

---

# Associação da infecção por *Trichomonas vaginalis* Donné, 1836 (Trichomonadida: Trichomonadidae) com lesões pré-malignas e malignas do colo uterino

Virginia Frota de Matos<sup>1</sup>;  
Emanuelle Coelho de Paula<sup>2</sup>;  
Gislaine Manucci<sup>2</sup>

---

## 1. Introdução

A tricomoníase causada pelo protozoário *Trichomonas vaginalis* Donné, 1836 é uma doença sexualmente transmissível (DST) difundida pelo mundo, tanto nos países desenvolvidos como nos sócio-economicamente desfavorecidos. Dados demonstraram que a incidência anual é maior que 170 milhões de casos (WHO, 1995).

Esta doença tem importantes implicações médicas, sociais e econômicas. Mulheres que se infectam durante a gravidez estão predisposta a prematura ruptura de membrana placentária, trabalho de parto prematuro e recém-nascidos de baixo peso (HARDY *et al.*, 1984; MINKOFF *et al.*, 1984; COTCH, 1990).

A tricomoníase humana desperta cada vez mais atenção da comunidade científica na medida que parece conduzir à predisposição ao vírus da imunodeficiência humana – HIV (NZILA *et al.*, 1991; LAGA *et al.*, 1991; BUVE *et al.*, 2001; MOODLEY *et al.*, 2002).

Também ligados a tricomoníase estão a doença inflamatória pélvica atípica (HEIN & MCGREGOR, 1993), infertilidade (GRODSTEIN *et al.*, 1993) e o câncer cervical (GRAM *et al.*, 1992; KHARSANY *et al.*, 1993; ZHANG & BEGG, 1994).

1. Professora da disciplina de Citopatologia Clínica da Faculdade de Farmácia da UFRJ e professora convidada da FTESM; 2. Citologistas do Laboratório de Citopatologia Clínica da Faculdade de Farmácia da UFRJ.

O câncer cervical é a segunda causa de câncer em mulheres no mundo. Estima-se que a incidência em escala mundial seja cerca de 500.000 casos por ano, sendo a patologia responsável por 15% de todas as neoplasias invasoras diagnosticadas em mulheres (PARELLA & PEREYRA, 1998).

São considerados fatores de risco de câncer do colo do útero a multiplicidade de parceiros e história de infecções sexualmente transmitidas (daí a importância do estudo das alterações induzidas pela infecção por *T. vaginalis*); a idade precoce na primeira relação sexual e a multiparidade. Além desses fatores, estudos epidemiológicos sugerem outros, cujo papel ainda não é conclusivo, tais como tabagismo, alimentação pobre em alguns micronutrientes, principalmente vitamina C, beta caroteno e folato, e o uso de anticoncepcionais (PONTÉN *et al.*, 1995).

Estudos estatísticos mostraram forte associação de tricomoníase com câncer de colo uterino (FROST, 1962; BERGGREN, 1969; BERTINI & HORNSTEIN, 1970). MEISELS (1969) mostrou altos coeficientes de incidência desta interação: 39% das pacientes com tricomoníase tinham também displasia; 44% tinham Carcinoma *in situ*; 6,5% eram portadoras de Carcinoma microinvasor e 10,5% de Carcinoma invasor. BERTINI & HORNSTEIN (1970) encontraram mais frequentemente alterações celulares nos casos de tricomoníase persistente, e naqueles associados a lesões no epitélio escamoso da cérvix.

Por meio dos estudos da história natural do carcinoma do colo uterino, chegou-se ao consenso de que justamente no período da adolescência e da vida sexual ativa existem as maiores condições de instalação e desenvolvimento de atipias celulares devido à atividade biológica máxima da matriz celular cervical que, mais tardiamente, poderá evoluir para a formação de lesões neoplásicas propriamente ditas (ROTKIN, 1973; BRINTON & FRAUMENI, 1986).

Desde a década de 50, vários estudos já tinham despertado o interesse sobre as modificações citológicas no trato genital feminino ocasionado pelo *T. vaginalis* nos quais se indagavam sobre a potencialidade do parasito em provocar alterações pré-malignas e/ou malignas ou se o parasito era apenas oportunista nas lesões já existentes (SCAPIER *et al.* 1952; KOSS & DURFEE, 1955; SIMON *et al.*, 1956).

Um dos indícios da associação entre tricomoníase e câncer cervical é a presença, no soro de pacientes com câncer, de alto teor de anticorpos para *T. vaginalis* (YAP *et al.*, 1995). No entanto, o perfil epidemiológico

sugere que os agentes etiológicos são diversos patógenos genitais: *Papilomavírus Humano* (HPV), *Herpes simplex* (HSV) tipo 2, *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis* e *Gardnerella vaginalis*, provavelmente agindo sinergisticamente (BERGGREN, 1969; GONÇALVES, 1992).

BECHTOLD & REICHTER (1952) atribuíram ao protozoário a habilidade de produzir alterações epiteliais semelhantes a displasias e Carcinoma *in situ*. E relataram também que estas lesões apresentaram regressões espontâneas antes de qualquer tipo de tratamento medicamentoso, biópsia ou conização.

BERGGREN (1969) em sua experiência clínica com mulheres da cidade de Östergötland - Suécia, diagnosticou 7,4% de casos de infecção por *T. vaginalis*, a frequência de tricomoníase foi de 29,3% em lesões pré-invasivas e 29,8% nas invasivas e concluiu que a relação existente entre o parasito e as lesões estava relacionada ao fato de que o protozoário encontrava no tecido lesado, condições favoráveis de crescimento e ainda alegou que o comportamento sexual e os hábitos de higiene poderiam ser considerados fatores predisponentes.

A associação entre as doenças malignas humanas e os distúrbios inflamatórios crônicos inclui a incidência aumentada em alguns tipos de câncer. O estímulo crônico do crescimento induzido pelos fatores de crescimento liberados pelas células pode ter um papel na carcinogênese destas doenças. Outros fatores incluem o dano químico ou mutação induzida por radicais livres produzidos pelas células inflamatórias, um agente oncogênico infeccioso ou outros fatores desconhecidos que podem ter levado ao distúrbio inflamatório crônico (HENRY, 1995).

Com o objetivo de se elucidar se o *T. vaginalis* é um agente causador ou oportunista de lesões pré-malignas ou malignas do trato genital feminino foi proposto um estudo através de levantamento bibliográfico para esclarecer esta correlação.

## 2. Objetivos

Verificar, através de revisão bibliográfica, se a presença de *Trichomonas vaginalis* em mulheres com lesões pré-malignas e malignas do trato genital feminino é um fator causal ou oportunista, uma vez que na literatura pertinente, foram relatadas que em pacientes em determinadas fases do câncer cérvico-uterino tinham uma maior incidência de tricomoníase.

