measurements and main results. Of the 271 patients, 92 (33.9%) had bacterial vaginosis diagnosed by Amsel criteria, 47 (17.3%) had candidiasis by culture and 5 (1.8%) had trichomoniasis by wet smear.

The Bethesda system for diagnosing BV on Pap smear had 66% sensitivity and a specificity of 86%. The respective positive predictive and negative predictive value were 79% and 84%. Therefore, compared to the *Candida* culture, cervical cytologic test results had a sensitivity of 21% and specificity of 99%. The predictive positive predictive and negative predictive values were 90% and 85%.

Conclusions. Specificity tended to be higher than sensitivity, in other words cytology tended to be more efficient in identifying women without sexually transmitted infection than in identifying those with infection. In summary, the Pap smear should not be used in lieu of more effective diagnostic test for sexually transmitted disease, and treatment should not be based on cytologic findings alone.

Key words: Papanicolaou smear. Diagnosing. Bacterial vaginosis. Trichomoniasis. Candidiasis. Sexual transmitted infections.

(Aten Primaria 2001; 27: 222-226)

^aLaboratorio de Bacteriología del Centro de Salud Dr. José Castro Villagrana SSA. Departamento de Medicina Familiar. Facultad de Medicina. UNAM.

^bLaboratorio de Citología Diagnóstica. Jurisdicción Sanitaria VIII Sur. Tlalpan. México, DF.

Correspondencia: Biólogo Alberto González Pedraza Avilés.
Centro de Salud Dr. José Castro Villagrana. Carrasco y Coapa, s/n. Col. Toriello Guerra.
14050 Tlalpan. México DF.

Manuscrito aceptado para su publicación el 22-XI-2000.

Introducción

El diagnóstico citológico fue desarrollado durante la década de los cuarenta por el Dr. George Papanicolaou¹, y desde entonces ha sido ampliamente aceptado para reconocer el cáncer inicial, además de ser útil para mejorar nuestra comprensión del problema que involucra la respuesta del huésped a neoplasias y a radiaciones. Aunque la citología cervical se introdujo para lo anterior, últimamente se ha suscitado un creciente interés en su uso como auxiliar en el diagnóstico de algunas infecciones cervicovaginales asociadas a patógenos de transmisión sexual. Debido a que el espectro de estas patologías se ha extendido tanto en la diversidad de los microorganismos como en su frecuencia, el hecho de contar con una técnica de laboratorio sencilla, barata y altamente reproducible como la citología cervical como apoyo al diagnóstico parece ser una importante alternativa.

Gracias a las campañas existentes, en las clínicas de primer nivel de atención médica el número de mujeres sexualmente activas que acuden periódicamente a su examen de Papanicolaou (Pap) es altamente significativo, por lo que practicar la citología también con estos fines nos podría permitir detectar un elevado número de infecciones de transmisión sexual, sobre todo en pacientes portado-

ras o en procesos como la vaginosis bacteriana (VB), donde casi la mitad de las pacientes no manifiestan síntomas significativos². A pesar de algunos informes de la bibliografía^{3,4} existen fuertes controversias en el uso de la citada técnica para estos propósitos. Debido a esto y al enorme potencial que puede significar su uso en miles de mujeres, nuestro objetivo fue validar si este examen es útil en la detección de tres de las patologías mayormente asociadas a infección de transmisión sexual, como son VB, candidiasis y tricomoniasis⁵.

Material y métodos

Tipo de estudio

El estudio fue prospectivo, transversal y descriptivo.

Población

El estudio se realizó en la Unidad de Atención Primaria Dr. José Castro Villagrana, en Tlalpan, México, D.F., entre enero de 1997 y febrero de 2000. Se incluyeron 271 mujeres de 16-66 años con diagnóstico de cervicovaginitis realizado por el médico de familia con los siguientes criterios:

De inclusión. Mayores de 16 años, con vida sexual activa y presencia de flujo transvaginal y que aceptaran participar en el estudio.

