

Utilidad de la implementación de un método molecular automatizado en el diagnóstico de agentes causales de infecciones de transmisión sexual

► Ana María Togneri^{1a*}, Sebastián Pérez Catalán^{2a}, Marcela Patricia Pérez^{2a}, Rudy Adhemar Salas Escalante^{2a}, Anabela Mailen Bastanza^{2a}

¹ Bioquímica, Especialista en Bacteriología Clínica.

² Bioquímico/a.

^a Hospital Interzonal General de Agudos Evita. Lanús, provincia de Buenos Aires, Argentina.

* Autora para correspondencia.

Resumen

Se presentan los resultados obtenidos en los primeros meses desde la implementación del diagnóstico de agentes causales de infecciones de transmisión sexual (ITS) por PCR en tiempo real en un sistema automatizado. Se estudiaron 46 muestras endocervicales y 39 muestras de uretra masculina, por examen microscópico en fresco, coloración de Gram, cultivo en agar sangre, agar Thayer Martin, galerías miniaturizadas para investigar *Ureaplasma* spp. y *Mycoplasma hominis* (*Mycoplasma* IST3, bioMérieux, Francia) y PCR múltiple para *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* y *Trichomonas vaginalis* (BDMax™ System, Becton Dickinson, EE.UU.). Mediante PCR múltiple se detectó un agente vinculado a ITS en el 48,7% de las muestras uretrales y en el 21,7% de las muestras endocervicales, además de 5 casos de coinfección. El 18,8% de las infecciones se diagnosticaron sólo por PCR. Estos datos demuestran que mediante PCR se optimizó el diagnóstico de ITS en personas de ambos sexos.

Palabras clave: Infecciones de transmisión sexual; PCR múltiple; Coinfección; Diagnóstico

Usefulness of the implementation of an automated molecular method in the diagnosis of causal agents of sexually transmitted infections

Abstract

*The results obtained in the first months after the implementation of the diagnosis of causative agents of sexually transmitted infections (STIs) by real-time PCR in an automated system are presented. Forty-six endocervical samples and 39 male urethral samples were studied by fresh microscopic examination, Gram staining, blood agar culture, Thayer Martin agar, miniaturised galleries to investigate *Ureaplasma* spp. and *Mycoplasma hominis* (*Mycoplasma* IST3, bioMérieux, France), and multiplex PCR for *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* and *Trichomonas vaginalis* (BDMax™ System, Becton Dickinson, USA). Using multiplex PCR, an agent linked to STIs was detected in 48.7% of the urethral samples and in 21.7% of*

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957 (impresa)

ISSN 1851-6114 (en línea)

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

the endocervical samples, in addition to 5 cases of coinfection. A total of 18.8% of the infections were diagnosed only by PCR. These data show that PCR optimised the diagnosis of STIs in people of both sexes.

Keywords: Sexually transmitted infections; Multiple PCR; Coinfection; Diagnosis

Utilidade da implementação de um método molecular automatizado no diagnóstico de agentes causais de infecções sexualmente transmissíveis

Resumo

São apresentados os resultados obtidos nos primeiros meses a partir da implementação do diagnóstico de agentes causadores de infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) por PCR em tempo real em um sistema automatizado. Quarenta e seis amostras endocervicais e 39 amostras uretrais masculinas foram estudadas por exame microscópico fresco, coloração de Gram, cultura de ágar sangue, ágar Thayer Martin, galerias miniaturizadas para investigar *Ureaplasma spp.* e *Mycoplasma hominis* (*Mycoplasma IST3*, bioMérieux, França) e PCR múltiplo para *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* e *Trichomonas vaginalis* (BDMax™ System, Becton Dickinson, EUA). Utilizando PCR múltiplo, um agente ligado a IST foi detectado em 48,7% das amostras uretrais e em 21,7% das amostras endocervicais, além de 5 casos de coinfeção; 18,8% das infecções foram diagnosticadas apenas por PCR. Esses dados mostram que através do PCR foi otimizado o diagnóstico de IST em pessoas de ambos os sexos.

Palavras-chave: Infecções sexualmente transmissíveis; PCR múltiplo; Coinfeção; Diagnóstico

Introducción

Las infecciones de transmisión sexual (ITS) siguen siendo frecuentes a nivel mundial, a pesar del desarrollo de nuevos métodos diagnósticos y de las campañas de prevención y tratamiento. Estas infecciones se transmiten durante las relaciones sexuales vaginales, orales o anales, sin protección, y de madre a hijo durante el parto vaginal (1) (2) (3).