### 3. Material e métodos

Foram revisados artigos e periódicos publicados em revistas especializadas em: Análises Clínicas, Ginecologia e Epidemiologia.

### 4. Resultados

A tricomoníase é uma doença de distribuição mundial, e embora os verdadeiros coeficientes de incidência sejam desconhecidos, estima-se que seja a doença sexualmente transmissível mais comum (HAMMILL, 1989).

BROWN (1972) afirmou que pelo menos 180 milhões de pessoas por ano são infectadas por *T. vaginalis*, mundialmente, enquanto mais de 2,5 milhões de casos novos surgem por ano nos EUA e 1.200.000 no Reino Unido (NAGUIB *et al.*, 1966). HONINGBERG (1978) estimou que esses valores estavam muito abaixo dos verdadeiros. PERL (1982) concordou com esta afirmação em um estudo onde mostrou que a citologia, segundo Papanicolaou, era uma fonte de erros no diagnóstico de tricomoníase. Segundo a autora o diagnóstico baseado somente neste exame pode atingir até 48,4% de erros, no que implica em dizer que a incidência de *T. vaginalis* é muito maior do que aquela observada na clínica diária. Conseqüentemente, há aumento na incidência de displasias e, a longo prazo, no desenvolvimento de lesões neoplásicas (JIVOREC & PETRI, 1968).

No Brasil, poucos estudos foram realizados sobre o assunto, e os dados obtidos são ainda referentes a estudos preliminares. LEITZKE *et al.*, (1979), pesquisando a eficácia do tinidazol, encontraram o parasita em 27% das mulheres que procuraram o Posto de Prevenção do Câncer ginecológico na Escola Paulista de Medicina.

TAFURI & RASO (1991) analisaram 100.000 exames citopatológicos realizados no período de 5 anos, e concluíram que na região de Belo Horizonte, a incidência da doença variou de 3,96 a 8,43% ao ano, sendo que os maiores índices da infecção ocorreram no outono (30,86%) e foram menores na primavera (21,32%), delineando claramente um comportamento sazonal da infecção, e concordando com JIVOREC & PETRI (1968), que observaram a existência de um pico infeccioso anual da tricomoníase no outono.

Vários estudos demonstraram que a variabilidade entre as cepas pode repercutir na virulência do agente, nas propriedades antigênicas e até

na distribuição geográfica, culminando assim em sérias implicações epidemiológicas (HOGUE, 1943; KOTT & ADLER, 1961; FARRIS & HONIGBERG, 1970; KRIEGER *et al.*, 1985). Com o advento do metronidazol, surgiram casos de resistência à droga (ROBINSON, 1962) que por sua vez, contribuíram para aumentar a diversidade entre as cepas do parasito.

Evidências indicam que a tricomoníase é quase que exclusivamente transmitida por meio de relações sexuais (GALLAI & SYLVESTRE, 1966; CATERALL, 1972). Uma vez que o *T. vaginalis* pode sobreviver fora do organismo humano, há especulações sobre a existência de uma via de transmissão não sexual, apesar de até então não haver confirmações a respeito. Pode-se citar como exemplo a tricomoníase neonatal em meninas, adquirida provavelmente via canal de parto, porém teoricamente fadada a ser autolimitada (LOSSICK, 1990). Outra ocorrência, descrita por McLAREN *et al.* (1983), relatam o caso de dois recém-natos com pneumonia, nascidos de parto vaginal, nos quais o *T. vaginalis* foi isolado em secreções respiratórias onde nenhum outro patógeno foi isolado. Os autores sugeriram que a pneumonia tenha sido transmitida via canal do parto.

No homem, o quadro clínico da tricomoníase permanece controverso, uma vez que a grande maioria dos homens são assintomáticos. Alguns autores acreditam que eles atuam como vetores na transmissão da doença para mulheres (HOLMES *et al.*, 1975; MARDH & COLLEEN, 1975; MEARS, 1980). No entanto, pesquisadores europeus reconhecem que o *T. vaginalis* seja responsável por uma parcela significativa de prostatite e uretrite não-gonocócica, assim como balanopostite, epididimite, constrição uretral e raramente infertilidade (KRIEGER, 1981; LANGLEY, GOLDSMITH, DAVIES, 1987).

JIVOREC & PETRI (1968) demonstraram que a infecção por *T. vaginalis* desencadearia modificações na flora microbiana do trato genital, porém alguns autores discordaram desta afirmativa (TERAS *et al.*, 1966). Aqueles que acreditaram que esta alternativa era correta afirmavam que o baixo pH vaginal, mantido às custas da produção ácida dos lactobacilos locais, inibe em parte a instalação do *T. vaginalis*, e que a ausência deste predispõe à tricomoníase. Este dado forneceu sustentação teórica para o desenvolvimento de tratamentos à base da restauração do pH ácido vaginal, e também por meio do estímulo ao crescimento de microorganismos ácido-produtores (FORGAN, 1972).

O *T. vaginalis* apresenta alta especificidade de localização. Este é capaz de produzir infecção somente no trato urogenital humano, pois não se instala na cavidade bucal ou intestinal (DI CARLI, 2000).

WIELD & KEAN (1956) sugeriram com seus experimentos que tecidos lesados podem funcionar como um importante fator de sobrevivência para *T. vaginalis*.

Estudos histológicos da cérvice uterina durante a cervicite por *T. vaginalis* demonstram que ele pode atacar diretamente o epitélio escamoso e que este responde com exagerada vascularização, seguida de papilite, edema, erosão de camadas superficiais e necrose. A denominada “cérvice em morango” corresponde à observação clínica da marcada distinção dos vasos sanguíneos superficiais e focos hemorrágicos cervicais como é visto no material histológico. Parece, portanto haver um padrão vascular específico no epitélio escamoso da cérvice durante a infecção por *T. vaginalis* (KOLSTAD, 1964; KOSS, 1992).

Estudos recentes têm demonstrado que a vagina parece possuir ambiente redutor adequado para a ativação das proteinases cisteínicas do parasito, fato este que auxilia na compreensão da resistência ou susceptibilidade para a infestação comumente relacionada a mulheres jovens, e entre homens e mulheres sintomáticas ou não (ALDERETE & PROVENZANO, 1997).

O processo patogênico do *T. vaginalis* envolve a degradação do esqueleto da membrana alvo. A espectrina, proteína mais representativa do esqueleto celular, tem sido identificada como molécula alvo para tal degradação (FIORI *et al.*, 1997).

A resposta imunológica do hospedeiro para o *T. vaginalis* é tanto humoral quanto celular, e ambos os leucócitos polimorfonucleares e macrófagos fagocitam o microrganismo (MONTOVANI, 1981). A reinfestação pode ocorrer, pois não há desenvolvimento de imunidade duradoura após a infestação aguda.