De exclusión. Presencia de hemorragia transvaginal de cualquier etiología y/o tratamiento con algún antibiótico en los últimos 15 días previos al estudio.

De eliminación. Que no se haya realizado alguna de las pruebas de laboratorio requeridas para el estudio, o aquellas pacientes que hubiesen presentado infección vaginal mixta.

Método

A todas las pacientes se les realizó un cuestionario confidencial para determinar la edad, menarquia, inicio de vida sexual activa, número de embarazos y de abortos y método de planificación familiar.

Para la toma de muestras se utilizó un espejo vaginal estéril sin lubricante y se tomaron muestras de secreción de endocervix y flujo transvaginal. La primera

TABLA 1. Características ginecoobstétricas de las pacientes (n = 271)

	Media	DT	Rango	IC del 95%
Edad	32,2	11,8	16-66	30,9-33,5
Menarquia	12,9	1,8	9-15	12,7-13,9
IVSA	18,9	3,5	13-27	18,3-19,4
Embarazos	2,6	1,6	1-5	
Abortos	0,46	0,6	0-2	

DT: desviación estándar; IC: intervalo de confianza, e IVSA: inicio de vida sexual activa.

para tinción de Pap y la segunda para la realización de técnicas de rutina de laboratorio.

Todas las muestras de flujo transvaginal tomadas con hisopo se colocaron en solución salina al 0,85%, para a partir de ahí realizar un examen en fresco en busca de células clave, levaduras, pseudomicelios, *Trichomonas vaginalis* y leucocitos. La muestra fue leída por una química bacterióloga y parasitóloga (COZ). También se determinó el pH de la secreción y la prueba de aminas agregando KOH al 10% a la misma secreción⁶, además de sembrar en el medio de Sabouraud.

La muestra de endocervix fue tomada con una espátula de Ayre, colocada en un portaobjetos, fijada con alcohol metílico, secada al aire y finalmente teñida por coloración de Pap para ser leída por un citopatólogo (LTB). Ninguno de los investigadores conocía el resultado de las otras pruebas.

El diagnóstico de VB se estableció basándose en los criterios de Amsel et al⁶, quienes refieren que al menos tres de los siguientes signos deben de estar presentes: a) flujo vaginal homogéneo; b) pH del flujo vaginal mayor de 4,7; c) prueba de KOH al 10% o de liberación de aminas positiva, y d) presencia de células clave al examen en fresco, observando al microscopio óptico a $\times 40$.

El diagnóstico de candidiasis se realizó por cultivo en Agar Dextrosa de Sabouraud (Bioxon cat. 107-1), incubándose las placas a 37 °C durante 48 horas. La identificación se efectuó mediante tinción de Gram, formación de tubo germinativo en plasma humano y fermentación de hidratos de carbono⁷.

El diagnóstico de tricomonas se realizó al observar en fresco el trofozoito característico. Con respecto a esto, los autores aceptamos que, aunque no se reconoce esta técnica como patrón de oro para el diagnóstico, sí es la técnica más usada en las clínicas de primer nivel de atención médica, por lo que se consideró importante hacer su valoración.

La citología exfoliativa fue considerada como positiva para *Candida* cuando se observaron levaduras y/o hifas. Para *Trichomonas* cuando se observaron células con imagen sugestiva del trofozoito. Para VB, basándose en la bibliografía, se tomaron en cuenta dos criterios por separado para considerarla positiva: la presencia de células clave^{4,8} y al detectarse diversos morfotipos bacterianos, según el sistema Bethesda^{9,10}. El diagnóstico de inflamación se definió como positivo cuando al menos un 50% de las células epiteliales en la tinción de Pap estaban cubiertas por leucocitos (principalmente neutrófilos)¹¹.

