

## Bioquimia

Volumen 28  
Volume

Número 3  
Number

Septiembre 2003  
September

### Artículo:

Presencia de proteinasas en las secreciones vaginales y de anticuerpos anti-proteínas de *Trichomonas vaginalis* en el suero de pacientes con Trichomonosis activa

Derechos reservados, Copyright © 2003:  
Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica, AC

Otras secciones de  
este sitio:

- 👉 [Índice de este número](#)
- 👉 [Más revistas](#)
- 👉 [Búsqueda](#)

*Others sections in  
this web site:*

- 👉 [Contents of this number](#)
- 👉 [More journals](#)
- 👉 [Search](#)



[Medigraphic.com](http://www.Medigraphic.com)

# Presencia de proteinasas en las secreciones vaginales y de anticuerpos anti-proteínas de *Trichomonas vaginalis* en el suero de pacientes con Trichomonosis Activa

Rodolfo Hernández-Gutiérrez<sup>1</sup>, Jaime Ortega-López<sup>2</sup>, Fernando Cruz-Talonia<sup>3</sup>,  
Guillermo Gómez-Gutiérrez<sup>3</sup> y Rossana Arroyo-Verástegui<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Patología Experimental y <sup>2</sup>Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N., Apdo. Postal 14-740, 07360, México, D.F., México. <sup>3</sup>Centro Nacional de Clínicas de Displasias del Hospital General de México,

Av. Dr. Balmis # 148, Col. Doctores, México D.F., CP 06726, México.

\*Sobretiros: Departamento de Patología Experimental, CINVESTAV-IPN. Av. IPN 2508, Col. San Pedro Zacatenco, México, D.F. CP 07360.

Fax: +5255-50613800 Ext. 5625. e-mail: rarroyo@mail.cinvestav.mx

Donativos: CONACYT 25572-N y 33044-M. Apoyo parcial del Depto. Patología Experimental del CINVESTAV-IPN.

Recibido: 22/05/03 Aceptado: 20/08/03

## Resumen

La trichomonosis es una de las enfermedades de transmisión sexual más común en el mundo y su incidencia ha aumentado a pesar de las políticas implementadas para el control y la prevención de estas enfermedades debido a la epidemia del SIDA. El problema es mayor debido a que no se cuenta con un método de diagnóstico 100% efectivo y a que más del 50% de los pacientes son asintomáticos. En este trabajo se analizaron lavados vaginales y sueros de 30 pacientes mexicanos con trichomonosis diagnosticada clínicamente, para la detección de proteinasas y anticuerpos anti-proteínas de *T. vaginalis*, respectivamente. Para la detección de proteinasas en los lavados vaginales se utilizó electroforesis en geles de sustrato. Para la detección de anticuerpos anti-proteinasa y anti-proteínas de *T. vaginalis* se emplearon ensayos de inmunoprecipitación y de inmunoelectrotransferencia, respectivamente. Se encontró una relación entre la presencia de proteinasas de *T. vaginalis* en las secreciones vaginales y de anticuerpos anti-proteínas y proteinasas de *T. vaginalis* en los sueros de las nueve pacientes con trichomonosis con cultivo-positivo. Estos datos nos permitirán valorar el potencial de algunas de estas moléculas como parte básica de un nuevo método de diagnóstico para trichomonosis activa.

**Palabras claves:** *Trichomonas vaginalis*, trichomonosis, proteinasas, anticuerpos anti-proteinasa, anticuerpos anti-proteínas, lavados vaginales, sueros de humano, ensayos de inmunoprecipitación, electroforesis en geles de sustrato.

## Abstract

Trichomonosis is one of the most common human sexually transmitted disease in the world. The incidence of this disease has increased in spite of the control and prevention policies due to the AIDS epidemic. The problem could be greater than what we see due to the lack of a good diagnostic method and also because more than 50% of patients are asymptomatic. In this work we analyzed vaginal washes by substrate gel electrophoresis and sera by immunoprecipitation and Western blot assays from 30 Mexican patients with clinical diagnosis of trichomonosis, in order to detect proteinases and antibodies to trichomonad proteins, respectively. We found a relationship between the presence of trichomonad proteinases in vaginal secretions and antibodies to trichomonad proteins and proteinases in sera on the samples from the nine patients with culture-positive trichomonosis. These data will help to evaluate the potential of some of these molecules in a diagnostic method to detect active trichomonosis.