En el varón, las ITS se presentan como uretritis, epididimitis, prostatitis y, con menor frecuencia, orquitis, proctitis e infertilidad (4) (5).

En las mujeres, las ITS poseen un amplio espectro clínico que abarca uretritis, cervicitis y complicaciones de corto plazo, como abscesos tubo-ováricos o pélvicos. Las complicaciones de largo plazo incluyen embarazo ectópico, infertilidad y dolor pélvico crónico. La enfermedad inflamatoria pélvica (EPI) es la principal causa de infertilidad en el mundo (2) (3).

La infección materna del canal del parto puede provocar complicaciones en el neonato; las más frecuentes son la conjuntivitis y la neumonía, que pueden desarrollarse hasta los 12 días o hasta los 3 meses de edad, respectivamente. Distintas investigaciones demostraron la asociación de la infección urogenital con las complicaciones obstétricas como aborto espontáneo, parto prematuro, bajo peso al nacer, restricción del crecimiento fetal, rotura prematura de membranas, mortalidad perinatal y endometritis, entre otras (2) (6).

A pesar del impacto en la salud pública y en la salud individual, a nivel global, las tasas de infección asociadas a ITS no son bien conocidas. En general, las cifras a nivel mundial se basan en estimaciones realizadas de acuerdo a datos recopilados y a la opinión de expertos regionales. A esto contribuye que la búsqueda de los agentes causales de ITS no esté implementada con el mismo grado de cobertura en los distintos países, que no todas las ITS sean de notificación obligatoria, que el acceso a la atención varíe en las poblaciones, y que los recursos diagnósticos del laboratorio no siempre estén disponibles (3) (7).

Según la OMS se estima que en 2020 hubo 374 millones de nuevas infecciones de alguna de las siguientes cuatro enfermedades tratables: clamidiosis (129 millones), gonorrea (82 millones), sífilis (7,1 millones) y tricomoniasis (156 millones) (8).

Dado que las ITS pueden cursar en forma asintomática, que una misma sintomatología puede deberse a más de un agente causal, que el inicio de la vida sexual suele ser más precoz, que cambiaron los hábitos o conductas sexuales y que la presencia de cualquier ITS pone a una persona en mayor riesgo de adquirir otra ITS, incluida la infección por HIV, se precisan metodologías de alta sensibilidad, especificidad y rapidez, a los efectos de lograr un diagnóstico certero y de instaurar un tratamiento temprano, para prevenir las complicaciones mencionadas (3) (5).

Existen en el mercado plataformas comerciales basadas en la amplificación de ácidos nucleicos que permiten

la detección simultánea de *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Trichomonas vaginalis*, patógenos que causan las ITS no virales de mayor prevalencia (9) (10). En este contexto y en el marco de una propuesta para mejorar la calidad en salud sexual y reproductiva, se implementó el diagnóstico de estos tres microorganismos por un método molecular, como una herramienta complementaria de los métodos diagnósticos disponibles en la institución. El objetivo de este trabajo fue comunicar los resultados obtenidos en los primeros meses desde la incorporación del diagnóstico de *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* y *T. vaginalis*, por PCR (*polymerase chain reaction*) en tiempo real en un sistema automatizado.

Materiales y Métodos

En un período de 9 meses se analizaron 46 muestras endocervicales y 39 muestras de uretra masculina, para detectar la presencia de agentes asociados a ITS. Las muestras se estudiaron mediante examen microscópico en fresco, coloración de Gram, cultivo en agar sangre (Laboratorio Argentino, Argentina) y agar Thayer Martin (Laboratorios Britania, Argentina). Se utilizaron, también, galerías miniaturizadas para investigar *Ureaplasma* spp. (*Ureaplasma urealyticum/parvum*) y *Mycoplasma hominis* (*Mycoplasma* IST3, bioMérieux, Francia) y una PCR múltiple en tiempo real comercial para *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis* y *T. vaginalis* (BDMax™ System, Becton Dickinson, EE.UU.). El sistema BDMax (Registro en ANMAT PM 634-526; Panel BD MAX™ CT/GC/TV) está validado para muestras endocervicales, vaginales, uretrales y de primer chorro de orina, con opción de “auto-toma” (6) (10).

