

# NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG CÁC KỸ THUẬT CHẨN ĐOÁN TRÙNG ROI ÂM ĐẠO Ở BỆNH NHÂN ĐẾN KHÁM TẠI BỆNH VIỆN TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y DƯỢC HUẾ

Tôn Nữ Phương Anh, Nguyễn Phước Vinh  
Trường Đại học Y Dược Huế

## Tóm tắt

**Đặt vấn đề:** Trùng roi âm đạo (*Trichomonas vaginalis*) là một tác nhân gây bệnh lây truyền qua đường tình dục phổ biến trên thế giới. Nghiên cứu này nhằm đánh giá giá trị ứng dụng của các kỹ thuật chẩn đoán nhiễm trùng roi âm đạo.

**Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang, sử dụng kỹ thuật xét nghiệm soi tươi trực tiếp, nuôi cấy trùng roi âm đạo và sản xuất bộ sinh phẩm phát hiện kháng thể IgG kháng trùng roi âm đạo bằng kỹ thuật ELISA.

**Kết quả:** Nghiên cứu trên 201 bệnh nhân viêm nhiễm âm đạo, tỷ lệ nhiễm *Trichomonas vaginalis* là 16,4%, tỷ lệ người mang kháng thể IgG kháng trùng roi âm đạo là 46,3%. Kỹ thuật xét nghiệm trực tiếp chẩn đoán nhiễm trùng roi âm đạo có độ nhạy 87,9% độ đặc hiệu 100%. Trong khi đó kỹ thuật ELISA phát hiện kháng thể kháng *T.vaginalis* có độ nhạy 77,40%, độ đặc hiệu 89,00% với nồng độ pha loãng huyết thanh 1/100.

**Kết luận:** Kỹ thuật xét nghiệm trực tiếp có độ nhạy và độ đặc hiệu cao, hữu ích cho chẩn đoán nhiễm trùng roi âm đạo. Định hướng sản xuất bộ sinh phẩm ELISA phát hiện kháng thể IgG kháng trùng roi âm đạo có độ nhạy cao, hữu ích cho chẩn đoán sàng lọc nhiễm trùng roi âm đạo, nhất là trong nghiên cứu dịch tễ học góp phần phòng chống bệnh lây truyền qua đường tình dục.

**Từ khóa:** Trùng roi âm đạo (*Trichomonas vaginalis*), ELISA.

## Abstract

### EVALUATION OF THE DIAGNOSTICS TECHNIQUES

## 1. Đặt vấn đề

Trùng roi âm đạo (*Trichomonas vaginalis* - *T. vaginalis*) là một tác nhân gây bệnh lây qua đường tình dục phổ biến trên thế giới [4]. Có khoảng 280 triệu người trên thế giới nhiễm *T.vaginalis* mỗi năm [5]. Nó là nguyên nhân gây ra khoảng một phần ba các bất thường dịch tiết âm đạo [7]. Viêm âm đạo do

## FOR DIAGNOSTIC OF T. VAGINALIS VAGINAL INFECTION IN PATIENTS ATTENDING TO THE HUE UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY HOSPITAL

**Introduction:** *Trichomonas vaginalis* is the most common pathogen of sexual transmitted infections over the world. This study aimed to assess the valuable diagnostic techniques for vaginal trichomoniasis.

**Materials and methods:** A cross study on patients with vaginitis using laboratory wet mount examination, *Trichomonas vaginalis* cultivation, producing ELISA kit using the whole cell of *T. vaginalis* as antigen for finding IgG antibody against *T. vaginalis* by ELISA test.

**Results:** The study carried out on 201 vaginal infectious patients. In which, there were 16.4% infections with *Trichomonas vaginalis*. Anti-*T. vaginalis* antibodies were detected in 43.6% of patients. Direct technique for *T. vaginalis* diagnostic has 87.8% of sensitivity and 100% of specificity. ELISA technique detects IgG antibodies against *T. vaginalis* were 77.4% of sensitivity, and 89.00% of specificity by 1/100 ratio serum dilution.