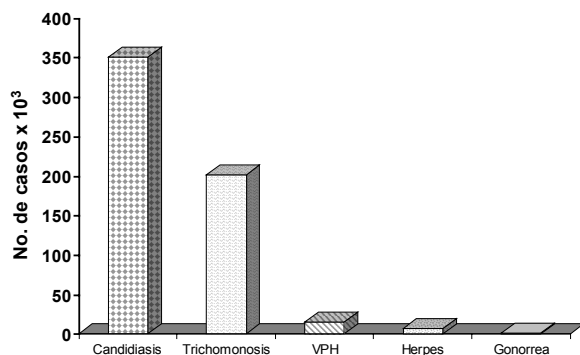
**Key words:** *Trichomonas vaginalis*, trichomonosis, proteinases, anti-proteinase antibodies, anti-protein antibodies, vaginal washes, human sera, immunoprecipitation assay, substrate gel electrophoresis.

## Introducción

La trichomonosis es una enfermedad de transmisión sexual (ETS) crónica no mortal de gran incidencia en el mundo, causada

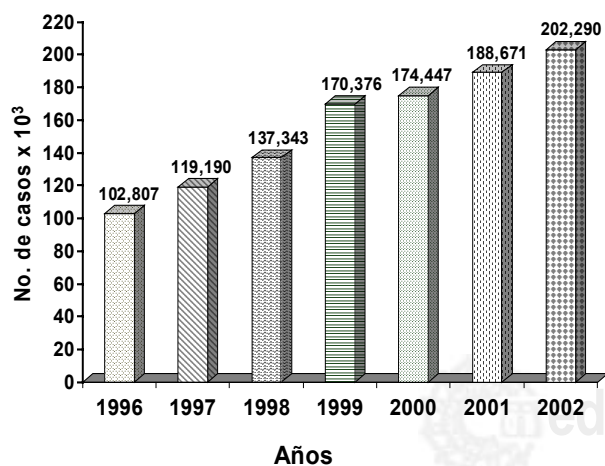
por *Trichomonas vaginalis*. Esta enfermedad es considerada un problema de salud pública debido a las complicaciones asociadas a ella como embarazos de alto riesgo debido a la ruptura temprana de las membranas amnióticas, parto prematuro e infantes de bajo peso,<sup>1</sup> neumonía en recién nacidos,<sup>2</sup> infertilidad,<sup>3</sup> mayor susceptibilidad a la infección por el virus de la inmunodeficiencia adquirida<sup>4,5</sup> y una predisposición al cáncer cervicouterino.<sup>6</sup>

La trichomonosis presenta una incidencia de 170 millones de casos anualmente a nivel mundial, de 3 a 10 millones en Estados Unidos<sup>3</sup> y en México en el año 2002, la trichomonosis ocupó el segundo lugar entre las ETS, superada únicamente por la candidiasis urogenital (Fig. 1). La trichomonosis ha aumentado progresivamente desde 1996, tanto que al 2002 el número de casos casi se duplicó en México (Fig. 2).<sup>7</sup> Los cinco estados de la República Mexicana con mayor incidencia de trichomonosis en los últimos siete años son: Veracruz, Estado de México, Puebla, Chiapas y Michoacán.<sup>7</sup> Estos datos sugieren que las medidas de control y prevención que se han implementado para las ETS debido a la epidemia del SIDA no han sido efectivas para reducir la incidencia de trichomonosis en nuestro país. El problema puede ser aún mayor dado que no se cuenta con un método de diagnóstico 100% efectivo y de que más del 50% de los pacientes son asintomáticos, por lo que las cifras reportadas podrían estar subestimadas.<sup>3</sup>



Enfermedades de transmisión sexual en México

**Figura 1.** Prevalencia de la trichomonosis en México respecto a otras enfermedades de transmisión sexual. Se presenta el número de casos por mil habitantes de cada una de las enfermedades de transmisión sexual (Candidiasis, Trichomonosis, Virus del Papiloma Humano [VPH], Herpes y Gonorrea) reportadas por el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica de SSA, 2002.



