



**UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
NÚCLEO DE SUCRE  
ESCUELA DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS**

Calidad espermática, aislamiento bacteriano y serología de *Chlamydia trachomatis* en pacientes infértiles provenientes de la Unidad de Fertilidad de la Clínica "Santa Rosa", Cumaná-estado Sucre.

Trabajo presentado por:  
MsC. José G. Betancourt V.

Trabajo presentado como requisito parcial para ascender a la categoría  
de agregado

Cumaná, 3 de mayo de 2009

## INDICE GENERAL

DEDICATORIA _____	i
AGRADECIMIENTO _____	ii
LISTA DE TABLAS _____	iii
LISTA DE FIGURAS _____	v
RESUMEN _____	vi
INTRODUCCIÓN _____	1
METODOLOGIA _____	8
1. Población _____	8
2. Muestras _____	8
3. Análisis del líquido seminal _____	9
3.1. Determinación del aspecto, consistencia, pH y volumen del semen _____	9
3.2. Procesamiento de las muestras para espermocultivo _____	12
3.3. Identificación bioquímica _____	13
3.4. Identificación del genero <i>Staphylococcus</i> _____	13
3.5. Prueba de la catalasa _____	13
3.6. Fermentación de manitol _____	14
3.7. Prueba de la coagulasa _____	14
3.8. Identificación de los géneros <i>Streptococcus</i> y <i>Enterococcus</i> _____	14
3.9. Prueba de bilis-esculina _____	15
3.10. Prueba de tolerancia de crecimiento en 6,5% de cloruro de sodio (NaCl) _____	15
3.11. Prueba de CAMP _____	15
3.12. Prueba de hidrólisis del hipurato _____	16
3.13. Identificación de los bacilos Gram negativos _____	16
3.13.1. Prueba de la oxidasa _____	16
3.13.2. Fermentación de carbohidratos _____	16
3.13.3. Utilización de citrato _____	17
3.13.4. Descarboxilación de la lisina _____	17

3.13.5. Hidrólisis de la urea _____	18
3.13.6. Rojo de metilo _____	18
3.13.7. Determinación de indol-motilidad y Descarboxilación de la ornitina _____	18
3.13.8. Utilización del malonato _____	19
3.13.9. Fenilalanina desaminasa _____	19
4. Determinación de anticuerpos monoclonales IgA anti <i>Chlamydia trachomatis</i> _____	20
4.1. Obtención de la muestra _____	20
4.2. Técnica _____	21
5. Determinación de anticuerpos bivalentes IgG contra <i>Chlamydia trachomatis</i> y <i>Chlamydia pneumoniae</i> _____	22
5.1. Análisis estadístico _____	23
RESULTADOS _____	24
Normal: motilidad > 50% _____	36
DISCUSIÓN _____	37
CONCLUSIÓN _____	48
Recomendaciones _____	50
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS _____	51
ANEXOS _____	62
ANEXO 1 _____	62
ANEXO 2 _____	63
ANEXO 3 _____	65
ANEXO 4 _____	67
ANEXO 5 _____	68
ANEXO 6 _____	69
ANEXO 7 _____	70

## **DEDICATORIA**

A Dios todo poderoso, por estar siempre conmigo.

A mi esposa Patricia Cruces por su apoyo incondicional y acompañado en la realización de este trabajo. TE AMO.

A mis hijos Joseph, Arianna y Alexander son mi razón de vivir y mi inspiración. LOS QUIERO

A mi madre Carmen de Betancourt por sus consejos y apoyo moral, mama te ADORO.

A mis hermana Romelia y Carmen por cuidar de mi madre y ser compañera y amiga en los momentos difíciles. LAS QUIERO.

## **AGRADECIMIENTO**

A la Universidad de Oriente Núcleo de Sucre por ser el espacio donde laboro y realizo investigación en el área de Bacteriología.

Al Laboratorio de Fertilidad de la Clínica Santa Rosa, especialmente a las Licenciadas Patricia Cruces y Patricia González.

A los Médicos Iván Lakiere, Abdón Alayón y Ana Pérez, por haberme ayudado en la parte clínica del trabajo de investigación.

A las secretarias de la Unidad de Fertilidad de la Clínica Santa Rosa por haberme brindado su colaboración.