**Conclusion:** Wet mount examination had high sensitivity and specificity, useful for diagnostic *Trichomonas vaginalis* vaginal infection. Production of ELISA assay using the whole cell of *T. vaginalis* as antigen has high sensitivity and high specificity, useful for diagnosing *Trichomonas vaginalis*, especially in epidemiological study for screening the high risk sexual transmitted infectious persons.

**Key words:** *Trichomonas vaginalis*, ELISA

*T.vaginalis* còn là nguyên nhân gây sẩy thai, vô sinh và làm tăng nguy cơ nhiễm HIV.

Chẩn đoán nhiễm *T.vaginalis* ở Việt Nam thường dựa vào xét nghiệm soi tươi dịch âm đạo. Kỹ thuật này đơn giản dễ thực hiện ở tất cả các phòng khám, nhưng có độ nhạy thấp. Trong khi đó, kỹ thuật nuôi cấy chẩn đoán *T.vaginalis* trên môi trường Diamond

là tiêu chuẩn vàng của chẩn đoán, nhưng yêu cầu kỹ thuật cao và trang thiết bị đắt tiền nên khó ứng dụng rộng rãi. Gần đây, kỹ thuật ELISA phát hiện kháng thể IgG kháng *T. vaginalis* được Mason và cộng sự [8] thực hiện ở Zimbabwe được xem là hữu ích trong chẩn đoán nhiễm *T.vaginalis*, đặc biệt là phát hiện được các trường hợp nhiễm trùng không triệu chứng, hoặc điều tra dịch tễ học.

Vi vậy, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm mục tiêu đánh giá giá trị của các kỹ thuật chẩn đoán trùng roi âm đạo.

## 2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Các phụ nữ được có triệu chứng nghi ngờ viêm âm đạo trên lâm sàng, được chỉ định xét nghiệm tại Phòng xét nghiệm Ký sinh trùng Bệnh viện trường Đại học Y Dược Huế, đồng ý tham gia nghiên cứu.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu:

Nghiên cứu mô tả cắt ngang, lấy mẫu ngẫu nhiên thuận tiện trong thời gian nghiên cứu từ tháng 4/2013 đến 6/2014, tổng số mẫu đạt được là 201.

### Xét nghiệm soi tươi tìm *T. vaginalis*:

Dịch âm đạo đựng trong ống nghiệm có tấm bông vô khuẩn sẽ được xét nghiệm ngay trong vòng 15 phút, dưới kính hiển vi vật kính x10 và x40 để tìm *T. vaginalis* di động và nuôi cấy trên môi trường Diamond.

### Nuôi cấy *T.vaginalis*:

Nuôi cấy chẩn đoán và thuần khiết chủng *T.vaginalis* trong môi trường Diamond ủ ở 37oC có CO2 5% trong 5 ngày nhằm so sánh với kết quả xét nghiệm trực tiếp, đồng thời sử dụng chủng *T.vaginalis* nuôi cấy thuần khiết để sản xuất bộ sinh phẩm cho kỹ thuật ELISA xác định tỷ lệ người mang kháng thể IgG kháng *T.vaginalis* để đánh giá độ nhạy và độ đặc hiệu của kỹ thuật ELISA với các tỷ lệ huyết thanh pha loãng 1/50, 1/100 và 1/200.

### Kỹ thuật ELISA

- Kỹ thuật ELISA được tiến hành theo phương pháp được mô tả bởi Mason P. R. và cộng sự (2001) [8].

- 1 ml máu bệnh nhân được lấy vào trong ống lấy máu không có chất chống đông sau đó được tách lấy huyết thanh cất giữ ở nhiệt độ âm 200C để làm phản ứng ELISA phát hiện kháng thể IgG kháng *T. vaginalis*.

- Mỗi đĩa ELISA đều có 1 chứng dương, 1 chứng âm, và 1 giếng trắng chỉ chứa dung dịch đệm phosphat buffer saline (PBS).