**Figura 2.** Incidencia de trichomonosis en México en el periodo comprendido entre 1996 y 2002. Se presenta el número de casos de trichomonosis por mil habitantes reportados por el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica de SSA en los últimos 7 años.

El método común para la detección de *T. vaginalis* es la observación en fresco de las secreciones vaginales, o uretrales, de los pacientes. Este método es el más utilizado tanto en nuestras instituciones de salud y en laboratorios de análisis clínicos como en muchos países. Aunque debido a su baja sensibilidad, entre 30 y 80%, es uno de los métodos menos eficientes para el diagnóstico de la trichomonosis. En los países desarrollados se han reportado otras técnicas para el diagnóstico de la trichomonosis como ensayos de ELISA, pruebas con anticuerpos fluorescentes, hibridación *in situ* o mediante reacciones de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa), cuya sensibilidad oscila entre 70-90%; sin embargo, estas dos últimas todavía se encuentran a nivel experimental.<sup>3</sup>

Uno de los principales problemas para el control de la trichomonosis se debe a que más del 50% de los pacientes asintomático, o con sintomatología leve, no son diagnosticados adecuadamente por la carencia de un método de diagnóstico alternativo al cultivo *in vitro*, el estándar de oro, para el cual se requiere de al menos cinco días para obtener el resultado. De ahí la necesidad de un método de diagnóstico eficiente, económico, específico y de alta sensibilidad. Dicho método permitiría la detección de *T. vaginalis*, sus productos o anticuerpos contra éstos, en las secreciones uretrales o vaginales<sup>8</sup> o en el suero de los pacientes con trichomonosis activa.<sup>9</sup>

## Material y métodos

**Parásitos.** El aislado CNCD-188 de *T. vaginalis* cultivado axénicamente en medio TYM (triptona, extracto de levadura y maltosa)<sup>10</sup> y suplementado con 10% de suero de caballo inactivado por calor (TYM-SC) se utilizó como fuente de proteínas para los ensayos de inmunoprecipitación y de inmunoelectrotransferencia. Los parásitos se crecieron a 37°C por 24 h para obtenerlos en la fase logarítmica de crecimiento.

**Muestras biológicas.** Los lavados vaginales (2-3 mL) y las muestras de sangre (suero) se obtuvieron de 30 mujeres entre 20 y 49 años de edad que acudieron al Centro Nacional de Clínicas de Displasias (CNCD) del Hospital General de México (HGM) con sintomatología de vaginitis y diagnóstico clínico de trichomonosis, después de obtener su consentimiento por escrito (Protocolo aprobado por el Comité de Ética del HGM). Los sueros de seis personas sanas en estos mismos rangos de edad se utilizaron como controles negativos. Para el cultivo *in vitro* de *T. vaginalis* primero se obtuvo una muestra del fondo de saco de la vagina con un hisopo estéril que se inoculó en el medio TYM-SC en presencia de penicilina/estreptomicina (Sigma) y fungizona (Gibco-BRL) para su axenización.<sup>10</sup> Enseguida, los lavados vaginales se obtuvieron mediante inyección de solución salina (2-3 mL) estéril en la cavidad

vaginal. Después, la solución salina con el contenido vaginal se recuperó en un tubo cónico estéril y se centrifugó a 900 x g para eliminar parásitos y células descamadas. Posteriormente, el sobrenadante se filtró por una membrana Millipore de 0.22 µm para descartar todo el material particulado remanente.<sup>8</sup>

**Detección de proteinasas en lavados vaginales.** Los lavados vaginales se concentraron diez veces por centrifugación al vacío (Speed Vac de Savant), para la detección de proteinasas, se mezclaron con amortiguador de muestra para electroforesis 2x (vol:vol)<sup>11</sup>, se incubaron a 37°C por 20 min y se analizaron en geles desnaturizantes de poliacrilamida (Bio-Rad) al 10% copolimerizados con gelatina (Bio-Rad) al 0.2%. Posteriormente, los geles se renaturalizaron con Tritón X-100 (Sigma) al 2.5% por 1 h a temperatura ambiente y luego se activaron por 3 h a 37°C en amortiguador de acetatos (Sigma) 100 mM, pH 4.5 con β-mercapto-etanol (Sigma) al 2.0%. Finalmente, el gel se tiñó con azul brillante de Coomassie (Bio-Rad) al 0.25% y las bandas de las proteinasas se observaron como bandas claras en un fondo oscuro.