Análisis estadístico

Se determinó la sensibilidad y especificidad por medio de tablas de 2×2 y valores predictivos positivos y negativos. Para las pruebas estadísticas se calculó la χ^2 y la prueba exacta de Fisher. El análisis estadístico se realizó mediante un ordenador a través del programa estadístico STATGRAPHICS Versión 5.0.

Resultados

Las características ginecológicas de las 271 pacientes se muestran en la tabla 1, el rango de edad fue de 16-66 años, con una media de 32,2 y una desviación estándar de 11,8; la distribución por grupos de edad se muestra en la tabla 2. El tipo de método de planificación familiar utilizado puede observarse en la tabla 3. La prevalencia de VB diagnosticada por criterios de Amsel fue del 33,9%, de candidiasis por cultivo del 17,3% y de tricomoniasis por fresco del 1,8%. La prevalencia de estas 3 infecciones representa más de un 50% del total de los casos, pero no se incluyen otro tipo de infecciones (*Myc-*

TABLA 2. Distribución por grupos de edad de la población de estudio

Intervalo de edad	Número	Porcentaje
16-25 años	89	32,8
26-35 años	88	32,5
36-45 años	51	18,8
46-55 años	34	12,5
56 o más años	9	3,4
Total	271	100

TABLA 3. Métodos de planificación familiar utilizados por las pacientes (n = 271)

	Número	Porcentaje
DIU	48	17,7
Salpingoclasia	58	21,4
Hormonales ^a	19	7
Otros ^b	20	7,4
Ninguno	126	46,5
Totales	271	100

^aDiez pacientes utilizaron dispositivo hormonal de tipo oral y 9 de tipo inyectable. Es un método poco utilizado por sus efectos colaterales como melasma (manchas en la cara) y aumento de peso.

^bDiecisiete utilizaron preservativo, 2 ritmo y una espermicidas.
DIU: dispositivo intrauterino.

plasma, Neisseria, etc.) por no ser parte del objetivo de estudio. Los resultados de comparar las técnicas de laboratorio con la tinción de Pap se muestran en la tabla 4. De las 92 pacientes con VB diagnosticadas según Amsel, 61 (sensibilidad de 66%) fueron positivas por Pap utilizando la observación de morfotipos bacterianos, mientras que sólo 28 (sensibilidad de 30%) fueron positivas observando células clave. En contrapartida, con la primera técnica obtuvimos 16 falsos positivos (especificidad, 86%), mientras que con la segunda sólo hubo 3 (especificidad, 98%).

De las 47 pacientes con candidiasis vaginal diagnosticada por cultivo, el Pap sólo determinó 10 positivas (sensibilidad, 21%), pero únicamente una falsa positiva (especificidad, 99,5%).

Al asociar la inflamación diagnosticada por Pap con la presencia de algún microorganismo identificado por técnicas de laboratorio, en 122 (45%) se presentó inflamación; sin embargo, en 52 de éstas (42,6%) no se aisló ningún microorganismo (tabla 5). Tampoco se hallaron diferencias estadísticas entre pacientes con y sin inflamación y la presencia de algún mi-

croorganismo diagnosticado por laboratorio (p = 0,27 para VB; p = 0,25 para candidiasis, y p = 0,32 para tricomoniasis). Al intentar asociar el mismo proceso inflamatorio con la presencia de los microorganismos pero diagnosticados por el Pap, tampoco detectamos diferencias estadísticas significativas (p = 0,25 para VB; p = 1,0 para candidiasis, y p = 1,0 para tricomoniasis).

Discusión

En la actualidad existen diversas pruebas de laboratorio para establecer un diagnóstico efectivo de las infecciones de transmisión sexual (ITS); sin embargo, la posibilidad de utilizar la tinción de Pap como método de tamiz para facilitar dicho diagnóstico parece altamente atractiva debido a que es una prueba de rutina fácil y que no requiere material adicional, además de contar con una mayor cobertura debido a que se realiza también en pacientes sin una ITS aparente (portadoras asintomáticas).