- Đo mật độ quang (Optical Density: OD) của phản ứng bằng máy đọc ELISA Biorad 680 bước sóng 405nm trong vòng 15-30 phút.

Phản ứng ELISA của mỗi mẫu bệnh phẩm đều được thực hiện ở 3 nồng độ pha loãng: 1/50, 1/100, 1/200 để chọn lựa nồng độ thích hợp.

### 2.3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được phê duyệt bởi Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học Trường Đại học Y Dược Huế, và được sự đồng ý một cách tự nguyện của bệnh nhân sau khi nghe giải thích rõ ràng mục đích nghiên cứu, giáo dục sức khỏe về bệnh lây truyền qua đường tình dục và quyền lợi của bệnh nhân trong nghiên cứu này.

### 2.4. Xử lý số liệu

Số liệu được nhập vào chương trình Microsoft Excel 2010 và xử lý theo Medcalc software. P < 0, 05 được xem là có ý nghĩa thống kê.

## 3. Kết quả

Trong thời gian nghiên cứu, chúng tôi có được 201 bệnh nhân đồng ý tham gia nghiên cứu.

Với kỹ thuật xét nghiệm trực tiếp dịch âm đạo chúng tôi phát hiện được 29 trường hợp nhiễm *T.vaginalis* chiếm tỷ lệ 13,4%. Trong khi đó, nuôi cấy chẩn đoán nhiễm *T.vaginalis* trên môi trường Diamond chúng tôi phát hiện thêm 4 trường hợp khác, nâng tỷ lệ nhiễm *T.vaginalis* ở nhóm đối tượng nghiên cứu này lên 16,4%.

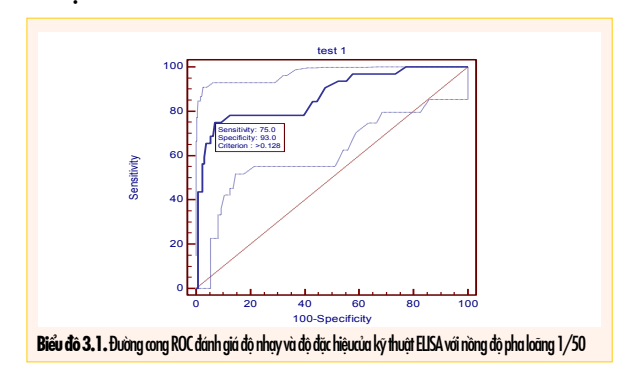
### 3.1. Đánh giá độ nhạy và độ đặc hiệu của xét nghiệm trực tiếp

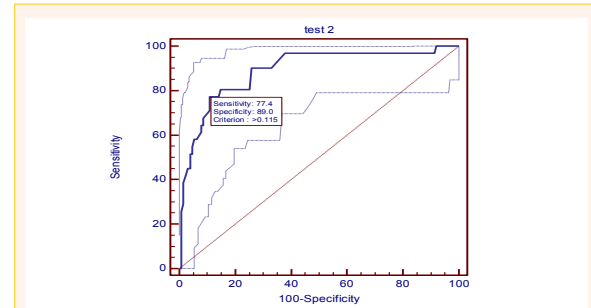
**Bảng 3.1.** Đánh giá độ nhạy và độ đặc hiệu của xét nghiệm trực tiếp

| Xét nghiệm trực tiếp \ Nuôi cấy | Dương tính | Âm tính |
|---------------------------------|------------|---------|
| Dương tính                      | 29         | 0       |
| Âm tính                         | 4          | 168     |
| Tổng                            | 33         | 168     |

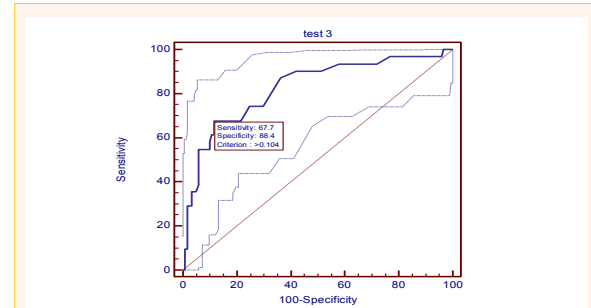
Độ nhạy và độ đặc hiệu của kỹ thuật xét nghiệm trực tiếp lần lượt là 87,88% và 100%. Với kỹ thuật nuôi cấy, chúng tôi phát hiện thêm 4 trường hợp nhiễm *T.vaginalis*.