El equipo cuenta con dos termocicladores internos e independientes, con una capacidad máxima de 12 pruebas simultáneas cada uno. La excitación de fluorescencia está basada en lámparas LED. El sistema óptico con cinco longitudes de onda (475/520, 530/565, 585/630, 630/665 y 680/715) soporta los formatos más utilizados de detección, como las sondas de hidrólisis (sistema TaqMan®, Scorpions®, Molecular Beacons, MGB Alert®), así como el colorante intercalante SYBR® Green. En el equipo BD MAX es posible realizar el procedimiento completo automatizado con kits BD MAX para diagnóstico *in vitro* y protocolos definidos por el usuario (sólo la extracción del material genético, sólo PCR en tiempo real, o el procedimiento completo automatizado). Dispone de un software que puede ejecutar análisis cuantitativo absoluto, análisis cualitativo y curvas de *melting*. Cada *multiplex* se presenta en cartuchos cerrados que minimizan la contaminación cruzada y contienen un control interno individual para cada ensayo.

En todas las mujeres también se realizó el estudio del fondo de saco posterior.

El hallazgo de *U. urealyticum/parvum* y *M. hominis* se consideró significativo cuando fueron detectados res-

pectivamente como microorganismos únicos, en un recuento superior a 10 000 unidades formadoras de color, en ausencia de *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis*, *T. vaginalis*, con una imagen en la coloración de Gram de las correspondientes muestras de fondo de saco no compatible con vaginosis bacteriana.

No se investigaron agentes virales ni *Mycoplasma genitalium*.

Los estudios se realizaron en muestras, sucesivas e ininterrumpidas, de todo paciente mayor de 16 años, asistido en la institución y en quien el médico tratante solicitó realizar el diagnóstico etiológico de una ITS o alguna de sus complicaciones.

Se registraron el motivo de consulta y los resultados de los estudios microbiológicos y moleculares en hojas de cálculo Excel. Se conservó la confidencialidad de cada paciente usando un código alfanumérico.

Criterio de exclusión

Se excluyeron del análisis las muestras estudiadas para control de tratamiento.

Consideraciones éticas

Este estudio fue aprobado por el Comité de ética de la institución, y consideró que no se expuso a los sujetos de investigación a riesgos innecesarios, y la dispensa del proceso de consentimiento informado se encuentra justificada en el protocolo y contemplada dentro de las excepciones establecidas en las Pautas CIOMS 2016.

Resultados

En 24 de las 46 muestras endocervicales no se determinó ningún agente causal. En 12 casos el diagnóstico se hizo por cultivo de *M. hominis* (8) y *U. urealyticum/parvum* (4); en 3 casos se detectó *T. vaginalis* por PCR, en 3 casos *C. trachomatis* por PCR, en 3 casos se diagnosticó *T. vaginalis*, tanto por examen en fresco como por PCR, y en un caso se detectó coinfección *T. vaginalis/C. trachomatis* (ambos microorganismos por PCR), con examen en fresco positivo para *T. vaginalis*. La positividad global en la población de mujeres fue del 47,8% (22/46). El uso de galerías miniaturizadas permitió detectar el agente causal del proceso en estudio en el 26,1% de las pacientes. Seis casos fueron diagnosticados sólo mediante PCR, lo que significó un aumento en el diagnóstico del 13% (6/46) (Fig. 1).

La frecuencia relativa de cada microorganismo (n=23) en las muestras endocervicales fue de 34,8% para *M. hominis* (n=8), de 30,4% para *T. vaginalis* (n=7), de 17,4% para *C. trachomatis* (n=4) y de 17,4% para *U. urealyticum/parvum* (n=4). Ninguna muestra fue positiva para *N. gonorrhoeae*.