Algumas proteínas encontradas no glicocálice do parasita são provenientes do hospedeiro. A cobertura das superfícies parasitárias com moléculas originárias do meio vaginal provavelmente representa um artifício pelo qual, fatores imunes locais são efetivamente neutralizados, permitindo assim a sobrevivência do agente infeccioso em situações hostis, tais como a infecção inicial ou mesmo durante a menstruação (PETERSON & ALDERETE, 1982). O próprio sangramento resultante da infecção por *T.*

*vaginalis* parece promover o protozoário de uma fonte permanente de proteínas plasmáticas (HONIGBERG, 1978). Questionam-se se as proteínas plasmáticas do hospedeiro, ligadas forte ou fracamente aos parasitas vivos, fornecem um mecanismo pelo qual tricomonádídeos podem se evadir dos sistemas de vigilância imunológica do aparelho urogenital (PETERSON & ALDERETE, 1982).

Sabe-se que a superfície celular em procariotos e eucariotos exerce papel importante na relação destes com o ambiente em que se encontram. Em particular, na porção da superfície mais projetada ao ambiente extracelular onde se encontram os oligossacarídeos presentes em glicoproteínas e glicolípídeos, os quais estão, por sua vez, intimamente envolvidos nos processos de reconhecimento e adesão celulares. Em decorrência, a superfície celular por intermédio dos seus oligossacarídeos – o glicocálice – deve envolver-se na instalação do parasita no hospedeiro.

ALDERETE & GARZA (1985) identificaram glicoproteínas na superfície celular de *T. vaginalis*, com capacidade antigênica e, por vezes, até mesmo imunogênica.

O estudo da superfície celular além de caracterizar as variedades antigênicas existentes neste protozoário, permite o conhecimento da biologia desse organismo, por meio da qual eles habilitam-se às ações citopáticas.

ALDERETE (1983) demonstrou perfis de complexo originários de superfícies celulares de várias amostras de *T. vaginalis*, através de eletroforese em gel de poliácridamida que indicaram a presença de proteínas de peso molecular de 20 Kda a 200 Kda, potenciais imunógenos do parasita, inicializando desta maneira o estudo sobre cepas patogênicas.

ALDERETE *et al.* (1986) relataram que amostras de *T. vaginalis* recém coletadas de pacientes, e outra de crescimento laboratorial prolongado quando testadas foram evidenciados dois fenótipos do protozoário onde se destacou a presença de glicoproteínas em sua superfície celular e o segundo tipo sem ela. É importante considerar que ambos os fenótipos produzem esta glicoproteína, porém aqueles com fenótipo negativo para ela sintetizam-na em níveis mais baixos dos que os parasitas com fenótipo positivo.

Estudos mais detalhados ainda se fazem necessários para que se esclareça melhor este aspecto. O que está estabelecido até então é que existe uma relação direta entre incidência de ruptura das células escamosas, *in vitro*, através de mecanismos contato-dependente, proporcional a cada um dos fenótipos.

Esta pesquisa se estende para outro trabalho de ALDERETE (1988), no qual os dois subtipos de *T. vaginalis* supracitados foram novamente avaliados, com o conhecimento prévio de que aqueles com fenótipo negativo são potencialmente mais patogênicos do que aqueles com fenótipos positivos. Citoaderência e citotoxicidade foram os dois atributos de virulência mais importantes.

A questão da citoaderência parece estar relacionada a outro grupo de proteínas de superfície conhecidas como adesinas. Estas proteínas podem estar presentes ou não em cada fenótipo anteriormente citados por ALDERETE (1988). Porém pesquisas com isolados recém coletados de pacientes sugerem que quase 80% deles são representados por fenótipo negativo estável para glicoproteína e positivo para adesinas (ALDERETE *et al.*, 1987).

#### **4.1. Diagnóstico citológico**

##### *4.1.2. Avaliação laboratorial em preparações coradas - Reconhecimento do parasito no esfregaço*

Com relação à coloração de Papanicolaou, alguns autores consideram-na inútil para o diagnóstico do *T. vaginalis* (PERL, 1972; GARDNER, 1981). Embora, a sensibilidade do método varia a cada série publicada na literatura (de 30 até 90%), similar aos resultados obtidos com o exame a fresco (PERL, 1972; HIPP *et al.*, 1979; REIN, 1990). KRIEGER *et al.* (1988) atribuíram estas diferenças de sensibilidade às variações na prevalência da moléstia, atingindo 88% nas populações de alta prevalência. McLENNAN, SMITH, McLENNAN (1972) ressaltam o rigor do senso crítico ao se detectar *T. vaginalis* pelo método de Papanicolaou, pois ele pode ser confundido com várias outras estruturas celulares do meio.

Na coloração de Papanicolaou, o protozoário se apresenta cinza-esverdeado, oval ou piriforme, com grânulos citoplasmáticos vermelhos e núcleos em “olho Mongol” (McKEE, 2001).

Pode se apresentar isoladamente ou em grupamentos ao redor de células intermediárias, formação esta denominada banquete (CARVALHO, 2002).

Devido às constantes interpretações errôneas, é necessário diferenciá-lo de células degeneradas, principalmente, a célula endocervical (KOSS & WOLINSKA, 1959).

### 4.1.3. Alterações inflamatórias

Observa-se aumento acentuado de leucócitos polimorfonucleares, no qual os polimorfos rodeiam as células dando uma aparência de “bala de canhão”. Atraídos para o epitélio lesado pelo parasito através de quimiotaxia (movimento direcional) e quimiocinética (movimento não direcional). Ocasionalmente, também podem ser observados, histiócitos, células plasmáticas e linfócitos (MASSON & FORMAM, 1982).

A presença de exsudato inflamatório está intimamente ligada às alterações nas células epiteliais no esfregaço. Através de observações histológicas, essas alterações atingem primeiramente o epitélio de células escamosas e raramente células endocervicais (KOSS & WOLINSKA, 1959).

#### 4.1.3.1. Alterações nas células superficiais e intermediárias

Halos perinucleares: constituído por uma zona clara no citoplasma que rodeia o núcleo de forma uniforme e que não se cora pelos métodos usuais de coloração. São observados em cerca de 60% dos esfregaços com infecção pelo *T. vaginalis* (KOSS & WOLINSKA, 1959).

Excessiva eosinofilia citoplasmática: provavelmente esta alteração ocorra devido à modificação do pH vaginal que se torna mais alcalino na presença do protozoário (HUNTER & LONG, 1958).

Alteração do tamanho do núcleo (1,5 a 2 vezes o normal), binucleação, picnose e cariorrexe são comumente observadas devido à injúria causada pelo protozoário (BONFIGLIO & EROZAN, 1997; KOSS & GOMPEL, 1997).