### 3.2. Đánh giá độ nhạy và độ đặc hiệu kỹ thuật ELISA





Biểu đồ 3.2. Đường cong ROC đánh giá độ nhạy và độ đặc hiệu của kỹ thuật ELISA với nồng độ pha loãng 1/100



Biểu đồ 3.3. Đường cong ROC đánh giá độ nhạy và độ đặc hiệu của kỹ thuật ELISA với nồng độ pha loãng 1/200

Bảng 3.2. Giá trị AUC ở các ngưỡng nồng độ chẩn đoán

|              | AUC   | 95% CI        |
|--------------|-------|---------------|
| Tỷ lệ 1: 50  | 0,870 | 0,907 - 0,918 |
| Tỷ lệ 1: 100 | 0,889 | 0,829 - 0,933 |
| Tỷ lệ 1: 200 | 0,826 | 0,756 - 0,883 |

Bảng 3.3. Độ nhạy và độ đặc hiệu của 3 nồng độ huyết thanh pha loãng

| Huyết thanh pha loãng | Độ nhạy | Độ đặc hiệu | Điểm cắt |
|-----------------------|---------|-------------|----------|
| Tỷ lệ 1: 50           | 75,00   | 93,00       | ≥ 0,128  |
| Tỷ lệ 1: 100          | 77,40   | 89,00       | ≥ 0,115  |
| Tỷ lệ 1: 200          | 66,70   | 88,40       | ≥ 0,104  |

Mật độ pha loãng 1/100 có chỉ số AUC (Area under the curve) là 0,889. Kết quả này cho thấy thực hiện kỹ thuật ELISA phát hiện kháng thể IgG kháng T.vaginalis với nồng độ huyết thanh pha loãng 1/100 cho kết quả tối ưu với đường cong ROC = 0,889, độ nhạy là 77,40% và độ đặc hiệu là 89,00%.

### 3.3. So sánh tỷ lệ nhiễm T.vaginalis và tỷ lệ người mang kháng thể kháng T.vaginalis

Bảng 3.4. Tỷ lệ nhiễm T.vaginalis và tỷ lệ người mang kháng thể kháng T.vaginalis

| Nhiễm TRÁĐ | Tỷ lệ (%) | Người mang kháng thể | Tỷ lệ (%) |
|------------|-----------|----------------------|-----------|
| 33/201     | 16,42     | 93/201               | 46,27     |

Tỷ lệ người mang kháng thể kháng T.vaginalis gấp 2,8 lần tỷ lệ hiện nhiễm T.vaginalis.

## 4. Bàn luận

Khảo sát kết quả nhiễm T.vaginalis cho thấy rằng, bằng kỹ thuật nuôi cấy T.vaginalis, chúng tôi phát hiện

thêm 4 trường hợp nhiễm T.vaginalis đã không được phát hiện bằng kỹ thuật xét nghiệm trực tiếp, nên tổng số bệnh nhân nhiễm T. vaginalis là 33 trường hợp (16,42%).

Kết quả bảng 3.3 cho thấy tỷ lệ mang kháng thể IgG kháng T.vaginalis là 46,27% cao hơn tỷ lệ nhiễm T.vaginalis là 16,42%. Từ đó cho thấy kỹ thuật ELISA có độ nhạy cao nên rất hữu ích trong các nghiên cứu dịch tễ học nhằm phát hiện đối tượng nguy cơ lây truyền bệnh qua đường tình dục. Vì vậy kỹ thuật ELISA phát hiện kháng thể IgG là một chọn lựa thích hợp trong công tác phòng chống bệnh lây truyền qua đường tình dục.