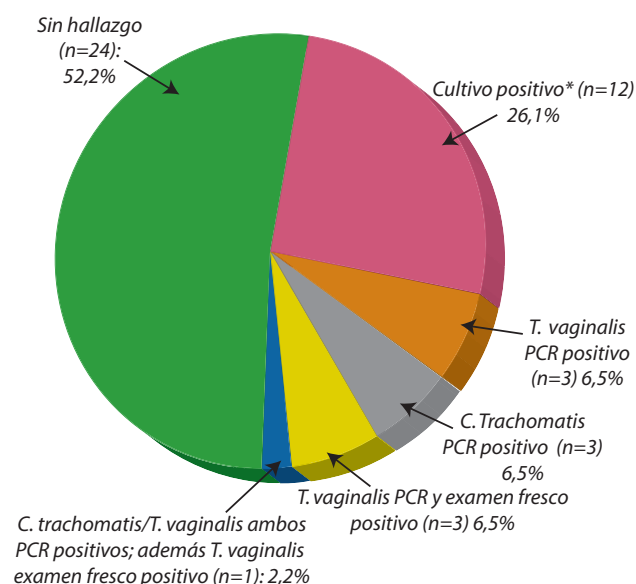


Figura 1. Resultados obtenidos en las 46 muestras endocervicales.

Referencias: * *Mycoplasma hominis* (n=8);
Ureaplasma urealyticum/parvum (n=4).

En 15 de las 39 muestras de uretra masculina no se detectó ningún agente causal. En 5 casos desarrolló un microorganismo jerarquizable en el contexto clínico del paciente o confirmado en una segunda muestra [*Staphylococcus aureus* (n=1), *Staphylococcus haemolyticus* (n=2), *Haemophilus influenzae* (n=1), *Streptococcus anginosus* (n=1)]; en 5 casos se detectó *N. gonorrhoeae* por cultivo y PCR; en 3 casos *N. gonorrhoeae* sólo por PCR; en 5 casos se detectó *C. trachomatis* por PCR; en un caso se detectó *T. vaginalis* por PCR; en un caso se detectaron *C. trachomatis* y *T. vaginalis*, ambos por PCR; en 3 casos, con cultivo y PCR positivos para *N. gonorrhoeae* también se detectó *C. trachomatis* por PCR y un caso resultó positivo para *T. vaginalis* por PCR y examen en fresco. Se diagnosticaron 4 casos de coinfección. La positividad global en esta población fue del 61,5% (24/39). El uso de un medio de cultivo nutritivo enriquecido no selectivo, como el AS, permitió detectar el agente causal del proceso en estudio en el 12,8% de los pacientes. Diez casos fueron diagnosticados sólo mediante PCR, lo que representó un incremento del diagnóstico del 25,6% (10/39) (Fig. 2).

En las muestras uretrales, la frecuencia relativa de cada microorganismo (n=28) resultó de 39,3% para *N. gonorrhoeae* (n=11), de 32,1% para *C. trachomatis* (n=9), de 17,9% para otras bacterias jerarquizables (n=5) y de 10,7% para *T. vaginalis* (n=3). Ninguna muestra fue positiva para *M. hominis* ni para *U. urealyticum/parvum*.

Se analizó la presencia de respuesta inflamatoria en las muestras estudiadas con la metodología descrita previamente. En 12 de 23 (52,2%) muestras endocervicales con respuesta inflamatoria y en 10 de 23 (43,5%) muestras endocervicales sin respuesta inflamatoria, se pudo detectar al menos un agente causal de los aquí investigados. En 6 de 13 (46,2%) muestras uretrales con respuesta inflamatoria y en 12 de 24 (50%) muestras sin respuesta infla-

En las muestras uretrales, la frecuencia relativa de cada microorganismo (n=28) resultó de 39,3% para *N. gonorrhoeae* (n=11), de 32,1% para *C. trachomatis* (n=9), de 17,9% para otras bacterias jerarquizables (n=5) y de 10,7% para *T. vaginalis* (n=3). Ninguna muestra fue positiva para *M. hominis* ni para *U. urealyticum/parvum*.

