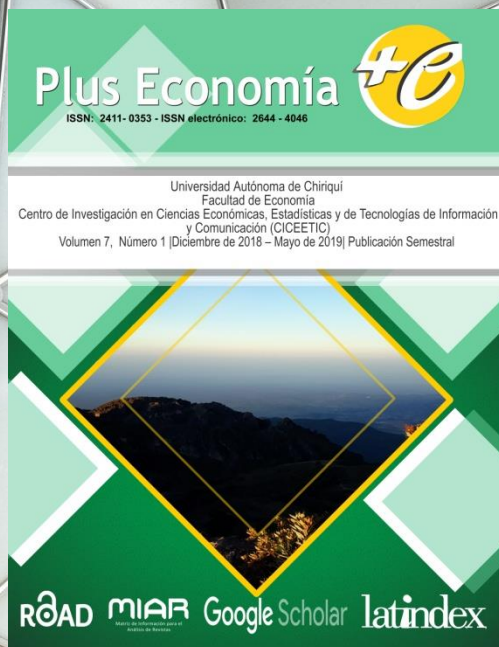




- › Revista Plus Economía
- › ISSN: 2411-0353
- › ISSN electrónico: 2644-4046
- › pluseconomia@unachi.ac.pa
- › Centro de Investigación en Ciencias Económicas, Estadísticas y de Tecnologías de Información y Comunicación, CICEETIC
- › Universidad Autónoma de Chiriquí (UNACHI)
- › República de Panamá



González, Z. et al

Aislamiento y cultivo de *Trichomonas Vaginalis*

Vol. 7, Núm. 1, Diciembre 2018 – Mayo 2019

pp. 65-71

**Centro Especializado en Investigaciones de
Parasitología y Microbiología (CEIPAMI),
Universidad Autónoma de Chiriquí, Panamá.**

+ | AISLAMIENTO Y CULTIVO DE *TRICHOMONAS VAGINALIS*

Zuriany González⁽¹⁾, Raquel Montezuma⁽²⁾ y M.Sc. Mariana V. Tasón de Camargo⁽³⁾ | Centro Especializado en Investigaciones de Parasitología y Microbiología (CEIPAMI), Universidad Autónoma de Chiriquí | E-mail: zuriani0403@hotmail.com⁽¹⁾, raquelmc0286@hotmail.com⁽²⁾, maricanta@yahoo.com⁽³⁾

Recibido: Abril de 2019

Aceptado: Mayo de 2019

RESUMEN

Trichomonas vaginalis es un protozoo flagelado, que pertenece a la familia *Trichomonadidae*, se desarrolla adecuadamente en las condiciones microaeróbicas de la vagina prevaleciendo en mujeres sexualmente activas. El aislamiento y cultivo de *T.vaginalis*, se efectuó a partir de una muestra de orina clínica positiva, utilizando la técnica de frotis directo del sedimento urinario y la técnica de cultivo en medio Pavlova modificado. En el laboratorio se comprobó que *T.vaginalis* puede crecer en el medio de cultivo Pavlova modificado a pH 7,4 pero que, además, los cultivos con pH 6,0, resultaron también efectivos para el crecimiento de *T. vaginalis*. El aislamiento y cultivo de *T. vaginalis* en medio de cultivo Pavlova, a pH 7,4 y 6,0, mostraron alta sensibilidad, por lo que podían ser utilizados como una técnica segura y eficaz de diagnóstico, observación y estudio de las características del parásito.

Palabras claves: *Trichomonas*, protozoo, microaeróbico.

ABSTRACT

Trichomonas vaginalis, a flagellated protozoan, which belongs to the *Trichomonadidae* family, develops adequately under the microaerobic conditions of the vagina, prevailing in sexually active women. The isolation and culture of *T. vaginalis* was carried out from a positive clinical urine sample, using direct smear techniques and culture in modified



Pavlova medium. In the laboratory it was proved that *T. vaginalis* can grow in the modified Pavlova culture medium at pH 7,4 but also that the cultures with pH 6,0 were also effective for the growth of *T.vaginalis*. The isolation and culture of *T. vaginalis* in Pavlova culture medium, at pH 7,4 and 6,0, showed high sensitivity, so they could be used as a safe and effective technique for diagnosis, observation and study of the characteristics of the parasite.