Citólise: fenômeno freqüente de degradação citoplasmática que pode ser observado sob circunstâncias fisiológicas em esfregaços na fase pré-menstrual. Na presença do parasito, este fenômeno ocorre em 20% das pacientes durante todo o ciclo menstrual acompanhado de bactérias Gram positivas (bacilos de Döderlein). Esta citólise e o exsudato purulento anteriormente mencionado contribui para a aparência “suja” do esfregaço (KOSS & WOLINSKA, 1959).

#### 4.1.3.2. Alterações nas células parabasais

Marcado aumento de células parabasais, especialmente em mulheres jovens, sugerindo falsa atrofia. Já na pós-menopausa, a falsa eosinofilia e o incremento de células parabasais podem sugerir erroneamente estimulação estrogênica (KOSS & WOLINSKA, 1959).

CARVALHO (2002) enfatizou sobre os cuidados especiais que devem ser tomados em relação à irregularidade de contorno de membrana

nuclear que aparecem em processos inflamatórios acentuados, especialmente em infecções por *T. vaginalis* que são freqüentemente visualizadas em células parabasais que podem conduzir erroneamente ao diagnóstico de Carcinoma *in situ*.

Comumente são encontrados em associação com o *T. vaginalis* microrganismos anaeróbios, filamentosos, não ramificados, muito longos, Gram negativos, denominados *Leptotrix vaginalis* (BIBO & WIED, 1988).

#### 4.1.3.4. Alterações do epitélio cilíndrico

Ocasionalmente, podem ocorrer anormalidades em células endocervicais. KOSS & WOLINSKA (1959) relataram em seus estudos atipias em células endocervicais, mas nenhuma dessas tinham revelado ser significativamente representativa de lesão endocervical pelos estudos histológicos.

### 4.2. O *Trichomonas vaginalis* como causador de lesões pré-malignas e malignas

Devido a freqüente associação entre *Trichomonas vaginalis* e câncer cervical, alguns autores acreditam que a tricomoníase em casos crônicos, provoque lesões pré-malignas e malignas na cérvix uterina (SILVEIRA *et al.*, 2000).

Estudo soro-epidemiológico, realizado em Singapura, demonstrou uma associação significativa do protozoário e câncer cervical, onde foi registrada uma maior prevalência de anticorpos para este parasita no soro de pacientes com câncer cervical, comparados com indivíduos hígidos de controle. O aumento maior do número de anticorpos reflete uma invasão ativa do parasita que pode promover malignidade (YAP *et al.*, 1995).

O efeito citopático do *T. vaginalis* é mediado por um contato fechado entre o parasita e a superfície epitelial. Esse contato libera substâncias, tais como, o fator de separação celular (FSC) e uma variedade de proteinases, as quais são importantes na progressão de carcinomas celulares escamosos e metástases (YAP *et al.*, 1995).

Algumas linhagens patogênicas do *T. vaginalis* têm sido responsabilizadas em induzir a imuno-supressão com a possível ativação de vírus carcinogênico (SILVEIRA *et al.*, 2000).

A associação entre *T. vaginalis* e HPV deve ser determinada desde que os riscos relativos com o carcinoma cervical sejam comparados. De qualquer forma o protozoário é meramente, um marcador subordinado

da exposição do HPV, influenciado pela vida sexual promíscua os quais são os principais fatores epidemiológicos encontrados (YAP *et al.*, 1995).

Segundo MEISSEL (1986), em uma série de 63.870 pacientes examinadas para investigação de câncer, houve uma correlação entre a presença de *T. vaginalis* e atipias celulares. Observou ainda que a incidência de metaplasia escamosa, hiperplasia endocervical, displasia e carcinoma *in situ* estavam significativamente aumentadas em pacientes infectados.

MEKKI & IVIC (1979) em seus estudos sobre morfologia do protozoário, observaram que o tamanho do *T. vaginalis* em pacientes com displasia e carcinoma da cérvix em 100 casos controles com tricomoníase mostrou que os parasitas são de um diâmetro significativamente menor em Carcinoma *in situ* ( $9,57 \pm 0,35 \mu\text{m}$ ) e carcinoma invasivo ( $10,44 \pm 0,66 \mu\text{m}$ ) que em displasias ( $13,71 \pm 0,35 \mu\text{m}$ ). A análise estatística demonstrou que existia diferença significativa. No grupo controle com parasito isolado, o diâmetro do protozoário era duas vezes maior ( $21,46 \pm 0,66 \mu\text{m}$ ) em carcinoma que na displasia. Isto indica que as formas pequenas de *T. vaginalis* são mais patogênicas que as maiores e poderia ser um dos agentes mais patogênicos que as maiores e poderia ser um dos agentes causais da transformação atípica do epitélio escamoso da cérvix uterina.

O protozoário está associado com imunossupressão humana: com a presença de N-nitrosaminas na região cervical, ocorre alta toxicidade nas células cervicais que induz a formação de epitélio atípico (ZHANG & BEGG, 1994).

Quanto à terapêutica, constatou-se um aumento em relatos de câncer tanto em morbidade quanto mortalidade em pessoas expostas ao metronidazol, droga comumente usada no tratamento da infecção e importante causador de câncer no pulmão e linfomas em ratos (ZHANG & BEGG, 1994).

#### **4.3. *Trichomonas vaginalis* como agente oportunista em lesões pré-malignas e malignas**

Segundo KOSS & WOLINSKA (1959) não existe relação causal direta da tricomoníase e lesões malignas do colo uterino, no entanto, é frequente esta associação. É lógico pensar que o tecido lesado favoreça o crescimento do protozoário. Quanto ao mecanismo, é sugestivo pensar em inflamação crônica produzida pelo parasita ocasionando irritação crônica celular, em particular susceptível a agentes oncogênicos. É certo, que após o

tratamento da inflamação por *T. vaginalis*, as atípicas em sua grande maioria desaparecem.

Vale ressaltar que esta afirmativa pode ser falsa quando a tricomoníase esteja associada a outro patógeno, tal como o HPV, agente etiológico conhecido de neoplasia cervical (SILVEIRA *et al.*, 2000).

O parasita por si só, pode causar inflamação e infecção na cérvix, provocando alterações nas células epiteliais que se apresentam irregulares, cariomegálicas, com núcleo hipercromáticos com características malignas encaminhando o diagnóstico erroneamente para o carcinoma *in situ* (ZHANG & BEGG, 1994).

TERZANO *et al* (1956) chamaram a atenção sobre a possibilidade de confundir processos de displasias, comuns na tricomoníase, com sinais citológicos de câncer cervical.

Segundo CARVALHO (2002) é muito comum encontrar displasias leves associada a processos inflamatórios de natureza e de intensidades variados. De qualquer maneira aconselha-se o tratamento cuidadoso do paciente e a repetição do esfregaço alguns dias depois de terminada a terapia.