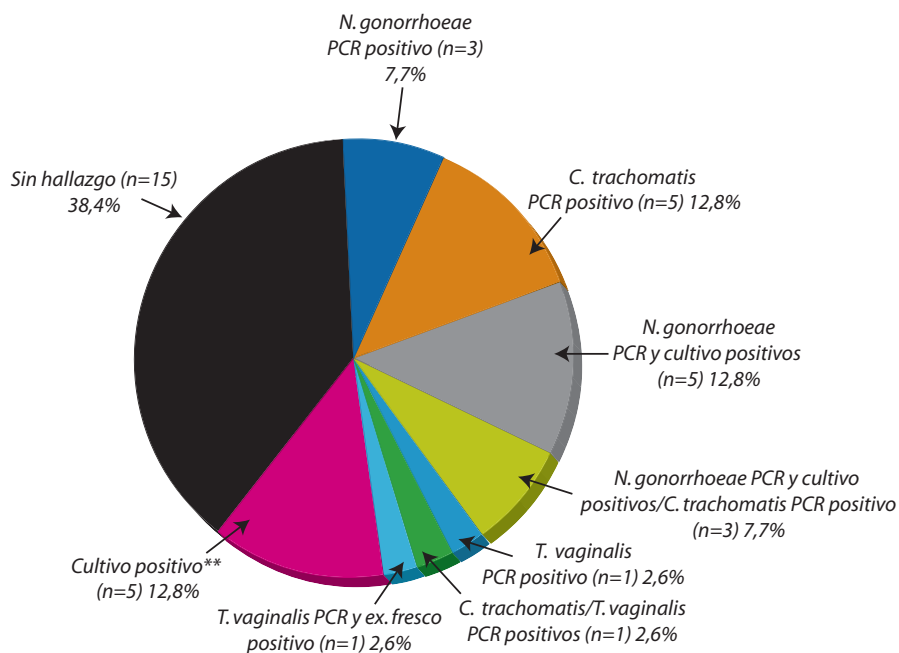


Figura 2. Resultados obtenidos en las 39 muestras de uretra masculina.

Referencias: ** *Staphylococcus aureus* (n=1); *Staphylococcus haemolyticus* (n=2); *Haemophilus influenzae* (n=1); *Streptococcus anginosus* (n=1)

matoria, se pudo detectar al menos un agente causal de los aquí investigados; en dos casos el dato no estuvo disponible. Es decir, que en alrededor de un 48 a 54% de todas las muestras con respuesta inflamatoria no se detectaron microorganismos que justifiquen la presencia de leucocitos y por ende sería necesario investigar otros patógenos no incluidos en esta sistemática de trabajo, aún con la incorporación de un método como BDMax™ System.

Discusión y Conclusiones

Las ITS son enfermedades tratables y prevenibles; su no detección, o su detección tardía, conlleva el riesgo de desencadenar patologías de distinta gravedad en personas de ambos sexos (1) (4).

Esta situación puede ser más preocupante si se considera que cerca del 30% de las ITS cursan en forma asintomática (3) (5), por lo que la infección avanzaría en forma silente. Las ITS suelen presentarse como coinfecciones (11) y con sintomatología solapada, lo que hace imprescindible realizar un diagnóstico simultáneo y preciso de los posibles agentes causales para administrar un tratamiento oportuno.

Varios estudios publicados demostraron la mayor sensibilidad y especificidad de las técnicas moleculares para el diagnóstico de agentes causales de ITS en relación al cultivo, a los métodos inmunocromatográficos, a los serológicos y a los microscópicos que se emplean de rutina en el ámbito clínico (6) (9).

Los métodos moleculares basados en PCR en tiempo real optimizaron el diagnóstico microbiológico, no sólo por su sensibilidad, sino también por introducir en el mercado sistemas automatizados, con reactivos en formatos bioseguros, que no requieren áreas separadas ni específicas de laboratorio, con resultados disponibles en menos de 3 h desde la toma de la muestra. Al presentarse en plataformas diseñadas para múltiples blancos (*targets*), permiten el estudio simultáneo de diversos microorganismos, incluso aquellos no cultivables, de baja viabilidad o de crecimiento lento (1) (2).

En nuestro laboratorio se optó por usar el BDMax™ System porque no requiere áreas de trabajo separadas y permite organizar el trabajo en tandas que van desde una a 24 muestras. Además, insume un tiempo promedio de 3 h desde la recepción de las muestras hasta el resultado, lo que habilita realizar una nueva tanda de PCR en el día y aumentar así la capacidad de respuesta, acorde al volumen y a la sistemática de trabajo local.

Si bien está demostrado que en el sistema BDMax la sensibilidad y la especificidad de la muestra de la primera micción de orina son iguales a las de endocervix, a la muestra vaginal y a la de uretra masculina, y que la misma es útil para investigar *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae* (1) (10), en este trabajo se estudiaron muestras de hisopado uretral e hisopado endocervical, dado que el vo-

lumen de orina recibida ponía en evidencia que la misma no siempre se correspondía con la primera micción matinal y no se tenía certeza del tiempo de retención previo al estudio.