Key Words: *Trichomonas*, protozoan, microaerobic.

INTRODUCCIÓN

La *Trichomona vaginalis* es un protozoo flagelado, que pertenece a la familia *Trichomonadidae* y al género *Trichomonas*. Existe sólo en la fase de trofozoito y mide de 10 a 30 micras de largo por 7 micras de ancho (Carrada, 2006), desarrollándose adecuadamente en las condiciones microaeróbicas de la vagina. El período de incubación oscila entre 5 y 30 días (Cadena *et al.*, 2006). La incidencia o presencia de síntomas, como consecuencia de la infección por este parásito es más frecuente en el sexo femenino que en el masculino, siendo por lo general este último asintomático pero portador de la infección (Hurtado & Olvera, 2012).

En las mujeres de edad fértil (entre 15 y 50 años de edad) se ha demostrado

que alrededor del 25 al 50% de los padecimientos son asintomáticos cuando el pH vaginal oscila entre 3,8 y 4,2 con microbiota vaginal normal, por lo que se plantea que causa síntomas más severos cuando el pH vaginal es más alcalino (Cadena *et al.*, 2006).

Sin embargo, la prevalencia de dicho parásito en la población general se desconoce debido a que la enfermedad no es notificada y a menudo se le considera de poca significancia por su bajo índice de letalidad. (Cadena *et al.*, 2006; Núñez *et al.*, 1997; Salas *et al.*, 2009).

El diagnóstico de trichomoniasis se realiza mediante diversas técnicas, siendo a nivel mundial la técnica de frotis en fresco del flujo vaginal o del sedimento de orina, las más utilizadas por ser rápidas y económicas, pero

además se destacan las técnicas de cultivos como el Diamond de uso comercial el cuál es considerado el “estándar de oro” para la observación de *T. vaginalis*. Existen además otras técnicas como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), técnica molecular (Rodríguez & Castellanos, 2002), las cuales resultan ser laboriosas y costosas en su implementación. En esta investigación se utilizó el medio de cultivo Pavlova para protozoarios entéricos, el cual fue modificado para cultivar *Trichomonas*.

Es pues el objetivo de nuestra investigación el de aislar y cultivar *Trichomonas vaginalis* de una muestra de orina positiva, mediante la técnica de cultivo Pavlova modificado, para el diagnóstico de trichomoniasis porque su interpretación es simple, eficaz y más sensible que las preparaciones en frotis fresco (Azzam *et al.*, 2002).

METODOLOGÍA

Se procedió a preparar el medio de cultivo utilizando la técnica de Pavlova modificada (González, Z. K., & Montezuma, R. 2015). En un vaso

químico se añadieron los siguientes reactivos: 1,79 g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$; 0,23 g de KH_2PO_4 ; 4,0 g de NaCl ; 0,8g extracto de levadura; 0,55 g de infusión de hígado; 0,275 g de glucosa, y todo se disolvió en 550 mL de H_2O . Luego se ajustó el pH del medio a 7,4. El medio de cultivo se distribuyó entonces en un erlenmeyer de 250 mL, y se esterilizó a 120°C durante 30 min. Posteriormente, en la cámara de flujo laminar se añadió 5% de suero equino previamente inactivado a 56°C por 30 minutos, al medio de cultivo mantenido a 37°C . Seguidamente se le adicionó los antibióticos (0,1 mL de Penicilina de 20 000 U y 0,2 mL de Amikacina de 50 mg) y 15 mg del antimicótico Fluconazol de 150 mg, para evitar el crecimiento de otros microorganismos que puedan afectar el crecimiento de las *Trichomonas*. Finalmente el medio de cultivo fue distribuido en tubos de ensayo estériles, a razón de 5 mL por tubo con la ayuda de una pipeta volumétrica estéril.