Deve ser enfatizado que pacientes em algumas das fases de câncer cérvico-uterino, incluindo o Carcinoma *in situ*, tem uma maior incidência de infestação por *T. vaginalis* do que a população normal, que pode ser justificada pelo fato de que a injúria das lesões pré-neoplásicas ou neoplásicas favorecem o crescimento do parasita, tornando possível que a tricomoníase e lesões pré-cancerosas possam co-existir. O processo de carcinogênese do colo uterino não depende da presença ou ausência do protozoário, fato este demonstrado no estudo de KOSS & WOLINSKA (1959).

## 5. Discussão

Devido a freqüente associação entre câncer cervical e tricomoníase, alguns autores acreditam que o parasita é um agente causador de uma simples inflamação, outros por sua vez, levantam a possibilidade deste parasita ser um agente etiológico de lesões pré-malignas e de possível evolução para câncer cervical.

Mediante esta controvérsia, observou-se que alguns autores concordam com a hipótese de que o *Trichomonas vaginalis* possa ser um agente causador de câncer do colo uterino, tendo em vista ser detectado a

presença de anticorpos do parasita em questão, no soro de pacientes com câncer cervical, como também, fatores de separação celular (FSC) (YAP *et al.*, 1995), que favorecem a evolução do câncer, além da observação de que algumas linhagens com menor tamanho são mais patogênicas, induzindo à imunossupressão e servir de porta de entrada para vírus oncogênico (MEKKI & IVIC, 1979).

Por outro lado, a grande maioria dos pesquisadores acredita ser o tecido com lesões malignas um meio de crescimento que favorece a infecção por *T. vaginalis* (KOSS & WOLINSKA, 1959). As intensas inflamações no epitélio vaginal, com formação de células atípicas podem mimetizar lesões pré-malignas e que a droga utilizada para combater o parasita, o metronidazol, em estudos experimentais em animais experimentais poderia ser um agente carcinogênico (ZHANG & BEGG, 1994).

Ao analisar a literatura pertinente, observamos a necessidade de uma investigação mais detalhada à longo prazo em diferentes grupos de estudo, *in vivo* e *in vitro*, sobre a interação do protozoário com as células hospedeiras.

Estes estudos deveriam ser acompanhados tanto clinicamente como em pesquisa de base, onde alguns fatores seriam relevantes para a compreensão da importância do *T. vaginalis* na epidemiologia do Câncer do colo uterino. Dentre estes fatores, podemos destacar as seguintes linhas de pesquisa:

Casuística clínica quanto ao comportamento de risco. Como é sabido, os aspectos sexuais e a patologia cervical estão intimamente relacionados, sendo o início precoce da atividade sexual um dos agravantes para o seu desenvolvimento (ROTKIN, 1967; BRINGTON & FRAUMENI, 1986) e paralela a esta circunstância encontram-se a frequência da atividade sexual e o número de parceiros (McLELLAN *et al.*, 1982);

Campanhas mais efetivas e esclarecedoras sobre a importância da periodicidade da realização do exame preventivo do câncer do colo uterino e acompanhamento das pacientes que tiveram a infecção. Principalmente as pacientes com história clínica de re-infecção. Conforme o observado por HONIGBERG & EWALT (1983) que diagnosticaram hiperplasia e metaplasia escamosa com vários graus de atipias em pacientes com re-infecção e em grupos experimentais onde foram administrados maiores inóculos de *T. vaginalis*;

Período de infecção. GONÇALVES (1992) afirmou que em grupos experimentais, aqueles com infecção crônica, manifestaram alterações

celulares devido a alterações na atividade celular em detrimento às alterações do tipo degenerativas, comuns em processos inflamatórios;

Interação com outros agentes etiológicos de infecções;

Estudo bioquímico das diferentes cepas. Sabe-se que o grau de invasividade de algumas cepas pode ser devido a atividade proteolítica e glicosídica do protozoário (ALDERETE *et al.*, 1991);

Estudo sobre potencial eletrocínético de superfície celular que tem relação direta com a adesão parasitária na célula hospedeira (SILVA FILHO *et al.*, 1986);

Estudo da composição química da superfície celular parasitária, uma vez que estas substâncias estão intimamente relacionadas a antigenicidade do protozoário.

## 6. Conclusões

1. A freqüente co-existência de *T. vaginalis* com lesões cervicais pré-malignas e malignas, tem uma possível correlação de causa e efeito, uma vez que a detecção de anticorpos do parasita em pacientes portadoras de câncer cervical é elevada, podendo ser um indício que as lesões podem ter sido provocada pelo parasita.

2. Foi observado que o tecido lesado pode funcionar como um importante fator de sobrevivência para o *T. vaginalis*, favorecendo o crescimento deste protozoário e conseqüentemente sua elevada presença em mulheres com câncer cervical.

3. Nos casos em que as alterações nucleares associadas à infecção por *T. vaginalis* forem mais severas, e a distinção com lesões intraepiteliais ser mais difícil, é apropriado classifica-las como células escamosas de significado indeterminado. Nestes casos, deve ser indicado um exame citológico após tratamento da infecção, isto porque as alterações celulares associadas à tricomoníase revertem ao normal com a resolução do processo inflamatório.

4. Necessidade de maiores estudos à longo prazo das infecções *in vivo*, e estudos sobre interação parasito-hospedeiro no que concerne sobre sua relação com outros patógenos, virulência, cepas, potencial eletrocínético de superfície celular à fim de um completo esclarecimento sobre a importância do *T. vaginalis* na epidemiologia do Câncer do colo uterino. ◆

## 7. Referências

- ALDERETE, J.F. Identification of immunogenic and antibody-binding membrane protein of pathogens *T. vaginalis*. *Infect. Immun.*, **40**: 284-291, 1983.
- ALDERETE, J.F. & GARZA, G.E. Identification and properties of *Trichomonas vaginalis* proteins involved in cytoadherence. *Infect. Immun.*, **56**: 28-33, 1985
- ALDERETE, J.F. Alternating phenotypic expression of two classes of *Trichomonas vaginalis* surface markers. *Rev. Inf. Dis.*, **10 (suppl.2)**: 408-412, 1988
- ALDERETE, J.F.; SUPRUN-BROWN, L.; KASMALA, L. Monoclonal antibody surface glycoprotein differentiates isolates and subpopulations of *Trichomonas vaginalis*. *Infect. Immun.*, **52**: 70-75, 1986.
- ALDERETE, J.F.; DEMES, P.; GOMBOSONOVA, A.; VALENT, M.; A.; YANOSKA, A.; FABUSOVA, H.; GARZA, G.E.; METCALFE, E.C. Phenotypes and protein-epitope phenotypic variation among fresh isolate of *Trichomonas vaginalis*. *Infect. Immun.*, **55**:1037-1041, 1987.
- ALDERETE, J.F. & PROVENZANO, D. The vagina has inducing environment sufficient for activation of *Trichomonas vaginalis* cysteine proteinases. *Genitur. Med.*, **73(4)**: 291-296, 1997.
- BENCHIMOL, M. Estudo da organização estrutural do *Trichomonas foetus*. Rio de Janeiro, 1984. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- BERCHOLD, E. & REICHER, N.B. Relationship of trichomonas infections to false diagnoses of squamous carcinoma of cervix. *Cancer*, **4**:12-15, 1952.
- BERGGREN, O. Association of carcinoma of uterine cervix and *Trichomonas vaginalis* infections: frequency of *Trichomonas vaginalis* in preinvasive and invasive cervical carcinoma. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **105**: 166-168, 1969.
- BERNFELD, W.K. A note on *Trichomonas vaginalis* and seminal fluid. *Brit. J. Vener. Dis.*, **48**: 144-145, 1972.