De acuerdo a los resultados del presente trabajo se pueden destacar los siguientes puntos:

En el grupo de mujeres ningún caso resultó positivo para *N. gonorrhoeae* por PCR ni por cultivo. Se notó una clara prevalencia (26%) de *M. hominis* y *U. urealyticum/parvum* como agentes etiológicos de infección. En esta población el 35% de las consultas se realizaron por síntomas ginecológicos claros (21% leucorrea, 9% cervicitis, 5% vaginosis recurrente); del 65% restante, un 32% consultó por infertilidad, 9% por amenaza de parto pretérmino y 5% por embarazo ectópico, patologías que se encuentran dentro de las complicaciones tardías más fuertemente asociadas a *C. trachomatis* (3).

En el grupo de varones, el microorganismo prevalente resultó ser *N. gonorrhoeae*, seguido por *C. trachomatis*. En un 12,8% de las infecciones uretrales se jerarquizaron microorganismos no relacionados con agentes etiológicos de ITS, lo que marca la importancia del diagnóstico por cultivo en medios nutritivos no selectivos. Ningún caso resultó positivo para *Ureaplasma* spp. ni para *M. hominis*. El 97% de las consultas se realizaron por síntomas de uretritis aguda. Debe recordarse que *M. genitalium* no fue investigado en este estudio (12).

En ambas poblaciones, en coincidencia con la literatura, se detectó la presencia de al menos un agente causal de infección en muestras sin respuesta inflamatoria (del orden del 44-50% del total) (3) (5).

Tomando en cuenta las muestras positivas, *T. vaginalis* se diagnosticó en el 31,8% (n=7) de las mujeres y en el 12,5% (n=3) de los varones, y resultó el microorganismo presente en los cinco casos de coinfecciones. Cinco de los diez casos de tricomoniasis se detectaron sólo por PCR. En la mayoría de los laboratorios la búsqueda de *T. vaginalis* se realiza con el examen en fresco de las muestras. La sensibilidad de la microscopía oscila entre 36 y 75%. El cultivo tiene una sensibilidad entre el 44 y el 97% y una especificidad del 100% al compararlo con la PCR. El cultivo se consideró como el *gold standard* hasta antes de la aparición de las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos. Los medios líquidos de cultivo para *T. vaginalis* son relativamente baratos, pero requieren del examen diario del microscopista y el resultado puede demorar hasta una semana; en la práctica no se utiliza en los centros de diagnóstico (13).

Es importante considerar a los métodos moleculares como un complemento de los métodos culturales y fenotípicos, dada la importancia de obtener al microorganismo aislado, no sólo para realizar las pruebas de sensibilidad antimicrobiana en patógenos como *N. gonorrhoeae*, dado el cambio en el perfil de resistencia a lo largo del tiempo (9) (14), sino también para el diagnóstico de otros microorganismos asociados a ITS, como, por ejemplo,

Haemophilus spp. y *Neisseria meningitidis*, incluidos dentro de las uretritis no gonocócicas (UNG), donde el abordaje diagnóstico requiere también realizar el cultivo (15).

En este estudio no se usó una técnica *gold standard* porque el objetivo del trabajo se enfocó en analizar las ventajas de aplicar un método genómico respecto de las técnicas de uso habitual en la práctica diaria. En este sentido, los resultados obtenidos muestran que el uso del sistema de PCR múltiple para *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis* y *T. vaginalis* (BDMax™ System) permitió detectar un agente vinculado a ITS en el 48,7% (n=19) de las muestras uretrales y en el 21,4% (n=10) de las muestras endocervicales y confirmó cinco casos de coinfecciones. Si se consideran todas las muestras estudiadas, la PCR fue el único método con resultado positivo en el 18,8% (16/85) de la población, valor que determina el aporte diagnóstico por sí solo de la PCR. Si bien el número de muestras estudiadas fue reducido, y no se investigó *M. genitalium*, ni la etiología viral, la incorporación de un sistema automatizado de PCR en tiempo real, similar al aquí usado, demostró ser un complemento necesario de los métodos culturales, para optimizar la detección de agentes causales de ITS, como *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis* y *T. vaginalis* en personas de ambos sexos.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Dra. Isabel Desimone, jefa de laboratorio, por permitir la realización de este estudio.

Fuentes de financiación

Los reactivos empleados para la realización de la PCR *multiplex* fueron cedidos, sin costo alguno para la institución, por la firma Becton Dickinson, sin tener ninguna otra forma de participación en la investigación, ni en el diseño, ni en los resultados. Los investigadores no recibieron ningún incentivo a cambio.