**Ensayos de inmunoprecipitación.** Para los ensayos de inmunoprecipitación, los sueros se diluyeron 1:10 en PBS y se incubaron con *Staphylococcus aureus* fijado (Pansorbin, Calbiochem Co., CA, USA) como fuente de proteína A, por 24 h a 4°C en agitación constante para facilitar la formación del complejo *Staphylococcus*-anticuerpo (*Staph*-Ac). Enseguida, el complejo (*Staph*-Ac) se incubó durante 1 h a temperatura ambiente con un extracto rico en proteinasas obtenido a partir de 2 × 10<sup>6</sup> parásitos lisados en amortiguador de inmunoprecipitación [PBS, pH 7.0, con Zwittergent 3-12 (Calbiochem) al 0.5%], para precipitar las proteínas reconocidas por los anticuerpos. Después, las muestras se incubaron con el amortiguador de muestra<sup>11</sup> durante 25 min a 37°C para eluir las proteínas del complejo, se centrifugaron y el sobrenadante (proteinasas) se analizó en geles de SDS-poliacrilamida al 10% copolimerizados con gelatina al 0.2%.

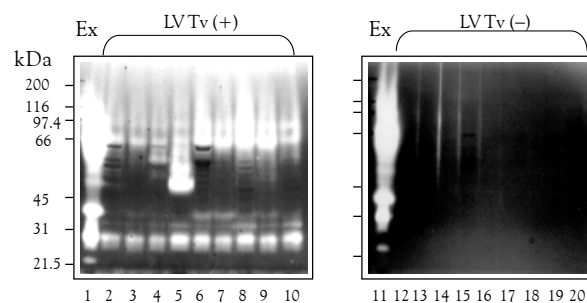
**Inmunoelectrotransferencia.** Las proteínas totales de 2 × 10<sup>7</sup> parásitos se obtuvieron por precipitación con TCA (Sigma) al 10%<sup>12</sup>, se separaron por electroforesis desnaturizante en geles de SDS-poliacrilamida al 10% y se electrotransferieron a membranas de nitrocelulosa (Bio-Rad). El análisis por inmunoelectrotransferencia se realizó con un protocolo estándar<sup>13</sup>; las membranas de nitrocelulosa con proteínas del parásito primero se incubaron por 18 h a 4°C con los sueros diluidos 1:100 de los pacientes, se lavaron con PBS-Tween 20 al 0.05% y luego se incubaron por 2 h a temperatura ambiente con anticuerpos anti-inmunoglobulinas G (IgG) de humano acoplados a peroxidasa (Bio-Rad) a una dilución de 1:3000. Como desarrollador de color se utilizó el 4-cloro-1-naftol (Bio-Rad).

**Obtención de anticuerpos anti-*T. vaginalis*.** Cinco ratones machos Balb/c de cuatro semanas de edad se inmunizaron vía intraperitoneal con 2 × 10<sup>6</sup> parásitos en PBS por ratón, emulsionados con adyuvante completo de Freund para la primera inmunización (Gibco-BRL) en una relación de 1:1 (vol/vol). Los animales se retaron en tres ocasiones más con la misma cantidad de antígeno pero preparado en adyuvante incompleto de Freund, con un intervalo de siete días entre cada reto. Posteriormente, los ratones se sangraron para detectar la presencia de anticuerpos anti-trichomonas por inmunoelectrotransferencia como se describió previamente. Los ratones se retaron en dos ocasiones más para elevar el título de anticuerpos y después se sangraron a totalidad evitando su sufrimiento (de acuerdo al protocolo de uso y manejo de animales aprobado por el Comité del Bioterio, del CINVESTAV-IPN, CICAL).