BERTINI, B. & HORNSTEIN, M. The epidemiology of trichomoniasis and the role of infection in the development of carcinoma of the cervix. *Acta Cytol.*, **14**: 325-332, 1970.

BIBO, M & WIED, G.L. Microbiology and inflammation of the female genital tract. In: Compendium on diagnostic cytology. 6 ed. Chicago, Tutorials of Cytology, p. 54-62, 1988.

BONFIGLIO, T.A. & EROZAN, Y.S. Gynecologic cytopathology. Philadelphia, Lippencott-Raven, 54-62, 1997.

BRAMLEY, M. & KINGHORN, G. Do oral contraceptives inhibit *Trichomonas vaginalis*? *Sex. Transm. Dis.*, **6**: 261-263, 1979.

BRINTON, L.A. & FRAUMENI, J.F. Epidemiology of uterine cervical cancer. *J. Chron. Dis.*, **39**: 1051-1065, 1986.

BROWN, M.T. Trichomoniasis. *Practitioner*, **209**: 639, 1972.

BURCH, T.A.; REES, C.W.; REARDON, L.V. Epidemiology studies on human trichomoniasis. *Am. J. Trop. Hyg.*, **8**: 312-318, 1959.

CARVALHO, G. Citologia do trato genital feminino. 4ª ed. Brasil, Atheneu, p. 346, 2002.

CATTERALL, R.D. Trichomonal infections of the genital tract. *Med. Clin. North Am.* **56**: 1203-1209, 1972.

CONSOLARO, M.E.L.; SUZUKI, L.E.; MARQUES, E.B.A. Estudo da tricomoníase e sua abordagem no diagnóstico colpocitológico. *Revi. Bras. Anal. Clin.* 31(1): 25-28, 1999.

COTCH, M.F. Carriage of *Trichomonas vaginalis* (TV) is association with adverse pregnancy outcome, abst. 681: 199. In Program and abstract of the 30<sup>th</sup> Interscience Conference on Antimicrobial Agents and chemotherapy. American Society for Microbiology, Washington, D.C. 1990.

DALY, J.J.; SHERMAN, J.K.; GREEN, L.; HOSTETLER, T.L. Survival of *Trichomonas vaginalis* in human semen. *Genitourin. Med.*, **65**: 106-108, 1989.

DESAI, Z.D.; VAISHNAV, V.P.; ANKLESHWARIA, S.B. *J. Postgrad. Méd.*, **12**: 91, 1966.

DI CARLI, G.A. Trichomonas. In: Neves, D.P.; MELO, A.L.; GENARO, O.; LINARDI, P.M. *Parasitologia Humana*. 10<sup>a</sup> ed. Atheneu. São Paulo. 2000.

DONNÉ, M.A. Animacules observes dans les matieres purulentes et le produit des secretins des orgenes genitiaux de homme et de la femme. *C.R. Acad. Sci.* **3**: 385-386, 1836.

DUNKELBERG, W.E.; SKAGGS, R.; KELLOGG, J.D.S.; DOMESCIK, G.K. Relative incidence of *Corynebacterium vaginale* (*Haemophilus vaginalis*), *Neisseria gonorrhoea* and *Trichomonas* spp, among women attending a venereal disease clinic. *Brit. J. Venr. Dis.*, **46**: 187-190, 1970.

FARRIS, V.K. & HONIGBERG, B.M. Behavior and pathogenicity of *Trichomonas vaginalis* in chick liver cell cultures. *J. Parasitol.*, **56**: 849-882, 1970.

FIORI, P.L.; RAPPELLI, P.; ADDIS, M.F.; MANNU, F.; CAPPUCINELLI, P. Contact-dependent desruption of the host cell membrane skeleton induce by *Trichomonas vaginalis*. *Infect. Immun.* **65**(12): 5142-5148, 1997.

FLEURY, F.J. Adult vaginitis. *Clin. Obstet. Gynecol.*, **24**: 407-438, 1981.

FORGAN, R. History of the trestment of trichomoniasis. *Brit. J. Venr. Dis.*, **48**: 522-524, 1972.

FOUTS, A.C & KRAUS, S.J. *Trichomonas vaginalis*: reevaluation of its clinical presentation and laboratory diagnosis. *J. Infet. Dis.* **141**:137-143, 1980.

FROST, J.K. *Trichomonas vaginalis* and cervical epithelial changes. *Am. N. Y. Acad. Scie.*, **97**: 792-799, 1962.

GALLAI, Z. & SYLVESTRE, L. The preset status of urogenital trichomoniasis: a general review of the literature. *Appl. Ther.*, **8**: 773, 1966.

GARDNER, H.L. Trichomoniasis. In: H.L. GARDNER; R.H. KAUFMAN (eds). *Benign disease of the vulva and vagina*. 2 ed. Boston: G.K. Hall, p. 243-272, 1981.

GARDNER, W.A.; CULBERSON, D.E.; BENETT, B.D. *Trichomonas vaginalis* in the prostate gland. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, **110**: 430-432, 1986.

GONÇALVES, M.A. G. Fatores envolvidos na patogênese do *Trichomonas vaginalis*: estudo preliminar para o desenvolvimento de novas terapêuticas. Tese de mestrado. Rio de Janeiro. Universidade Federal do Rio de Janeiro. p.123, 1992.

GRAM, I.; MACALUSO, M.; CHURCHIL, J.; STALSBERG, H. *Trichomonas vaginalis* and human papillomavirus (HPV) infection and the incidence of cervical intra-epithelial neoplasia (CIN) grade III. *Cancer causes Control* **3**:231-236, 1992.

GRODSTEIN, F.; GOLDSMAN, M.B.; CRAMER, D.W. Relation of tubal infertility to a history of sexually transmitted disease. *Am. J. Epidemiol.* **137**:577-584, 1993.

HAMMIL, H.A. *Trichomonas vaginalis*. *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.*, **16**: 531-541, 1989.