Respecto a la vaginosis bacteriana, la bibliografía señala variantes tanto por el lugar de la toma como para la interpretación para definir VB en la tinción de Pap. Autores como Davis et al¹⁰ y Prey et al¹² definen que la toma para ambas pruebas (laboratorio y Pap) deben realizarse de cérvix para no modificar la técnica de Pap, a pesar de que tanto la VB como la tricomoniasis y la candidiasis son infecciones vaginales y que esto puede alterar los resultados. Además, estos y otros auto-

TABLA 4. Eficacia de la tinción de Papanicolaou para detectar infecciones de transmisión sexual

	Prevalencia (%)	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP (%)	VPN (%)	Exactitud (%)
Candidiasis	17,34	21	99	90	85	85,90
V. bacteriana ^a	33,90	66	86	79	84	82,60
V. bacteriana ^b	33,90	30	98	90	73	75,20
Tricomoniasis	1,84	100	86	12	100	87

^aV. bacteriana: vaginosis bacteriana, flora cocobacilar (sistema Bethesda).

^bV. bacteriana: vaginosis bacteriana, presencia de células clave.

VPP: valor predictivo positivo, y VPN: valor predictivo negativo.

TABLA 5. Asociación entre inflamación y la presencia de microorganismos

Patógeno	Diagnosticados por laboratorio			Patógeno	Diagnosticados por Pap		
	Inflamación presente (n = 122)	Inflamación ausente (n = 149)	Probabilidad		Inflamación presente (n = 122)	Inflamación ausente (n = 149)	Probabilidad
V. bacteriana ^c	40 (32,7%)	52 (34,8%)	p = 0,27 ^a	V. bacteriana ^c	40 (32,7%)	37 (24,8%)	p = 0,15 ^a
Candidiasis	29 (23,7%)	18 (12,1%)	p = 0,25 ^a	Candisiasis	5 (4,1%)	6 (4,0%)	p = 1,0 ^b
Tricomoniasis	1 (0,8%)	4 (2,7%)	p = 0,32 ^b	Tricomoniasis	17 (13,9%)	23 (15,4%)	p = 1,0 ^a
Ninguno	52 (42,6%)	75 (50,3%)	p = 0,86 ^a	Ninguno	60 (49,2%)	83 (55,7%)	p = 0,26 ^a

^a χ^2 . ^bPrueba exacta de Fisher. ^cVaginosis bacteriana.

res consideran que el diagnóstico citológico de VB se debe establecer en función del informe de Bethesda⁹ y no de células clave únicamente.

En este trabajo la prevalencia de VB fue del 33,9%, similar a lo establecido por Narcio et al¹³, quienes señalan un 49%; Platz-Christensen et al⁴, 31,7%, y Davis et al¹⁰, un 38,1%. Al establecer el diagnóstico de VB por el sistema Bethesda y la toma de cérvix obtuvimos una sensibilidad del 66% y una especificidad del 86%, con un valor predictivo positivo (VPP) de 79%. Con la misma interpretación y lugar de toma de muestra, Davis et al¹⁰ obtuvieron 55% de sensibilidad y 98% de especificidad, con un VPP de 96%; Narcio et al¹³ lograron un 49% de sensibilidad y 100% de especificidad, con VPP del 73%, y Lamont et al¹⁴ consiguieron un 80% de sensibilidad y 90% de especificidad, con VPP de 66%. Sin embargo, Davis y Lamont no utilizaron los criterios de Amsel como criterio diagnóstico, sino la tinción de Gram, cuya efectividad ha sido probada por diversos autores^{15,16}.