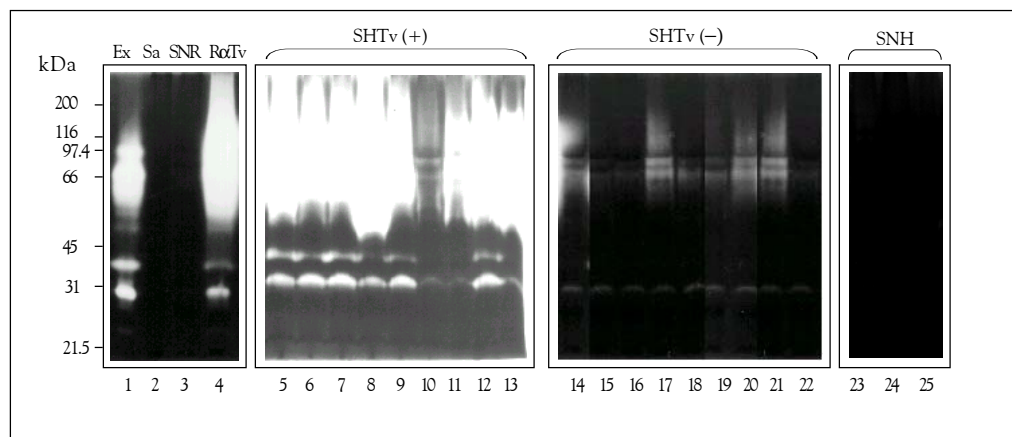
## Resultados

**Análisis de muestras de pacientes por cultivo *in vitro*.** De las 30 muestras obtenidas del fondo del saco de la vagina de las pacientes clínicamente diagnosticadas con trichomonosis, solo en nueve (9/30) de ellas se observó crecimiento de *T. vaginalis*. El resto de las muestras (21/30) no presentaron crecimiento del parásito, aun después de diez días de incubación.

**Presencia de proteinasas de *T. vaginalis* en lavados vaginales.** De los lavados vaginales de las 30 pacientes analizados en geles de poliacrilamida copolimerizados con gelatina sólo los lavados vaginales de las nueve pacientes con cultivo positivo (9/30) presentaron bandas con actividad de proteinasas en un amplio rango de tamaños moleculares, desde 21 hasta 116 kDa (Fig. 3, líneas 2-10). Algunas de las bandas de actividad correspondie-



**Figura 3.** Proteinasa presente en lavados vaginales de pacientes con trichomonosis. Los lavados vaginales (LV) de pacientes con trichomonosis clínica se analizaron por electroforesis en geles de SDS-poliacrilamida al 10% copolimerizados con gelatina al 0.2%. Líneas 2-10, LV de pacientes con trichomonosis confirmada por cultivo *in vitro* [LV Tv (+)]. Líneas 12-20, LV representativos de pacientes con trichomonosis clínica pero con cultivo negativo [LV Tv (-)]. Líneas 1 y 11 patrón de proteinasas de un extracto total del aislado CNCD 188 de *T. vaginalis* (Ex) utilizado como control positivo de actividad de proteinasas. kDa muestra la posición de los marcadores de tamaño molecular.



**Figura 4. Inmunoprecipitación de proteinasas por los sueros de pacientes con trichomonosis.** Ensayos de inmunoprecipitación. Líneas 1 y 4, controles positivos correspondientes a extractos de parásitos (Ex) y proteinasas inmunoprecipitadas con un suero de ratón anti-*T. vaginalis* (RαTv); Líneas 2 y 3 controles negativos, *S. aureus* solamente (Sa) e inmunoprecipitación con el suero preinmune de ratón (SNR), respectivamente. Líneas 5-13, [SHTv (+)] sueros de pacientes con trichomonosis clínica cultivo-positivos; líneas 14-22, [SHTv (-)] sueros representativos de pacientes con trichomonosis clínica cultivo-negativos. Líneas 23-25, (SNH) sueros representativos de personas sanas, utilizados como controles negativos. Las proteinasas precipitadas por los sueros se analizaron en geles de poliacrilamida al 10% copolimerizados con gelatina al 0.2%. kDa muestra la posición de los marcadores de tamaño molecular.

ron en tamaño a las observadas en el extracto de *T. vaginalis* que fue utilizado como control (Fig. 3, líneas 1 y 11). En contraste, en ninguno de los lavados vaginales de los pacientes con cultivo negativo (21/30) se detectaron bandas de actividad proteolítica en los geles de sustrato; aunque solo se muestra el patrón representativo de nueve de los 21 lavados vaginales con cultivo negativo analizados (Fig. 3, líneas 12-20). Estos datos sugieren que es posible detectar proteinasas en los lavados vaginales de pacientes con trichomonosis activa, aún antes de tener los resultados del cultivo *in vitro*. Estos datos están en concordancia con resultados previos<sup>8</sup> en donde se muestra la presencia de proteinasas en los lavados vaginales de personas infectadas con *T. vaginalis*, las cuales desaparecieron cuando las pacientes recibieron tratamiento y se controló la infección.