HARDY, P.H.; HARDY, J.B.; NELL, E.E.; GRAHAM, D.A.; SPENCE, M.R.; ROSEMBAUM, R.C. Prevalence of six sexually transmitted disease agents among pregnant inner-city adolescents and pregnancy outcome. *Lancet* **II**: 333-337, 1984.

HENRY, J.B. Diagnóstico clínico e tratamento por métodos laboratoriais, 18 ed. Manole. São Paulo. 1995.

HIPP, S.S.; KIRKWOOD, M.W.; GAAFAR, H.A. Screening for *Trichomonas vaginalis* infection by use of acridine orange fluorescent microscopy. *Sex. Transm. Dis.*, **6**: 235-238, 1979.

HOEHNE, O. *Trichomonas vaginalis* als Häufiger erregar einer typischen colpitis purulenta. *Zentralbl. Gynakol.*, **40**: 4-14, 1916.

HOGUE, M.J. The effect of *Trichomonas vaginalis* on tissue culture cell. *Am. J. Hyg.*, **37**: 145-152, 1943.

HOLMES, K.K.; HANDSFIELD, H.H.; WANG, S.P.; WENTWORTH, B.B.; TURCK, M.; ANDERSON, J.B.; ALEXANDER, E.R. Etiology of nongonococcal urethritis. *N. Engl. J. Med.*, **292**: 1199-1205, 1975.

HONIGBERG, B.M. Trichomonas of importance in human medicine. *In*: J.P. KREIER (ed). *Parasitic Protozoa*. New York, Academic Press, vol.2, p.275-454, 1978.

HONIGBERG, B.M. & BRUGEROLLE, G. Structure. *In*: HONIGBERG, B.M. Trichomonads parasitic in humans. Springer-Verlag. New York. 1990.

JIVOREC, O. & PETRI, M. *Trichomonas vaginalis* and trichomoniasis. *Adv. Parasitol.*, **6**: 177, 1968.

JUNIOR, W.B. Doenças sexualmente transmissíveis. 1 ed. São Paulo, Atheneu. 115 p., 2000.

KHARSANY, A.B.; HOOSEN, A.A.; MOODLEY, J.; BAGARATEE, J.; GOUWS, E. The association between sexually transmitted pathogens and cervical intra-neoplasia in a developing community. *Genitourin. Med.* **69**:357-360, 1993.

KOLDSTAD, P. The colposcopic picture of *Trichomonas vaginalis*. *Acta Obst. Gynecol. Scand.* **43**: 388-398, 1964.

KOSLOWSKA, D. & WICHROWSKA, B. The effect of chlorine its compounds used for disinfection of water on *Trichomonas vaginalis*. *Wiad. Parasitol.*, **22**: 433-435, 1976.

KOSS, L.G. & DURFEE, G.R. Cytological changes preceding appearance of in situ carcinoma of uterine cervix. *Cancer* **8**: 295-301, 1955.

KOSS, L.G. & WOLINSKA, W. *Trichomonas vaginalis* cervicites and its relationship to cervical cancer. *Cancer*, **12**(6):1171-1184, 1959.

KOSS, L.G. Diagnostic cytology and its histopathologic bases. 4<sup>a</sup> ed. Philadelphia. **I**: 345-347, 1992.

KOSS, L.G. & GOMPEL, C. Citologia ginecológica e suas bases anatomoclínicas, São Paulo, Manole. 200p., 1997.

KOTT, H. & ADLER, S. A serological study of *Trichomonas* sp parasite in man. *Tans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **55**: 333-344, 1961.

KRIEGER, J.N. Urologic aspects of trichomoniasis. *Invest. Urol.* **18**: 411-417, 1981.

KRIGER, J.N. & REIN, M.P. Zinc sensitivity of *Trichomonas vaginalis*: in vitro studies and clinical implications. *J. Infect. Dis.*, **146**: 341-345, 1982.

KRIEGER, J.N.; RAVDIN, J.I.; REIN, M.F. Contact-dependent cytopathogenic mechanisms of *Trichomonas vaginalis*. *Infect. Immun.*, **50**: 778-786, 1985.

KRIEGER, J.N.; TAM, M.R.; STEVENS, C.E.; NIELSEN, I.O. HALE, J.; KIVIAT, N.B.; HOLMES, K.K. Diagnosis of trichomoniasis: comparison of conventional wet-mount examination with cytologic studies, cultures and monoclonal antibody staining of direct specimens. *JAMA*, **259**: 1223-1227, 1988.

KRIEGER, J.N. Trichomonas in men: old issues and new data. *Sex. Tans. Diseas.* **22**: 83-96, 1995.

YAP, E.H.; HO, T.H.; CHAM, Y.C. Serum antibodies to *Trichomonas vaginalis* in invasive cervical cancer patients. *Geniturin*, **25**: 123-131, 1995.

LAGA, M.; NZILA, N.; GOEMAN, J. The interrelationship of sexually transmitted disease and HIV infection: implications for the control of both epidemics in Africa. *AIDS* **5** (suppl.1): S55-S63, 1991.

LANGLEY, J.G.; GOLDSMITH, J.M.; DAVIES, N. Veneral trichomoniasis: role of men. *Genitourin. Med.* **63**: 264-267, 1987.

LEVINE, N.D. A newly revised classification of the Protozoa. *Journ. Protozoology* **27**: 37-58, 1980.

LOSSICK, J.G. Epidemiology of urogenital trichomoniasis. In: B.M. HONIGBERG (ed). *Trichomonands parasitic in humans*. New York, Springer-Verlag, p. 31-323, 1990.

- McLENNAN, M.T.; SMITH, J.M.; McLENNAN, C.E. Diagnosis of vaginal mycosis and trichomoniasis: reliability of cytologic smear, wet smear and culture. *Obstet. Gynecol.*, **40**: 231-234, 1972.
- MARDH, P.A. & COLLEN, S. Search for uro-genital tract infections in patients with symptoms of prostatitis. *Scand. J. Urol. Nephrol.*, **9**: 8-16, 1975.
- MASSON, P.R. & FORMAM, L. Polymorphonuclear cell chemotaxis to secretions of pathogenic and nonpathogenic *Trichomonas vaginalis*. *J. Parasitol.*, **5**:34, 1982.
- McKEE, G.T. Citopatologia. São Paulo, Artes Médicas, 434 p., 2001.
- MEARS, J.E.J. Prostatitis syndroms: new perspectives about old woes. *J. Urol.*, **123**: 141-147, 1980.
- MEKKI, F. & IVIC, J. Significance of variations in size of *Trichomonas vaginalis* in patients with dysplasia intraepithelial and invasive planocellular carcinoma of the uterine cervix, *Jugost Ginekolo Opstet*, 1979.
- MINKOFF, H., GRUNEBaum, A.N.; SCHWAZ, R.H.; FELDMAN, J.; CUMMINGS, M.C.; CLARK, W.L.; PRINGLE, G.; McCORMACK, W.M. Risk factor for prematurity and premature rupture of membranes: a prospective study of the vaginal flora in pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **150**: 955-972, 1984.
- MONSONEGO, J. Spontaneous screening of cervical cancer: facts and arguments. Screening of cervical cancer for who, why and how? Experts Conference 2<sup>nd</sup> ed. International Congress of Papillomavirus in Human Pathology. Unesco. Paris. 1994.
- MONTOVANI, A. Cytotoxicity of human peripheral blood monocytes against *T. vaginalis*. *Clin. Exp. Immunol.* **46**:391-396, 1981.
- MOODLEY, P.; CONNOLLY, C.; STURN, A.W. Interrelationships among humans Immunodeficiency virus type infection, bacterial, vaginosis, trichomoniasis and the presence of yeasts. *J. Infect. Dis.*, **185**: 69-73, 2002.
- MÜLLER, M. The hydrogenosome. In: GOODWAY, G.W.; LOYD, D.; TRIRCI, A.P.J., eds. *The eukaryotic microbial cells*. Cambridge University Press, Cambridge. 127-143, 1980.