## LISTA DE TABLAS

- Tabla 1. Calidad espermática en pacientes infértiles provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa, Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008. \_\_\_\_\_ 24
- Tabla 2. Parámetros espermáticos alterados en pacientes provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa, Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008. \_\_\_\_\_ 25
- Tabla 3. Cultivos positivos y negativos obtenidos en semen de pacientes provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa. Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008. \_\_\_\_\_ 25
- Tabla 4. Frecuencia de bacterias en espermocultivos de pacientes provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa. Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008. \_\_\_\_\_ 26
- Tabla 5. Asociación entre la presencia de cultivos positivos y negativos y la concentración espermática, de pacientes provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa, Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008. \_\_\_\_\_ 27
- Tabla 6. Asociación entre la presencia de cultivos positivos y negativos y la vitalidad espermática, en pacientes provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa, Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008. \_\_\_\_\_ 27
- Tabla 7. Asociación entre la presencia de cultivos positivos y negativos y el volumen espermático, en pacientes provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa, Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008. \_\_\_\_\_ 28
- Tabla 8. Asociación entre la presencia de cultivos positivos y negativos con la licuefacción del semen, en pacientes provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa, Cumana, estado

Sucre. Agosto 2007- julio 2008. _____	29
Tabla 9. Asociación entre la presencia de cultivos positivos y negativos y la viscosidad del semen, en pacientes provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa, Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008. _____	30
Tabla 10. Asociación entre la presencia de cultivos positivos y negativos y el pH del semen, en pacientes provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa, Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008. _____	30
Tabla 11 Asociación entre la presencia de anticuerpos IgA e IgG para <i>Chlamydia trachomatis</i> con cultivo negativo y la concentración espermática, en pacientes provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa, Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008. _____	32
Tabla 12. Asociación entre la presencia de anticuerpos IgA e IgG para <i>Chlamydia trachomatis</i> con cultivo negativo y la vitalidad espermática, en pacientes provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa, Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008. _	32
Tabla 13. Asociación entre la presencia de anticuerpos IgA e IgG para <i>Chlamydia trachomatis</i> con cultivo negativo y el volumen espermático, en pacientes provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa, Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008. _	33
Tabla 14. Asociación entre la presencia de anticuerpos IgA e IgG para <i>Chlamydia trachomatis</i> con cultivo negativo y la licuefacción del semen, en pacientes provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa, Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008. _	34

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Distribución porcentual de resultados positivos y negativos para anticuerpos IgA- IgG anti *Chlamydia trachomatis* de pacientes de pacientes masculinos infértiles provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa, Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008. \_\_\_\_\_ 31
- Fig. 2. Modificación de la vitalidad espermática de acuerdo al número de microorganismos reportados en los pacientes provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa, Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008. \_\_\_\_\_ 35
- Fig. 3 Modificación de la motilidad espermática (a+b) con respecto al número de microorganismos reportados en los pacientes provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa, Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008. \_\_\_\_\_ 36

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar la calidad espermática, aislamiento bacteriano y serología de *Chlamydia trachomatis* en pacientes proveniente del laboratorio de fertilidad de la Clínica Santa Rosa, de la Ciudad de Cumaná, estado Sucre, durante el período de Agosto del 2007 hasta agosto del 2008. La población en estudio estuvo conformada por 105 individuos con edades comprendidas entre 21 y 61 años, a quienes se les realizó un perfil andrológico la cual incluyo: un análisis de semen realizado según las normas de la OMS, aislamiento e identificación bacteriana, utilizando el A. F. GENITAL SYSTEM y niveles séricos de anticuerpos IgA e IgG anti-*Chlamydia trachomatis*, basado en la prueba de ensayo inmunoenzimático indirecto de fase sólida (EIA), InmunoComb II *Chlamydia trachomatis* monovalente IgA e IgG de Organics. Del total del líquido seminal estudiado, el 77,14 % presentaron vitalidad espermática anormal, encontrándose a su vez un porcentaje de anomalía de 39,05 % para los parámetros: viscosidad, pH y volumen espermático, además de un 38,10% y 35,24% para la licuefacción y concentración espermática, respectivamente. La astenozoospermia resultó ser la anomalía más prevalente en los pacientes estudiados con un porcentaje de 96,19 %, seguido de la oligozoospermia con 32,38 %. De los espermocultivos evaluados, 74 (70,48 %) presentaron cultivos positivos. Las bacterias que se encontraron con mayor frecuencia fueron: *Enterococcus faecalis* con 40 (40,40%) aislamientos, seguido por *Staphylococcus coagulasa* negativa con 17(17,17%). *Ureaplasma urealyticum* y *Escherichia coli* con 16(16,16%) y 10(10,01%), respectivamente. No se encontró asociación estadísticamente significativa entre la presencia de cultivos positivos y negativos y los parámetros espermáticos estudiados; así como también entre presencia de anticuerpos IgA e IgG para *Chlamydia trachomatis* con cultivo negativo y los diferentes parámetros espermáticos analizados. La vitalidad espermática y la motilidad se ve afectada a medida que aumenta el número de colonias en los espermocultivos, por lo que es probable que el número de colonias podrían afectar a los espermatozoides y su motilidad, para así contribuir a la infertilidad de los hombres.