Conflictos de intereses

Los investigadores declaran no tener conflictos de interés respecto del presente trabajo.

Correspondencia

Bioq. ANA MARÍA TOGNERI
Correo electrónico: anatogneri66@hotmail.com;
datoswhonet.evita@gmail.com

Referencias bibliográficas

- Levy S, Gunta J, Edemekong P. Screening for sexually transmitted diseases. *Prim Care Clin Office Pract* 2019; 46: 157-73.
- Velasquez P, Brebi P, Abarzúa F. Prevalencia de la infección por *Chlamydia trachomatis* y su potencial impacto perinatal en pacientes chilenas. *Rev Chilena Infectol* 2021; 38 (4): 523-31.
- Orozco-Hoyos N, Baena A, Montoya-Ruiz C, Sánchez GI, Restrepo E. Prevalencia de *Chlamydia trachomatis* en la población femenina asintomática atendida en los servicios de citología cervical de tres instituciones prestadoras de servicios de salud en Medellín, Colombia. *Biomédica* 2020; 40: 534-45.
- Murray P, Braverman P, Adelman W, Breuner C, Levine D, Marcell A, *et al.* Screening for nonviral sexually transmitted infections in adolescents and young adults. *Pediatrics* 2014; 134 (1): e302-11.
- Spinner CD, Boesecke C, Jordan C, Wyen C, Kümmerle T, Knecht G, *et al.* Prevalence of asymptomatic sexually transmitted infections in HIV-positive men who have sex with men in Germany: results of a multicentre cross-sectional study. *Infection* 2018 Jun; 46 (3): 341-7.
- Workowski KA, Bachmann LH, Chan PA, Johnston CM, Muzny CA, Park I, *et al.* Sexually transmitted infections treatment guidelines, 2021. *MMWR Recomm Rep* 2021 Jul 23; 70 (4): 1-187.
- Rowley J, Vander Hoorn S, Korenromp E, Low N, Uemo M, Abu-Raddad LJ, *et al.* *Chlamydia*, gonorrhoea, trichomoniasis and syphilis: global prevalence and incidence estimates, 2016. *Bull World Health Organ* 2019 Aug 1; 97 (8): 548-62.
- Organización Mundial de la Salud. Infecciones de transmisión sexual. OMS, 22 de noviembre de 2021. Disponible en: [https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/sexually-transmitted-infections-\(stis\)](https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/sexually-transmitted-infections-(stis)) (fecha de acceso: 20 de noviembre de 2022).
- Meyer T, Buder S. The laboratory diagnosis of *Neisseria gonorrhoeae*: current testing and future demands. *Pathogens* 2020; 9 (2): 91.
- Van der Pol B, Williams JA, Fuller D, Taylor SN, Hook EW 3rd. Combined testing for *Chlamydia*, gonorrhoea, and *Trichomonas* by use of the BD Max CT/GC/TV assay with genitourinary specimen types. *J Clin Microbiol* 2016 Dec; 55 (1): 155-64.
- Kalichman SC, Pellowski J, Turner C. Prevalence of sexually transmitted co-infections in people living with HIV/AIDS: systematic review with implications for using HIV treatments for prevention. *Sex Transm Infect* 2011 Apr; 87 (3): 183-90.
- Golden M, Workowski K, Bolan G. Developing a public health response to *Mycoplasma genitalium*. *J Infect Dis* 2017 Jul 15; 216 (Suppl 2): S420-6.
- Núñez Troconis J. Diagnóstico de la *Trichomonas vaginalis* en la mujer. *Rev Chil Obstet Ginecol* 2020; 85 (2): 175-84.
- Gianecini R, Golparian D, Zittermann S, Litvik A, Gonzalez S, Oviedo C, *et al.* Genome-based epidemiology and antimicrobial resistance determinants of *Neisseria gonorrhoeae* isolates with decreased susceptibility and resistance to extended-spectrum cephalosporins in Argentina in 2011-16. *J Antimicrob Chemother* 2019; 74: 1551-9.
- Sarier M, Kukul E. Classification of non-gonococcal urethritis: a review. *Int Urol Nephrol* 2019; 51: 901-7.

Recibido: 10 de marzo de 2023

Aceptado: 27 de junio de 2023