**Los sueros de pacientes inmunoprecipitan proteinasas de *T. vaginalis*.** La capacidad de los 30 sueros de pacientes con trichomonosis clínica para inmunoprecipitar proteinasas de un extracto de *T. vaginalis*, se determinó mediante ensayos de inmunoprecipitación y se comparó con los patrones obtenidos de los seis sueros de personas sanas utilizados como controles negativos. De los 30 sueros de pacientes con trichomonosis clínica analizados, los sueros de los nueve pacientes con cultivo positivo inmunoprecipitaron múltiples bandas con elevada actividad de proteinasas y en un amplio rango de tamaño molecular (Fig. 4, líneas 5-13). Estos zimogramas fueron similares a los del suero de ratón anti-trichomonas usado como control positivo (Fig. 4, línea 4). Mientras que algunos de los sueros de las 21 pacientes con trichomonosis clínica pero con cultivo negativo mostraron una ligera reactividad, inmunoprecipitaron de dos a tres bandas de actividad (Fig. 4 líneas 14-22, patrones representativos). En cambio, los sueros de

las seis personas sanas (Fig. 4, líneas 23-25, patrones representativos) no inmunoprecipitaron proteinasas de *T. vaginalis*. Estos resultados son similares a los controles negativos de la inmunoprecipitación, el *S. aureus* incubado solamente con el extracto de proteínas (Fig. 4, línea 2) y el suero preinmune de ratón (Fig. 4, línea 3) que no mostraron ninguna reactividad.

**Los sueros de pacientes también reconocen proteínas de *T. vaginalis*.** El análisis de los 30 sueros de pacientes con trichomonosis clínica por inmunoelectrotransferencia mostró que los nueve sueros de pacientes con trichomonosis confirmada por cultivo (9/30) también reconocieron múltiples proteínas de *T. vaginalis* desde < 43.9 hasta 208 kDa (Fig. 5, líneas 2-11), similar a la respuesta del suero de ratón anti-trichomonas usado como control positivo (Fig. 5, línea 2). En cambio, los sueros de los pacientes con trichomonosis clínica pero con cultivo negativo solo reconocieron débilmente de una a tres bandas de proteínas de *T. vaginalis* (Fig. 5, líneas 12-20, resultados representativos); ni los sueros de las personas sanas (Fig. 5, líneas 21-23), ni el control negativo del suero preinmune de ratón (Fig. 5, línea 1) reconocieron proteína alguna de *T. vaginalis*. Estos datos muestran que los pacientes con trichomonosis activa tienen mayor cantidad de anticuerpos contra múltiples proteínas de *T. vaginalis*.

## Discusión

El hecho de que en el 100 % de las personas positivas a trichomonosis por cultivo se encuentren proteinasas en las secreciones vaginales y que estas proteinasas no se observen

en personas con cultivo negativo sugiere la existencia de parásitos en el sitio de infección. Algunas de estas proteínas podrían ser utilizadas como moléculas blanco en el diagnóstico de la trichomonosis sin necesidad de realizar un cultivo *in vitro*.