## INTRODUCCIÓN

El aparato reproductor masculino esta constituido por órganos internos, representados por los testículos, vías espermáticas y vesícula seminal; el pene y el escroto constituyen órganos externos, mientras que, las glándulas bulbouretrales y la próstata conforman los órganos anexos, encargados de suministrar al eyaculado su composición química y más del 90% del volumen total de plasma seminal. Estos tejidos accesorios producen sustancias de gran importancia biológica, ya que protegen al tracto urinario de agresiones patológicas que invaden la uretra, mediante la secreción de metales como el zinc, proteasas como lisozimas e inmunoglobulinas secretoras. El mecanismo de lavado de la uretra por estas secreciones establece un medio hostil a los agentes invasores (Sanz *et al.*, 1999).

La espermatogénesis es el proceso de formación de los espermatozoides, a partir de las células ubicadas en la membrana basal de los túbulos seminíferos. Este proceso se puede estructurar en una serie de fases principales: Antes de la madurez sexual, las células germinales indiferenciadas, espermatogonias tipo A, se encuentran en pequeño número de las gónadas masculinas, tras la pubertad, a través de varios ciclos de mitosis producen nuevas espermatogonias de tipo A, que mantienen la reserva celular y espermatogonias tipo B, destinadas a la producción de espermatozoides, las cuales sufren nuevas divisiones mitóticas para producir espermatocitos primarios, que emigran al compartimiento adluminal del túbulo, antes de comenzar la meiosis. Tras la primera división meiótica, las células que resultan son los espermatocitos secundarios, que progresan rápidamente a la segunda fase de la meiosis, por lo que son difíciles de ver, las células resultantes son gametos haploides sin madurar que reciben el nombre de

espermáticas (Simón, 2003).

La formación del semen ocurre mediante la mezcla rápida e individual de cuatro fracciones diferentes. La primera fracción, pre-eyaculatoria es de consistencia mucosa, libre de espermatozoides, y proviene de las glándulas bulbouretrales y uretrales, la segunda fracción, consiste en una secreción prostática libre de espermatozoides, forma del 13 al 33% del eyaculado y tiene elevada concentración de ácido cítrico y fosfatasa ácida. La siguiente fracción contiene tanto elementos líquidos como gelatinosos, rica en espermatozoides y originada en el epidídimo, conducto deferente y ampolla deferente. La fracción final, es la más abundante y constituye del 50 al 80% del eyaculado, es procedente de las vesículas seminales, tiene pH alcalino y es rica en fructuosa (Remohi *et al.*, 2001; Silva *et al.*, 2001).

El análisis del semen convencional, conocido como espermatoograma o espermiograma, continúa siendo el método comúnmente aceptado para estudiar al factor masculino, ya que es rápido, sencillo y muy económico. Sin embargo, su valor es afectado por la variabilidad de la calidad del semen en muestras repetidas de un mismo individuo, variando el resultado incluso cuando es procesado por el mismo investigador, por lo tanto, el hecho de encontrar alteraciones en el análisis seminal, no significa que se haya encontrado la causa de la enfermedad (Barja y Berrios, 2003).

El propósito fundamental del análisis básico de semen radica en evaluar los parámetros descriptivos clásicos de un eyaculado producido por masturbación. Las características a analizar son: apariencia, olor, licuefacción, viscosidad, pH, volumen, concentración espermática, movilidad, vitalidad y características morfológicas de los espermatozoides, presencia de detritos y otros elementos celulares del semen, así como

aglutinación entre espermatozoides (Remohi *et al.*, 2001).

Los diferentes estudios realizados con el semen en fresco por diferentes centros repartidos por todo el mundo, y la observación de las características tanto macro como microscópicas del eyaculado llevaron, en 1980, a la Organización Mundial de la Salud (OMS) a editar un manual de laboratorio para el estudio del semen (Laboratory Manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction) que estableció los análisis más representativos y con más rendimiento a la hora de estudiar una determinada muestra de semen y, en consecuencia, dictar los criterios de normalidad (OMS, 1999).

El estudio de calidad del semen es el examen de laboratorio más importante en la fertilidad masculina (Teppa y Palacios, 2004), y es una de las prácticas que se efectúan en los servicios de atención a parejas infértiles, lo cual incluye movilidad, concentración, viabilidad, morfología y pH, siguiendo las normas recomendadas por la OMS. Además, la coagulación y las células inflamatorias también pueden evaluarse. Hay distintas categorías aplicadas a los resultados anormales que pudieran observarse en los análisis de semen (Padrón, 1990 y Calamera, 1997). Un estudio publicado por una médico danesa, en 1992, demostró que la cantidad de espermatozoides presentes en el semen de hombres de 21 países había disminuido en un 50% entre 1940 y 1990 (Barcha, 2000).