NAGUIB, S.M.; COMSTOCK, G.W.; DAVIES, H.J. Epidemiologic study of trichomoniasis in normal women. *Obstet. Gynecol.*, **27**: 607-616, 1966.

NICOLETTI, N. The problem of trichomoniasis of the lower genital tract in the female. *Br. J. Vener. Dis.* **37**: 222-228, 1961.

OVCINNIKOV, N.M.; DELEKTORSKY, V.V.; TURANOVA, E.N.; YASHKOVA, G.N. Further studies of *Trichomonas vaginalis* with transmission and scanning electron microscopy. *Brit. J. Ven. Dis.*, **51**: 357-375, 1975.

PARELLA, C.I. & PEREA, E.A.G. Fatores de risco para câncer cervical e seus precursores. *Rev. Bras. Colp.* **5**: 27-30, 1998.

PERL, G. Errors in the diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection as observed among 1199 patients. *Obstet. Gynecol.*, **39**: 7-9, 1972.

PESSOA, S.B.; MARTINS, A.V.; PESSÔA, A.V. Parasitologia Médica. 11 ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan. 48-53. 1982.

PETERSON, K.M. & ALDERETE, J.F. Host plasma proteins on the surface of pathogenic *Trichomonas vaginalis*. *Infect. Immun.*, **37**: 755-762, 1982.

PETRIN, D.; DELGATY, K.; BHATT, R.; GARBER, G. Clinical and microbiological aspects of *Trichomonas vaginalis*. *Microbiology Reviews*, **11**(2): 300-317, 1998.

PORTO, A.G.M. Infecções sexualmente transmissíveis na gravidez. Atheneu.2000.

POTÉN, J.; ADAMI, H.; BERGSTRÖM, R. Strategies for global control of cervical cancer. *Int. J. Cancer*, **60**: 1-6, 1995.

REIN, M.F. Clinical manifestation of urogenital trichomoniasis in women, p. 225-234. In HONINBERG, B.M. *Trichomonads parasitic in humans*. Springer-Verlag. New York. 1990.

ROBINSON, S.C. Trichomonal vaginitis resistant to metronidazole. *Can. Med. Assoc. J.*, **86**: 665, 1962.

- ROTKIN, I.D. A comparison review of key epidemiological studies in cervical cancer related to current searches for transmissible agents. *Cancer Res.*, **33**: 1353-1367, 1973.
- SILVA FILHO, F.C.; ELIAS, C.A.; DE SOUZA, W. Further studies on the surface charge of various strains of *Trichomonas vaginalis* and *Tritrichomonas foetus*. *Cell Biophys.*, **8**: 161-176, 1986.
- SCARPIER, J.; DAY, E.; DURFEE, G.R. Intraepithelial carcinoma of cervix, cytohistological and clinical study. *Cancer* **5**: 315-353, 1952.
- SEBEK, V. *Trichomonas pycsalpinx*. *Cesk Gynekol.* **37**: 14-15, 1972.
- STREET, D.A.; WELLS, C.; TAYLOR-ROBINSON, D.; ACKERS, J.P. Interection between *Trichomonas vaginalis* and other pathogenic microorganisms of the human genital tract. *Brit. J. Ven. Dis.*, **60**: 31-38, 1984.
- SIMON, T.R.; KOSS, L.G.; WOLINSKA, W. Trichomonas and its relation to cervical atypia. In *Transations of the First International Cancer Cytology Congress, Chicago III*. 233-236, 1956.
- SORVILLO, F.; SMITH, L.; KERNDT, P.; ASH, L. *Trichomonas vaginalis*, HIV and African-Americans. *Emerg. Infect. Dis.*, **7**: 927-932, 2001.
- TERAS, J.K.; JAAKMEES, H.P.; ROIGAS, E.M.; TOMPEL, H.; NIGESSEN, U.K. Vaginal and urethral microflora in cases of genitourinary trichomoniasis and after the disappearance of *Trichomonas vaginalis*. *WIAD. Parasitol.*, **12**: 205-213, 1966.
- THOMASON, J.L.; WILCOSKI, L.M.; McLAUHLIN, C.A. Trichomoniasis. *Clin. Microb. Newsletter* 8(2): 9-16, 1986.
- TUTTLE, J.P. HOLBROOK, T.W.; DERRICK, F.C Interference of human spermatozoal motility by *Trichomonas vaginalis*. *J. Urol.*, **118**: 1024-1025, 1977.
- WANG, A.L. & WANG, C.C. A linear double-stranded RNA in *trichomonas vaginalis*. *J. Biol. Chem.*, **260**: 3697-3702, 1987.
- WIELD, J.T.; KEAN, B.H. Experimental ocular trichomoniasis; pathologic observations. *Am. J. Pathol.* **32**: 1135-1145, 1956.

WILLCOX, R.R. Epidemiological aspects of human trichomoniasis. *Brit. J. Ven. Dis.*, **36**: 167-174, 1960.

WISDOM, A.R. & DUNLOP, E.M.C. Trichomoniasis: study of the disease and its treatment in women and men. *Br. J. Vener. Diseas.* **41**:90-96, 1965.

WHITTINGTON, M.J. Epidemiology of infections with *T. vaginalis* in the light of improved diagnostic methods. *Br. J. Vener. Diseas.* **33**: 80-91, 1957.

WHO (World Health Organization). An overview of selected curable sexually transmitted diseases. 2-27. *In* Global program on AIDS. WHO. Geneva. Switzerland. 1995.

ZHANG, Z.F. & BEGG, C. Is *Trichomonas vaginalis* a cause of cervical neoplasia? Results from a combined analysis of 24 studies. *Int. J. Epidemiol.* **23**: 682-690, 1994.