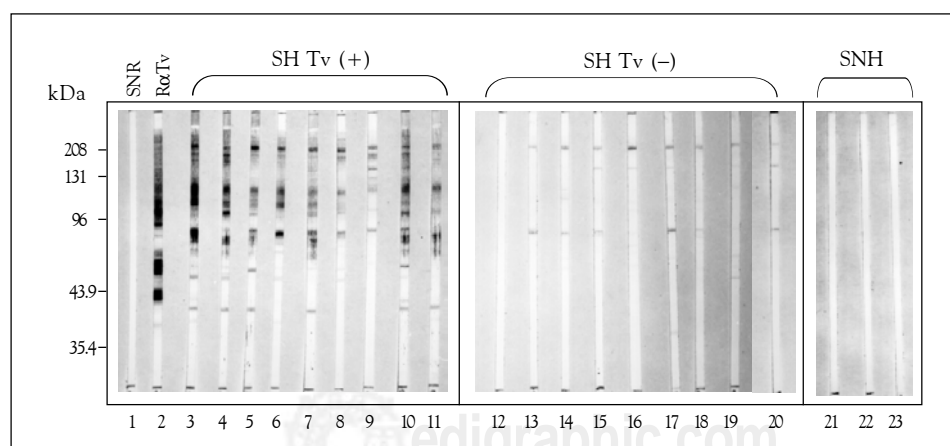
Además, dado que la obtención de muestras de sangre en pacientes que acuden a consulta médica por alguna afección es muy frecuente y considerando que alrededor del 50% de personas con trichomonosis son asintomáticas, los sueros obtenidos de estas personas podrían utilizarse para la detección de anticuerpos anti-tricomonas. Un resultado positivo por inmunoprecipitación o por inmunoelectrotransferencia sugeriría una infección por *T. vaginalis* debido a que un gran número de proteínas del parásito son reconocidas por los anticuerpos presentes en los sueros de pacientes con trichomonosis confirmada por cultivo *in vitro*, con respecto a los sueros de los pacientes con cultivo negativo.

Además, la presencia de proteínas del parásito en los lavados vaginales y de anticuerpos circulantes contra proteínas sugieren que algunas de estas proteínas podrían utilizarse como base para el desarrollo de un método de diagnóstico específico, sensible, simple y efectivo. Las proteínas de 65 y 30 kDa denominadas CP65 y CP30 involucradas en la citotoxicidad y en la adhesión del parásito a la célula blanco respectivamente,<sup>12,14</sup> podrían ser un ejemplo de este tipo de moléculas. Estas dos proteínas son reconocidas por los sueros de pacientes con trichomonosis activa, además de que la CP30 se encuentra en las secreciones vaginales de pacientes con cultivo positivo.

Por otro lado, la débil positividad en la inmunoprecipitación y en la inmunoelectrotransferencia presentada por los sueros de

pacientes con trichomonosis clínica con cultivo negativo puede explicarse de diferentes formas, por ejemplo i) que la vaginitis que presentaron estas pacientes sea causada por otro agente infeccioso del tracto urogenital como *Candida albicans*, *Chlamydia trachomatis* o *Gardnerella vaginalis* cuyos antígenos muestren una ligera reactividad cruzada con algunos de los antígenos de *T. vaginalis*, como los observados en este estudio. ii) Una segunda posibilidad es que estas pacientes tienen poco tiempo de infección con una cantidad pequeña de parásitos, insuficiente para detectarse por cultivo *in vitro* y por análisis en fresco de las secreciones vaginales, por lo que se observa una respuesta inicial débil a la presencia de *T. vaginalis*. iii) También pudiera deberse a que las pacientes estuvieron infectadas con *T. vaginalis* y se curaron, pero durante la infección desarrollaron una respuesta inmune de larga duración en contra de algunos antígenos de *T. vaginalis*, sin incluir a las proteínas, ya que se sabe que los anticuerpos anti-proteínas de *T. vaginalis* tanto a nivel sistémico como local son de corta duración, desapareciendo una vez que la trichomonosis se ha curado.<sup>8,9</sup> Los resultados de este estudio concuerdan con lo reportado anteriormente<sup>8,9</sup> en sueros de pacientes con trichomonosis vaginal con cultivo negativo, los cuales no inmunoprecipitaron proteínas del parásito, pero reaccionaron débilmente en la inmunoelectrotransferencia con algunos antígenos de *T. vaginalis*.

En conclusión, estos datos sugieren que es posible implementar un método de diagnóstico para detectar anticuerpos en suero y/o proteínas de *T. vaginalis* en lavados vaginales para la identificación de las pacientes con vaginitis por trichomonosis activa.