La infertilidad es la incapacidad de una pareja de lograr un embarazo después de 12 meses de mantener relaciones sexuales sin utilizar ningún método anticonceptivo, su incidencia varía notablemente en diferentes países e incluso en diferentes zonas de un mismo país (Poirot y Cherruau, 2005).

La infertilidad no es únicamente un problema de origen femenino

sino de pareja, se ha reportado que el 15% de las parejas presentan factor de infertilidad atribuible a ambos (Barten, 1998). Hasta hace poco tiempo no se tomaba conciencia de la importancia del factor masculino en la infertilidad de la pareja. Estudios epidemiológicos actuales determinan que el varón es responsable de infertilidad en forma exclusiva o compartida (Hull, 1985; Vanrell *et al.*, 2000; Remohi *et al.*, 2001). Se estima que el factor masculino ocupa un 30-50% de los casos de infertilidad, caracterizándose por la presencia de alteraciones en el volumen, la concentración, la motilidad o la morfología espermática, estos factores pueden encontrarse en forma aislada o combinada (Brugh *et al.*, 2003).

Las causas que originan infertilidad masculina, pueden ser: pre-testiculares, testiculares y post-testiculares. Las pre-testiculares o endocrinas, están asociadas a la regulación hormonal, y son las responsables del 10% de infertilidad en el hombre, de la siguiente manera: el hipotálamo libera una sustancia conocida como hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), que estimula a la hipófisis a secretar otras dos hormonas, la folículo estimulante (FSH) y la hormona estimulante de células intersticiales o de Leyding (HECI), las cuales estimulan a los testículos para producir la testosterona, y llevar a cabo la formación de espermatozoides. Las enfermedades que afectan el hipotálamo o a la hipófisis conducen a una baja producción de espermatozoides (oligozoospermia), a no producción (azoospermia), y se le denomina hipogonadismo hipogonadotrópico (González, 2005).

El 55 % de los casos de infertilidad masculina, son debido a causas testiculares, es decir, fallas del propio testículo en la producción de espermatozoides, entre ellas se encuentran: anomalías genéticas que representan aproximadamente el 6 %, observándose en los pacientes con azoospermia entre 10 a 15% anomalías del cariotipo. La falta de

descenso de los testículos o criptorquidia, constituyen el 2% de las causas testiculares, mientras que el varicocele se encuentra en el 30% de los varones infértiles; los mecanismos implicados en esta falla testicular son: aumento de la temperatura intraescrotal, reflujo de metabolitos renales y adrenales, disminución del flujo sanguíneo e hipoxia; en estos pacientes el espermatograma presenta disminución de la concentración espermática en 65% de los casos, y más del 15% de anomalías morfológicas, con predominio de espermatozoides amorfos y células germinales inmaduras. La infección viral al testículo (orquitis), por paperas (parotiditis) o por bacterias en infecciones urinarias, además de los golpes y lesiones graves del testículo (traumatismo), así como, la exposición al calor, quimioterapia y radioterapia, conducen también a infertilidad de causa testicular (Poirot y Cherruau, 2005).

Por otro lado, las causas post-testiculares, se refieren a aquellos problemas de obstrucción de los conductos a través de los cuales los espermatozoides son llevados hasta las vesículas seminales, en donde contribuyen a formar el líquido seminal, en donde contribuyen a formar el líquido seminal y de allí a la uretra a través de la próstata para dar lugar al semen. Estas obstrucciones pueden deberse a malformaciones congénitas, infección, cirugía (post-vasectomía) y traumatismos. Representan aproximadamente el 7% de los casos de infertilidad en el hombre, y su importancia radica en que contribuyen una causa potencialmente curable con cirugía (Teppa y Palacios, 2004).

Una causa frecuente de infertilidad masculina es el daño producido por procesos infecciosos. El tracto genital masculino está colonizado por bacterias comensales como *Staphylococcus epidermidis*, difteroides y algunas especies de *Streptococcus*. Sin embargo, un número de infecciones del tracto genital son establecidas como causantes de infertilidad masculina. Su fisiopatología involucra daño de los túbulos

seminíferos u obstrucción del paso del espermatozoide a epidídimo o conductos eyaculadores. En adición algunos microorganismos tienen un impacto desfavorable en la calidad del semen (Comhaire *et al.*, 1980).