Otros autores, caso de Platz-Christensen⁴ y Rokita et al⁸, obtuvieron una sensibilidad superior al 90% y una especificidad del 97%, pero el diagnóstico de VB por Pap se basó en la presencia de células clave únicamente y no especifican el lugar de la toma, pudiendo ser ésta vaginal, lo que explicaría las diferencias en sensibilidad, sin dejar de considerar que al realizar la toma vaginal se

altera el procedimiento de rutina de la tinción de Pap, y esto no es lo deseado. Sin embargo, utilizando esta interpretación en este trabajo obtuvimos un 30% de sensibilidad y el 98% de especificidad, por lo que coincidimos con autores como Prey et al¹² y Davis et al¹⁰ en que el sistema Bethesda es preferible a las células clave por ser un diagnóstico más riguroso.

Respecto a Candida, la prevalencia fue del 17,3%, frente a un 15% de Smith et al¹⁷ y el 44% de McLennan et al¹⁸; las diferencias con este autor parecen ser debidas al método diagnóstico y la población de estudio. La sensibilidad fue del 21% y la especificidad del 99,5%, resultados que concuerdan con los mismos autores, quienes señalan baja sensibilidad (49% de Smith y 3% de McLennan) y alta especificidad (100% y 98%, respectivamente), aunque ninguno especifica los criterios citológicos para el diagnóstico.

Para Trichomonas la prevalencia fue del 1,8%, frente al 17% de Chintana et al¹⁹ y el 48% de Spence et al²⁰; al igual que el anterior, las diferencias parecen deberse al tipo de población estudiada. La sensibilidad fue del 100% y la especificidad del 86%; sin embargo, el VPP fue sólo del 12%. Los autores citados¹⁷⁻²⁰ indican una sensibilidad del 33-79% y una especificidad del 90-100%. Ninguno expone los métodos de diagnóstico.

Al asociar la presencia de un proceso inflamatorio diagnosticado por Pap con la presencia de algún

microorganismo, Bertolino et al¹¹ obtuvieron una prevalencia del 25% de mujeres con inflamación, pero no hallaron diferencias significativas en la prevalencia de Candida y VB entre mujeres con y sin inflamación, además de no identificar algún microorganismo en un 71,4% de las mujeres con inflamación y en el 82% en mujeres sin inflamación. En este trabajo obtuvimos un 45% de mujeres con inflamación y tampoco detectamos diferencias estadísticas en la prevalencia de Candida, VB y Trichomonas diagnosticadas por laboratorio en los 2 grupos, además de no identificar algún microorganismo en un 42,6% de pacientes con inflamación.

En conclusión, una prueba nueva para detectar una infección debe tener una elevada sensibilidad; sin embargo, independientemente de las variables analizadas, el diagnóstico por Pap según la mayoría de los autores tiene una baja sensibilidad para detectar ITS y una alta especificidad; por lo tanto, el Pap parece más adecuado para excluir ITS que para diagnosticarlas. Tanto los métodos de laboratorio como los criterios para diagnosticar ITS no son uniformes, por lo que el Pap no debe usarse en lugar de una prueba diagnóstica más efectiva para ITS, y el tratamiento no debe basarse en los hallazgos citológicos. Los criterios de Amsel son más sensitivos y el Pap más específico para el diagnóstico de VB, tanto por células clave (p = 0,0001) como por el sistema Bethesda (p =

0,00001). Esta conclusión no pudo ser determinada para *Candida* ni *Trichomonas* debido al bajo número de falsos positivos en el primer caso y de falsos negativos en el segundo. El hecho de determinar un proceso inflamatorio por Pap no predice la presencia ni de VB, ni de tricomoniasis, ni candidiasis.

Agradecimientos

A la Dra. Silvia Landgrave por su apoyo bibliográfico y a la C. Ofelia Pedreguera por la realización del manuscrito.