Kết quả bảng 3.3 cho thấy tỷ lệ mang kháng thể IgG kháng T.vaginalis là 46,27% cao hơn tỷ lệ nhiễm T.vaginalis là 16,42%. Từ đó cho thấy kỹ thuật ELISA có độ nhạy cao nên rất hữu ích trong các nghiên cứu dịch tễ học nhằm phát hiện đối tượng nguy cơ lây truyền bệnh qua đường tình dục. Vì vậy kỹ thuật ELISA phát hiện kháng thể IgG là một chọn lựa thích hợp trong công tác phòng chống bệnh lây truyền qua đường tình dục.

Kết quả xét nghiệm trực tiếp so với nuôi cấy trong nghiên cứu của chúng tôi cho độ nhạy và độ đặc hiệu là 87,88% và 100% (bảng 3.1). Trong khi nghiên cứu của Nathan B và CS [9] nghiên cứu ở 246 phụ nữ tại vương quốc Anh (năm 2014) bằng nhiều phương pháp như kỹ thuật real - time PCR, kit Aptima Trùng roi âm đạo, OSOM... thì phát hiện được 24 trường hợp bệnh nhân dương tính với trùng roi âm đạo, nhưng trong đó chỉ có 9 trường hợp dương tính được phát hiện bằng kỹ thuật soi tươi trực tiếp (độ nhạy là 38%) và 21 trường hợp dương tính được phát hiện bằng kỹ thuật nuôi cấy (độ nhạy là 88%). Nghiên cứu khác của Saleh AM và CS [9] trên 297 phụ nữ nghiên cứu ở Khartoim, Sudan (năm 2014) thì bằng phương pháp soi tươi trực tiếp dưới kính hiển vi, phát hiện được 252 bệnh nhân dương tính (84,8%), bằng kỹ thuật nuôi cấy trên môi trường Diamond thì có 253 trường hợp (85,2%). Độ nhạy và độ đặc hiệu của xét nghiệm trực tiếp trong trường hợp này là 99,2% và 97,7%, còn độ nhạy và độ đặc hiệu của kỹ thuật nuôi cấy lần lượt là 99,6% và 88,6% so với kỹ thuật PCR.

Sự khác biệt về độ nhạy và độ đặc hiệu của XNTT chẩn đoán T.vaginalis giữa các nghiên cứu khác nhau phụ thuộc chính vào thời gian từ khi lấy bệnh phẩm đến lúc làm xét nghiệm, cũng như mật độ ký sinh trùng trong bệnh phẩm. Qua đó chúng tôi nhận thấy: xét nghiệm trực tiếp vẫn là xét nghiệm đơn giản chi phí thấp, có thể thực hiện ở tất cả các tuyến y tế cơ sở và có ý nghĩa trong chẩn đoán nhiễm T.vaginalis. Đồng thời để tăng độ đặc hiệu của kỹ thuật cần đảm bảo là xét nghiệm được thực hiện càng sớm càng tốt ngay sau khi lấy bệnh phẩm hoặc tối đa là xét nghiệm trong vòng hai giờ. Trong lúc đó kỹ thuật nuôi cấy chẩn đoán nhiễm T.vaginalis cho phép chẩn đoán chính xác kể

cả khi mật độ KST rất thấp trong bệnh phẩm. Tuy nhiên kỹ thuật này đòi hỏi chi phí cao, kỹ thuật viên có kinh nghiệm, tốn nhiều thời gian do đó khó áp dụng rộng rãi ở các phòng khám phụ khoa. Mặc khác trong khi chờ đợi kết quả nuôi cấy, bệnh nhân đã có thể lây nhiễm bệnh cho người khác. Tuy vậy, nuôi cấy được xem là chẩn đoán vàng và là kỹ thuật cơ bản cần thiết trong các phòng xét nghiệm nghiên cứu nhằm đáp ứng các nghiên cứu chuyên sâu về miễn dịch, cơ chế gây bệnh của T.vaginalis.