Dentro de los factores biológicos, la infección del aparato genitourinario aporta el  $41,45 \pm 28,55\%$  del total de las causas de infertilidad masculina (Barten, 1998.; Ravolamanana *et al.*, 2003). Las infecciones bacterianas y virales del tracto genital masculino son un factor etiológico importante en la infertilidad masculina, ya que afectan sitios anatómicos relacionados con el aparato reproductor masculino (testículo, epidídimo, glándulas accesorias y conductos eyaculadores), conduciendo al deterioro de los diferentes estadios de la espermatogénesis, afectando la producción y la calidad del semen (Huwe *et al.*, 1998.; Hales *et al.*, 1999).

Las alteraciones bioquímicas generadas en los procesos infecciosos producen un medio ambiente poco propicio para el espermatozoide, alterando el proceso de fertilización (Kohn *et al.*, 1998). La bacteriospermia en el varón infértil sigue siendo incierta ya que estos pacientes cursan asintomáticos. Entre los patógenos que se reportan con mayor frecuencia en los cultivos seminales está la *Chlamydia trachomatis* (De Jong *et al.*, 1988) y *Ureaplasma urealyticum* (Smith *et al.*, 1994), pero aún no se ha logrado dilucidar el efecto de estos agentes infecciosos sobre la motilidad y la capacidad de la fertilización en el espermatozoide (Cortesse *et al.*, 1987; Talkington *et al.*, 1991) aunque se ha propuesto que el *Ureaplasma urealyticum* incrementa la producción de radical superóxido, el cual disminuye la capacidad de fertilización del espermatozoide (Rose y Scott, 1994). *Ureaplasma urealyticum* y *Mycoplasma hominis* infectan el tracto genital masculino en 10-40% de los hombres infértiles (Keck *et al.*, 1998).

En las últimas décadas se ha registrado un incremento en las infecciones del tracto genital femenino y masculino por *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum*, gérmenes transmitidos por contacto sexual y responsables de casi el 60% de las uretritis no gonocócicas (Hellstrom y Neal, 1992).

En México se ha reportado la presencia de *Mycoplasma hominis* en el 24.2% de los pacientes infértiles, ésta se asocia a disminución de 87.5% en la motilidad espermática y con 98.8% de alteraciones morfológicas (Rojas-Retiz *et al.*, 2001).

El propósito del presente estudio es estudiar la calidad espermática de los pacientes masculinos que asisten a la Unidad de Fertilidad (FERTILAB) de la clínica Santa Rosa con el fin de saber que porcentaje de hombres infértiles existen en la población muestreada, además que consecuencia traería el aislamiento de gérmenes bacterianos y la presencia de *Chlamydia trachomatis* en la calidad del semen, para de esta manera contribuir al esclarecimiento diagnóstico de aquellos individuos con problemas de infertilidad sin causa aparente.

# METODOLOGIA

## 1. Población

La población en estudio estuvo conformada por 105 individuos con edades comprendidas entre 21 y 61 años, que asistieron al laboratorio de fertilidad de la Clínica Santa Rosa, de la Ciudad de Cumaná, estado Sucre, entre los meses de Agosto del 2007 hasta agosto de 2008, con indicación de estudio de perfil andrológico (espermatograma, determinación de *Chlamydia trachomatis* IgA e IgG en suero y espermocultivo). Los espermatogramas normales se rigieron según los criterios establecidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS).

A cada individuo se le indicó mediante un instructivo, las normas para la toma de muestra de semen, y se le entregó un recolector de boca ancha para la misma. Y se le solicitó consentimiento escrito de inclusión en el estudio (anexo1). Se le aplicó una encuesta sobre datos personales y de interés, referente a: Nombre, edad, fecha, días de abstinencia sexual, hora de recolección de la muestra, tiempo de exposición y antecedentes clínicos como: presencia de varicocele, epididimitis, prostatitis entre otros, dando así por cumplido las normas establecidos por la OMS (Anexo 2). Para esta investigación se excluyeron los pacientes con problemas de varicocele.

## 2. Muestras

Las muestras de semen fueron tomadas por masturbación con un período de abstinencia sexual de 3 a 5 días, estas se identificaron con los datos personales y fueron transportadas a temperatura ambiente al

laboratorio de Fertilab Oriente para su procesamiento, siguiendo las pautas de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 1999).

### **3. Análisis del líquido seminal**

#### **3.1. Determinación del aspecto, consistencia, pH y volumen del semen**

Los líquidos seminales se sometieron a una evaluación macroscópica realizada a temperatura ambiente, siguiendo las pautas de al OMS. El aspecto de las muestras se evaluó mediante inspección visual a temperatura ambiente, observando sus características y clasificándolas como opalescentes, ligeramente opalescentes y cristalina, anotando además el tiempo de licuefacción, el cual se determinó luego de un período entre 20 y 30 minutos, evidenciándose por la desintegración de coágulos de fibrina presentes en el semen por acción enzimática (aminopeptidasas y pepsinas). El color del semen, normalmente varía de blanco amarillento a blanco grisáceo.