Bibliografía

1. Papanicolaou GN, Traut HF. Diagnosis of uterine cancer by the vaginal smear. Nueva York: Commonwealth Fund, 1943; 24.
2. Bedrossian UK, Fairfax MR, Ayers M. Pap smear follow-up of possible role of mucopurulent exudate as a prognosticator of a negative pregnancy outcome. *Diagn Cytopathol* 1999; 21: 4-6.
3. Roongpyisthipong A, Grimes DA, Hadgu A. Is the Papanicolaou smear useful for diagnosing sexually transmitted disease? *Obstet Gynecol* 1987; 69: 820-824.
4. Platz-Christensen JJ, Larsson PG, Sundström E, Bondeson L. Detection of bacterial vaginosis in Papanicolaou smears. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 160: 132-133.
5. González Pedraza AA, Ortiz ZC, Inzunza MA, Ponce RR. Candidiasis vaginal: diagnóstico y tratamiento en el primer nivel de atención médica. *Aten Primaria* 1998; 21: 395-398.
6. Amsel R, Totten PA, Spiegel CA, Chen CS, Eschenbach D, Holmes KK. Nonspecific vaginitis. *Am J Med* 1983; 74: 12-22.
7. Koneman E, Allen S, Dowell V, Janda W, Sommers H. *Diagnostico microbiológico*. México: Ed. Médica Panamericana 1997.
8. Rokita W, Malarewicz A. Estimation of cytological smears in women with *Gardnerella vaginalis* infections of vagina and uterine cervix. *Polska Ginekol* 1997; 68: 483-486.
9. Current Issues. The 1991 Bethesda system for reporting cervical/vaginal cytological diagnosis. *Diagnostic Cytopathol* 1993; 9: 235-243.
10. Davis JD, Connor EE, Clark P, Wilkinson EJ, Duff P. Correlation between cervical cytologic results and Gram stain as diagnostic test for bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 177: 532-535.
11. Bertolino JG, Rangel JE, Blake RL, Silverstein D, Ingram E. Inflammation on the cervical Papanicolaou smear: the predictive value for infection in asymptomatic women. *Fam Med* 1992; 24: 447-452.
12. Prey M. Routine Pap smear for the diagnosis of bacterial vaginosis. *Dign Cytopathol* 1999; 21: 10-13.
13. Narcio LE, Casanova RG, Galindo SJ, Castelazo ME, Beltran ZM. Utilidad del frotis de Papanicolaou en el diagnóstico de vaginosis bacteriana. *Ginec Obst Méx* 1994; 62: 52-56.
14. Lamont RF, Hudson EA, Hay PE, Morgan J, Modi V, Ison CA et al. A comparison of the use of Papanicolaou-stained cervical cytological smears with Gram-stained vaginal smears for the diagnosis of bacterial vaginosis in early pregnancy. *Int J STD AIDS* 1999; 10: 93-97.
15. González Pedraza AA, Inzunza MA, Ortiz ZC, Ponce RR, Irigoyen CA. Comparación de dos métodos de laboratorio clínico en el diagnóstico de la vaginosis bacteriana. *Aten Primaria* 1997; 19: 357-360.
16. Iglesias EA, Alderman E, Fox AS. Use of wet smears to screen for sexually transmitted diseases. *Infect Med* 2000; 17: 175-185.
17. Smith RF, Rodgers HA, Hines PA, Ray RM. Comparisons between direct microscopic and cultural methods for recognition of *Corynebacterium vaginale* in women with vaginitis. *J Clin Microbiol* 1977; 5: 268-272.
18. McLennan MT, Smith JM, McLennan CE. Diagnosis of vaginal mycosis and trichomoniasis: reliability of cytologic smear, wet smear and culture. *Obstet Gynecol* 1972; 40: 231-233.
19. Chintana T, Sucharti P, Chongsuphaisiddhi T, Tongsprasoeth N, Suphadtanaphongs W. A study on the diagnostic methods for *Trichomonas vaginalis* infection. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1979; 10: 81-84.
20. Spence MR, Hollander DH, Smith J, McCaig L, Seweel D, Brockman M. The clinical and laboratory diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection. *Sex Transm Dis* 1980; 7: 168-171.