**Figura 5.- Anticuerpos anti-proteínas de *T. vaginalis* en sueros de pacientes.** Inmunoelectrotransferencia en membranas de nitrocelulosa conteniendo un extracto de proteínas totales del aislado CNCD 188 de *T. vaginalis* incubadas con los sueros humanos de la figura anterior. Líneas 1 y 2, suero preinmune de ratón (SNR) como control negativo y suero de ratón anti-*T. vaginalis* (SRα Tv) como control positivo, respectivamente. Líneas 3-11, [SHTv (+)] sueros de pacientes con trichomonosis clínica confirmada por cultivo *in vitro*; Líneas 12-20, [SHTv (-)] sueros representativos de pacientes con trichomonosis clínica cultivo-negativos; Líneas 21-23, (SNH) sueros representativos de personas sanas utilizados como controles negativos. kDa muestra la posición de los marcadores de tamaño molecular.



## Agradecimientos

Este trabajo se realizó en el Departamento de Patología Experimental del CINVESTAV-IPN, México con el apoyo de los donativos 25572-N y 33044-M de CONACYT a la Dra. Rossana Arroyo. El estudiante M. en C. Rodolfo Hernández Gutiérrez es becario del CONACYT y este trabajo es parte de su tesis de doctorado. Agradecemos profundamente a los miembros del laboratorio (Dra. Ma. Elizabeth Álvarez-Sánchez, M. en C. Josefina León Félix, M. en C. Verónica Moreno-Brito, Bióloga Mónica González Lázaro y Q.F.B. Leticia Ávila-González) quienes participaron en la recolección de las muestras biológicas de pacientes que acudieron al Centro Nacional de Clínicas de Displasias del Hospital General de México utilizadas en este trabajo.

## Referencias

- Cotch MF, Pastorek J, Nogent R. *Trichomonas vaginalis*, associated with low birth weight and preterm delivery. *Sex Trans Dis* 1997; 24: 353-360.
- Szarka K, Temesvari P, Kerekes A, Tege A, Repkeny A. Neonatal pneumonia caused by *Trichomonas vaginalis*. *Acta Microbiol Immunol Hung* 2002; 49: 15-19.
- Petrin D, Delgaty K, Bhatt, Garber G. Clinical and microbiological aspects of *Trichomonas vaginalis*. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11: 300-317.
- Laga M, Manoca A, Kivuvu M, Malele B, Tuliza M, Nzila N, et al. Non-ulcerative sexually transmitted diseases as risk factors for HIV-1 transmission in women: results from a cohort study. *AIDS* 1993; 7: 95-102.
- Nzila N, Laga M, Thiam MA, Mayimona K, Edidi B, Van Dyck E, et al. HIV and other sexually transmitted diseases among female prostitutes in Kinshasa. *AIDS* 1991; 5: 715-721.
- Zhang Z, Begg CB. Is *Trichomonas vaginalis* a cause of cervical neoplasia? Results from a combined analysis of 24 studies. *Int J Epidemiol* 1994; 23: 682-690.
- Boletín de Vigilancia Epidemiológica; Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica 1996-2003.
- Alderete JF, Newton E, Dennis C, Neale KA. The vagina of women infected with *Trichomonas vaginalis* has numerous proteinases and antibody to trichomonad proteinases. *Genitourin Med* 1991a; 67: 469.
- Alderete JF, Newton E, Dennis C, Neale KA. Antibody in sera of patients infected with *Trichomonas vaginalis* is to trichomonad proteinases. *Genitourin Med* 1991b; 67: 331.
- Diamond LS. The establishment of various trichomonads of animals and man axenic cultures. *J Parasitol* 1957; 34: 488-490.
- Laemmli U K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970; 227: 680-685.
- Álvarez-Sánchez ME, Ávila-González L, Becerril-García C, Fattel-Facenda L, Ortega-López J, y Arroyo R. A novel cysteine proteinase (CP65) of *Trichomonas vaginalis* involved in cytotoxicity. *Microb Path* 2000; 28: 193-212.
- Harlow E, Lane D. Antibodies: a laboratory manual. New York: Cold Spring Harbor Laboratory; 1988. p. 53-137.
- Mendoza-López R, Becerril-García C, Fattel-Facenda LV, Ávila-González L, Ruiz-Tachiquín ME, Ortega-López J, Arroyo R. CP30, a Cysteine proteinase involved in *Trichomonas vaginalis* cytoadherence. *Infect Immun* 2000; 68: 4907-4912.