La filancia o viscosidad se determinó, mediante la introducción de un aplicador de madera en la muestra, observando la longitud del filamento que se forma al retirarlo; clasificando en normal y aumentada, dependiendo de sí la longitud del filamento midió hasta 2 cm, o si superó los 2 cm de longitud, respectivamente.

Para la determinación del pH, se extendió con uniformidad una gota de semen sobre papel indicador (cintas de pH a intervalos de 6,5 a 9,2) y a los 30 segundos se comparó con la escala de calibración para determinar su valor. El volumen normal de eyaculado varía entre 2 a 4 ml, y este se mide, aspirando toda la muestra con una pipeta graduada.

Determinación de la calidad espermática (concentración, motilidad, viabilidad y morfología)

La concentración y la motilidad se evaluó en un volumen fijo de 10  $\mu$ l de semen, vertidos con una micropipeta sobre una cámara de Makler limpia con su respectivo cubreobjeto circular, obteniéndose un preparado de una profundidad de aproximadamente 10 micrómetros, la cual permite que los espermatozoides sean observados en un único plano focal. Posteriormente, se examinó el preparado con el objetivo de 40X y se rastreó sistemáticamente 10 cuadrados de la cámara en un microscopio óptico de contraste de fases, tomando en cuenta aquellos espermatozoides que se encontraban en el interior del cuadrado, así como aquellos que limitaban los bordes superior e izquierdo. Una vez que se obtuvo la cantidad de espermatozoides contados, se procedió a multiplicar ese número por el factor  $10^6$ ; de esta manera se halló el número de espermatozoides por mililitro de muestra (Pomerol y Arrondo, 1994).

Los pacientes fueron clasificados como normozoospermicos, si la concentración espermática fue mayor o igual a 20 millones/ml; oligozoospermicos, si fuese menor de 20 millones/ml; astenozoospermia, cuando el número de espermatozoides móviles con desplazamiento es inferior al 50 % y azoospermicos, si no hubo espermatozoides. Posteriormente, utilizando la cámara de Makler, se valoró la motilidad de cada espermatozoide encontrado, clasificándose según las siguientes categorías: categoría a, denominados también como motilidad activa de grado 3(+++); si el movimiento espermático de traslación es rápido, rectilíneo y cuantitativamente más importante que el desplazamiento lateral de la cabeza; categoría b, denominamos también como motilidad activa de grado 2 (++); si el movimiento espermático de traslación es progresivo, pero cuantitativamente menos que en la motilidad activa de

grado 3 y con frecuencia no rectilíneo; categoría c denominados también como motilidad activa de grado 1 (+); si el movimiento de traslación es mínimo o inexistente y amplitud semejante al desplazamiento lateral de cabeza y cola; y categoría d, también conocido como, motilidad de grado 0 (0); cuando los espermatozoides se encuentran inmóviles (Remohi *et al.*, 2003).

La viabilidad se determinó, agregando 10 µl de semen fresco a una cantidad de 0,9 ml de solución de NaCl al 0,45% en un tubo de ensayo. Se mezcló aproximadamente unos 30 segundos y posteriormente se suspendió 10 µl de esta preparación sobre una lámina con su respectivo cubreobjetos de 22 x 22 mm. Antes de ser observado, se dejó reposar durante al menos un minuto, con la ayuda de un microscopio óptico con un aumento de 40X, se observaron las modificaciones de los espermatozoides a nivel de la cola, los cuales mostraron diversos grados de hinchamiento. Aquellos espermatozoides que no sufrieron modificaciones fueron tomados como negativos (OMS, 1999).

Para el estudio morfológico se colocó una gota de semen licuado entre 2 cubreobjetos, limpios y desengrasados. Se hizo el extendido de la preparación separando las laminillas, se dejó secar al aire y se fijó con metanol. Se coloreó con hematoxilina de Harris durante aproximadamente 30 minutos y se lavó con agua, una vez seco y utilizando aceite de inmersión, se fijó el extendido coloreado sobre un portaobjeto para su observación con el objetivo de inmersión. Las anomalías presentes, se clasificaron siguiendo la técnica estricta de Kruger; según las características morfológicas de la cabeza, pieza intermedia y cola de 100 espermatozoides analizados (Kruger *et al.*, 1987).

### 3.2. Procesamiento de las muestras para espermocultivo

A las muestras de semen obtenidas se les realizaron la técnica de coloración de Gram (Huccker y Coon, 1923), la cual permitió observar la morfología celular y afinidad tintorial hacia los géneros en estudio.