Hiện nay ở Việt nam chúng ta chưa áp dụng rộng rãi kỹ thuật ELISA phát hiện kháng thể kháng T.vaginalis. Trong lúc đó trên thế giới nhiều nhà nghiên cứu quan tâm đến vấn đề này nhằm khảo sát đáp ứng miễn dịch của cơ thể đối với T.vaginalis, cũng như cơ chế bệnh sinh của bệnh, từ đó rút ra biện pháp điều trị dự phòng thích hợp. Bên cạnh đó chẩn đoán huyết thanh miễn dịch đơn giản dễ thực hiện và rất hữu ích trong điều tra dịch tễ học cũng như sàng lọc các đối tượng nguy cơ lây nhiễm bệnh qua đường tình dục. Vì vậy ở Việt nam cần có nhiều nghiên cứu hơn nữa về ứng dụng của xét nghiệm này trong công tác phòng chống bệnh xã hội.

Theo một số nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật ELISA phát hiện kháng thể IgG kháng T.vaginalis với các nồng độ huyết thanh pha loãng khác nhau như nghiên cứu của Addis MF pha loãng 1/50, của chúng tôi năm 2013 là 1/100 [1],[2]. Do đó nghiên cứu của chúng tôi nhằm khảo sát độ nhạy và độ đặc hiệu của kỹ thuật ở các nồng độ huyết thanh pha loãng khác nhau để chọn nồng độ thích hợp.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi khảo sát độ nhạy độ đặc hiệu của kỹ thuật với các nồng độ huyết thanh pha loãng ra 3 tỷ lệ khác nhau, lần lượt là 1/50, 1/100 và 1/200. Dựa trên kỹ thuật nuôi cấy làm tiêu chuẩn chẩn đoán và ứng dụng kỹ thuật đường cong ROC trên phần mềm MedCal, chúng tôi có được bảng 3.19 với chỉ số AUC lần lượt tương ứng với 3 nồng độ 1/50, 1/100 và 1/200 là 0,870, 0,889 và 0,826. Theo đường cong ROC, độ chính xác được đo lường bằng diện tích dưới đường cong ROC (AUC). Giá trị AUC càng gần 1, thì phản ứng có giá trị tin cậy cao [2]. Nên dựa vào kết quả bảng 3.5 chúng tôi chọn nồng độ 1/100 làm nồng độ pha loãng tối ưu với chỉ số AUC là 0,889.

Với độ pha loãng huyết thanh 1/100, chúng tôi có độ nhạy là 77,40% và độ đặc hiệu là 89,00% (bảng 3.2). Từ đó chúng tôi thống kê được số lượng phụ nữ mang kháng thể kháng T.vaginalis trên tổng số 201 bệnh nhân là 93 trường hợp, chiếm tỷ lệ 46,27%. Trong khi đó, tỷ lệ nhiễm T.vaginalis trên tổng số 201 phụ nữ viêm âm đạo trong nhóm nghiên cứu của chúng tôi là 33 trường hợp (16,42%). Kỹ thuật ELISA có độ nhạy cao hơn so với xét nghiệm nuôi cấy, giúp phát hiện những bệnh nhân

đã từng nhiễm T.vaginalis. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu khác của chúng tôi [1], chứng tỏ rằng đáp ứng miễn dịch trong nhiễm T.vaginalis chủ yếu là kháng thể IgG và kháng thể tồn tại 4-5 tháng sau khi lành bệnh.

Kỹ thuật ELISA rất hữu ích trong nghiên cứu dịch tễ học, giúp sàng lọc đối tượng có nguy cơ cao lây nhiễm bệnh qua đường tình dục, góp phần hữu ích vào công tác phòng chống bệnh xã hội.