A partir de una muestra clínica positiva de *Trichomonas vaginalis*, se procedió a aplicar los métodos propuestos para la estandarización en el análisis del



sedimento urinario, según el manual "Laboratorio Clínico 2: Estudio de los elementos formes de la orina- Estandarización del sedimento urinario." (Jimenez & Ruíz, 2010; Gómez & Pellegrini, 2013). Se realizó un examen microscópico directo del sedimento urinario positivo (prueba considerada de rutina en laboratorios clínicos).

La muestra de orina fue homogenizada y se añadió 10 mL de ésta en un tubo de ensayo cónico estéril, la cual se centrifugó a 1500 rpm en un tiempo máximo de 10 minutos. Luego se decantó el sobrenadante, se resuspendió el sedimento urinario mediante agitación manual y se extrajo el mismo utilizando una pipeta Pasteur estéril. A continuación, se hizo un frotis húmedo del sedimento urinario para ser observado en el microscopio compuesto con objetivo de 10x y 40x. Finalmente se procedió a agregar 4 gotas de sedimento de la muestra de *Trichomonas vaginalis* a seis medios de cultivo (preinóculos), y estos fueron incubados 72 horas a una temperatura de 37°C. Transcurrido este tiempo se

realizó ensayos por triplicado a 0h, 24h, 48h, 72h, 96h y 144h a pH 7,4. Se hicieron frotis húmedos y tinciones con Giemsa de cada uno de los medios de cultivo inoculados con *Trichomonas vaginalis* (González & Montezuma, 2015).

RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN

En la tabla 1, el cultivo se mantuvo a un pH de 7,4 y se observó que hubo mayor promedio de crecimiento de *Trichomonas* 15, 16 y 37 en los tiempos de incubación de 48, 72 y 96 horas, respectivamente. En el tiempo 0 no se observaron *Trichomonas*, debido a que fue el tiempo en que se inoculó el medio de cultivo, a las 24 horas solo se observó un promedio de 2 *Trichomonas*, debido a que posiblemente se estarían adaptando al medio de cultivo antes de reproducirse y a las 144 horas el crecimiento disminuyó a 2 *Trichomonas*, por falta de nutrientes.

Tabla 1.

Recuento microscópico de *Trichomonas vaginalis* a pH 7,4 en 10 campos /40x.

Inóculos	1			2			3			4			5			6		
Tiempo (horas)	0			24			48			72			96			144		
Tubos	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c
N°de Trichomonas/ 10 campos	0	0	0	2	2	3	15	14	15	5	21	22	44	34	33	0	3	2
Promedio de trichomonas/10 campos de 40x	0			2			15			16			37			2		

CONCLUSIONES

El medio de cultivo Pavlova modificado a pH 7,4 es un método seguro y eficaz para observación, diagnóstico del crecimiento y aislamiento confiable de *Trichomonas vaginalis*, pero resulta sumamente costoso y laborioso.

El tiempo de incubación influye en el crecimiento del parásito.

El crecimiento de *Trichomonas vaginalis* en el medio de cultivo, se dio mayormente en los periodos de incubación de 48 a 96 horas.

AGRADECIMIENTO

En el presente trabajo queremos agradecer inmensamente a nuestro Dios, y a nuestros padres quienes nos han guiado y ayudado con todo lo necesario para lograr alcanzar los objetivos propuestos en esta investigación.

Agradecemos a la Profesora MSc. Mariana de Camargo por la dirección atinada de este trabajo; al Dr. Esmir B. Camargo, por la ayuda en la lectura y presentación en la realización de esta investigación.

Agradecemos a todo el equipo del Centro de Investigaciones de Química Inorgánica (CEIQUI) por el apoyo



brindado, especialmente a la Lic. Mónica Miranda y Lic. Juan Carlos Martínez por su gran colaboración, consejos y aportes en nuestra investigación.

A la Dirección de Sanidad Animal por la donación de los sueros necesarios para la preparación de los medios de cultivos. Al Ministerio de Salud de Panamá (MINSA), por suministrarnos datos e información valiosa para nuestra investigación, a la Vicerrectoría de Investigación y Posgrado de la UNACHI por apoyar y contribuir económicamente con nuestra investigación.