La búsqueda de gérmenes patógenos urogenitales se realizó mediante la utilización del A. F. GENITAL SYSTEM (Anexo 3), la cual es un sistema de 24 pozos que contienen substrato bioquímico para la identificación presuntiva de microorganismos procedentes de muestras urogenitales. El sistema facilita también una evolución semicuantitativa de la presencia de micoplasmas urogenitales (*Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum*). Para tal fin, se abrió una ampolla de solución fisiológica contenida en el kit, luego se tomó 0,2 ml de la muestra de semen y se mezcló con la solución fisiológica, se agitó y luego se esperó por espacio de 5 minutos antes de la inoculación. De dicha mezcla se tomaron 0,2 ml (4 gotas) y se transfirieron a cada uno de los 24 pozos que contiene el sistema. Posteriormente, se cubrieron con tres gotas de aceite de vaselina todos los pozos excepto los pozos 16, 17, 18, 20, 21, 22 y 23, correspondiente a: *Escherichia coli*, *Proteus spp/ Providencia spp*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Streptococcus agalactiae*, respectivamente. Luego se cubrió el sistema con la tapa e incubó a  $36 \pm 1^\circ \text{C}$  por 18-24 horas. En caso de sospechar la presencia de *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum*, se dejó por 24 horas más, en las mismas condiciones de incubación. Posteriormente, se observó el viraje de color en cada uno de los pozos; de haber cambios en la coloración, se tomaron una pequeña porción y se sembraron en los medios de cultivos apropiados para cada género (agar sangre, agar manitol salado y agar MacConkey), luego se incubaron a  $36 \pm 1^\circ \text{C}$  por 18-24 horas.

Conjuntamente con el sistema, se procedió a realizar la siembra de la muestra de semen en medios de cultivos: agar sangre, agar manitol salado y agar MacConkey, y se incubaron a  $36 \pm 1$  ° C por 24 horas en condiciones de microaerofilia el agar sangre y en aerobiosis el agar manitol salado y MacConkey (Koneman *et al.*, 2004)

### 3.3. Identificación bioquímica

Para la identificación de los diferentes géneros bacterianos obtenidos por medio del sistema, se utilizaron las siguientes pruebas bioquímicas según técnicas descritas por Mac Faddin (2002) y Koneman *et al* (2008).

### 3.4. Identificación del genero *Staphylococcus*

Se verificaron las características morfológicas de las colonias en agar sangre sospechosas de *Staphylococcus* y se tomaron varias de ellas para ser sembradas en agar nutritivo, y luego incubadas a  $36 \pm 1$  ° C por 24 horas en condiciones de aerobiosis.

### 3.5. Prueba de la catalasa

Para evidenciar la producción de esta enzima, se tomó una colonia sospechosa procedente del agar nutritivo con un palillo de madera y se colocó en la superficie de una lámina portaobjeto, luego se agregó una gota de peróxido de hidrógeno al 3 %. La formación de burbujas fue considerada como una prueba positiva. Esta prueba se utilizó para verificar la producción de la enzima catalasa, la cual se encarga de descomponer el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, permitiendo diferenciar el género *Staphylococcus* (catalasa positiva) de los géneros *Streptococcus* y *Enterococcus* (catalasa negativa).

### 3.6. Fermentación de manitol

Se inoculó mediante estrías la colonia sospechosa en el medio manitol salado y se incubó a  $36 \pm 1$  °C por 24 horas en condiciones de aerobiosis. La concentración extremadamente alta de sal presente en el medio, sólo permite el crecimiento de microorganismos tolerantes a ellas, entre los que se encuentran los del género *Staphylococcus*. El desarrollo bacteriano en este medio, sirve como indicativo de la presencia de *Staphylococcus*.

### 3.7. Prueba de la coagulasa

Se suspendió una pequeña porción de la colonia del microorganismo en estudio, en un tubo que contenía 0,5 ml de plasma citratado. El tubo fue incubado aproximadamente a 37 °C durante 4 horas y se procedió a observar si se formó el coagulo inclinando ligeramente el tubo. Si en ese momento no se observó coagulo, se reincubó el tubo a temperatura ambiente y la lectura se realizó a las 18 horas. Esta prueba se utilizó para diferenciar e identificar *Staphylococcus* coagulasa positiva de los *Staphylococcus* coagulasa negativa.