## 5. Kết luận

Xét nghiệm trực tiếp chẩn đoán T.vaginalis là kỹ thuật đơn giản, dễ thực hiện để chẩn đoán viêm âm đạo do T.vaginalis, với độ nhạy 87,00% và độ đặc hiệu 100% so với kỹ thuật nuôi cấy,

Kỹ thuật ELISA với độ pha loãng 1/100 phát hiện kháng thể kháng T.vaginalis có độ nhạy 77,40% và độ đặc hiệu 89,00%, rất hữu ích trong điều tra dịch tễ học, giúp sàng lọc đối tượng có nguy cơ cao lây nhiễm qua đường tình dục, góp phần hữu ích vào công tác phòng bệnh xã hội.

### Kiến nghị

- Kỹ thuật xét nghiệm trực tiếp đơn giản dễ thực hiện có thể chẩn đoán nhiễm T.vaginalis ở tất cả các phòng khám phụ khoa.

- Kỹ thuật nuôi cấy T.vaginalis có thể thực hiện ở các phòng xét nghiệm chuyên sâu để chẩn đoán và sản xuất bộ sinh phẩm ELISA chẩn đoán.

- Kỹ thuật ELISA nên được thực hiện trong các điều tra dịch tễ học bệnh lây truyền qua đường tình dục, trong chẩn đoán sàng lọc đối tượng nguy cơ lây truyền bệnh qua đường tình dục.

### Tài liệu tham khảo

1. Tôn Nữ Phương Anh, Ngô Thị Minh Châu, Nguyễn Phước Vinh, Pier Luigi Fiori, Lê Minh Tâm, Nguyễn Vũ Quốc Huy, Nguyễn Thị Tuy Hà (2013), "Khảo sát giá trị của kỹ thuật ELISA tìm kháng thể kháng T. vaginalis và tỷ lệ nhiễm T. vaginalis ở thành phố Huế", Tạp chí Y Dược học, Trường Đại học Y Dược Huế, 14:25-33.
2. Addis MF, Rappelli P, Pinto De Andrade AM, Rita FM, Colombo MM, Cappuccinelli P, Fiori PL (1999), "Identification of Trichomonas vaginalis alpha-actinin as the most common immunogen recognized by sera of women exposed to the parasite", The Journal of Infectious Diseases, 180(5):127-30.
3. Dirx M, Boyer MP, Pradhan P, Brittingham A, Wilson WA (2014), "Expression and characterization of a beta-fructofuranosidase from the parasitic Trichomonas vaginalis", BMC Biochem, 15:12.
4. Fichorova RN (2009), "Impact of T. vaginalis Infection on Innate Immune Responses and Reproductive Outcome", J Reprod Immunol, 83(1-2):185-189.
5. Garber GE, Sibau L, Ma R, Proctor EM, Shaw CE, Bowie WR, 1987, "Cell Culture Compared with Broth for Detection of Trichomonas vaginalis", J Clin Microbiol., 25(7):1275-9.
6. Malla N, Kaul P, Sehgal R, Gupta I. (2011), "The presence of dsRNA virus in Trichomonas vaginalis isolates from symptomatic and asymptomatic Indian women and its correlation with in vitro metronidazole sensitivity", Indian J Med Microbiol Rev, 29(2):152-7.
7. Mason PR, Gregson S, Gwanzura L, Cappuccinelli P, Rapelli P, Fiori PL, Enzyme immunoassay for urogenital trichomoniasis as a marker of unsafe sexual behavior, Epidemiol. Infect. (2001), 126, 103-109
8. Nathan B, Appiah J, Saunders Pet al. (2014), "Microscopy outperformed in a comparison of five methods for detecting Trichomonas vaginalis in symptomatic women", Int J STD AIDS, pii: 0956462414534833.
9. Saleh AM, Abdalla HS, Satti AB, Babiker SM, Gasim GI, Adam I (2014), "Diagnosis of Trichomonas vaginalis by microscopy, latex agglutination, diamond's media, and PCR in symptomatic women, Khartoum, Sudan", Diagn Pathol, 9:49.