REFERENCIAS

- Azzam W., M., Cermeño Vivas, J. R., Orellán García, Y., & Penna V., S. J. (2002). *Vulvovaginitis por Candida spp. y Trichomonas vaginalis en mujeres sexualmente activas*. Disponible en https://bdabd280-a-62cb3a1a-sites.googlegroups.com/site/revista-anos2001a2005/home/ano-2002/invest-clin/clini2.pdf?attachauth=ANoY7crEb76Gy8MtfTrbVEn87-EV5AhjYn_om8VKwkfH4TDKPJfnXJa3cvFrmACt91HtIWWh3yKz5J2xIH0Yb-5X2unWdv0Y72GKUZNbBMTuXmjsjBHDEm6si7MmOKq. Visitado el 24 de 9 de 2014.
- Cadena, D., Miranda, N. & Calderón, N. 2006. Tricomoniasis urogenital. *Revista Paceña de Medicina Familiar*, 3(4), 84-89. Disponible en http://www.mflapaz.com/Revista_4_Pdf/10%20tricomoniasis%20urogenital.pdf Visitado el 4 de agosto de 2013.
- Carrada, T. Tricomoniasis vaginal. 2006. *Revista Mex Patol Clin*, 53(3), 151-156. Disponible en Medigraphic Artemisa en línea: <http://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2006/pt063e.pdf>. Visitado el 3 de agosto de 2013.
- Gómez Lagos, R., & Pellegrini Pinto, P. (2013). *Recomendaciones para el Análisis del Sedimento urinario*. Documentos técnicos para el laboratotio clínico, Instituto de Salud Pública, Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia, Chile. Disponible en <http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento/2013/03/sedimento%20urinario%20-%2028022013A.pdf>. Visitado el 25 de 9 de 2104.
- González, Z. K., & Montezuma, R. (2015). Diagnóstico de *Trichomonas vaginalis* en universitarias de la Universidad Autónoma de Chiriquí. (Tesis). UNACHI David, Chiriquí, Panamá.
- Hurtado, M. & Olvera, J. 2012. Infecciones de transmisión sexual en la población femenina de

- estudiantes universitarias. *Revista electrónica de Psicología Iztacala*, 15(3), 1156-1171. Disponible en Universidad Autónoma de México: www.revistas.unam.mx/index.php/r-epi/article/download/33734/30780. Visitado el 5 de agosto de 2013.
- Jimenez García, J. A., & Ruiz Martín, G. (2010). *El Laboratorio Clínico 2: Estudio de los elementos formes de la orina. Estandarización del sedimento urinario*. LABCAM. Disponible enfile:///C:/Users/zuri/Downloads/Estandarizacion%20del%20sedimento%20urinario%20(2).pdf. Visitado el 26 de 9 de 2014.
- RodríguezMaciques, I., & Castellanos Alonso, M. (2002). Diagnóstico y síntomas clínicos de la trichomoniasis vaginal. *Revista Cubana Obstetricia Ginecológica*, 28(2).
- Núñez, M., Flores, D., Calchi, M. & Páez, B. 1997. Epidemiología, Clínica y Diagnóstico de *Trichomonas vaginalis* en mujeres aparentemente sanas del Municipio Maracaibo. Estado Zulia, Venezuela. *Kasmera*, 25(2), 99-120. Disponible en <http://revistas.luz.edu.ve/index.php/km/article/viewFile/10893/1054>. Vistado el 4 de agosto de 2013.
- Salas, N., Felipe Ramírez, J., Ruíz, B., Torres, E., NervioJaramillo, L. & Gómez Marín, J. 2009. Prevalencia de microorganismo asociados a infecciones vaginales en 230 mujeres gestantes y no gestantes sintomáticas del Centro de Salud la Milagrosa en el municipio de Amrenia (Colombia). *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología*, 60 n°2. Disponible en Scielo: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-74342009000200003. Visitado el 3 de agosto de 2013.