### 3.8. Identificación de los géneros *Streptococcus* y *Enterococcus*

Se verificaron las características morfológicas de las colonias en agar sangre sospechosas de *Streptococcus* y *Enterococcus* y se tomaron varias de ellas para ser sembradas en agar nutritivo, y luego incubadas a 37 °C por 24 horas en condiciones de microaerofilia. Se realizó la prueba de catalasa y se verificó que fueran catalasa negativa, luego se realizaron las siguientes pruebas bioquímicas para la identificación de las especies:

### 3.9. Prueba de bilis-esculina

Se tomaron de 2 a 3 colonias del medio de aislamiento primario con un asa de platino y luego se inoculó la superficie del agar bilis esculina inclinado. Se incubó el medio a 37 ° C por 24 horas en condiciones de microaerofilia (3-6% de CO<sub>2</sub>). Posteriormente se observó la presencia de un ennegrecimiento en el medio, lo que indica la positividad de la prueba. Esta prueba se basa en la capacidad que tiene ciertas bacterias de hidrolizar el glucósido esculina a esculetina y glucosa en presencia de bilis. Ayuda en la identificación y diferenciación de las especies de *Enterococcus* del grupo D y las especies de *Streptococcus* del grupo D no enterocócico de otros estreptococos que no son del grupo D.

### 3.10. Prueba de tolerancia de crecimiento en 6,5% de cloruro de sodio (NaCl)

Esta prueba se realizó tomando 2 a 3 colonias de la cepa sospechosa con un asa de platino, luego se inoculó en un tubo con caldo de infusión cerebro corazón, adicionando una concentración de 6,5 % de cloruro de sodio y se incubó en una estufa por 24 horas a 37 ° C. Si el medio se tornó turbio, indicó crecimiento y una prueba positiva, si se mantuvo igual la prueba se consideró como negativa. Esto permite comprobar la capacidad que tienen los microorganismos de crecer en presencia de cloruro de sodio al 6,5 , diferencia las especies *Enterococcus* de los *Streptococcus* grupo D.

### 3.11. Prueba de CAMP

Esta prueba se realiza efectuando una siembra única de los estreptococos en agar sangre perpendicular a una inoculación de *Staphylococcus aureus* productora de β-lisina, luego se incubó a 37 ° C

por 24 horas en condiciones reducidas en oxígeno. Esto permite diferenciar e identificar de manera presuntiva cepas humanas de *Streptococcus agalactiae* del grupo B de otras especies de *Streptococcus*.

### 3.12. Prueba de hidrólisis del hipurato

Inocular un tubo de hipurato de sodio con el microorganismo en estudio, incubar a 37 ° C durante 20 horas o más. Se centrifuga el medio y se pipetea 0,8 ml del sobrenadante y se agrega en un tubo limpio. Posteriormente se agregó 0,2 ml de reactivo de cloruro férrico y se mezcló. Una prueba positiva se evidencia por un precipitado denso dentro de los 10 minutos. Esto permite la diferenciación de *Streptococcus* β-hemolítico del grupo B (*S. agalactiae*) de especies humanas de *Streptococcus* β-hemolítico.

### 3.13. Identificación de los bacilos Gram negativos

#### 3.13.1. Prueba de la oxidasa

Se impregnó un papel de filtro con unas gotas del reactivo tetrametilparafenilendiamina y luego se tomó una colonia del microorganismo en estudio procedente del agar nutritivo y se colocó en el papel. Se esperó un tiempo de 10 segundos y al aparecer un color morado (en el sitio donde fue colocada la colonia) indicó un resultado positivo para la prueba, el cual permitió identificar géneros como *Pseudomonas* (oxidasa positiva), y un resultado negativo pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae (oxidasa negativa).

#### 3.13.2. Fermentación de carbohidratos

En tubos con el medio con hierro de Kligler (KIA), solidificado en

bisel, se procedió a realizar la siembra por punción y estría de la colonia sospechosa. Se dejó incubar a 37 ° C durante 24 horas. Este medio permite la diferenciación de los bacilos Gram negativos, tomando en cuenta la capacidad de fermentar o no la glucosa y lactosa, así como la producción de ácido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S) y gas.

La interpretación de la lectura del medio indicó fermentación, presencia de burbujas indicó formación de gas y ennegrecimiento del medio la producción de ácido sulfhídrico.

#### 3.13.3. Utilización de citrato

En tubos con el medio solidificado en bisel, se procedió a realizar la siembra por estría de la colonia sospechosa en la superficie del medio y luego se incubó a 37 ° C durante 24 horas. Esta prueba se utilizó para determinar si la bacteria es capaz de utilizar el citrato como única fuente de carbono y las sales de amonio como única fuente de nitrógeno para el metabolismo, provocando así la alcalinidad del medio; y por lo tanto, viraje azul oscuro del indicador de pH azul de bromotimol (prueba positiva). También se consideró la prueba positiva al observar el crecimiento de bacterias en la superficie del agar sin cambio de color en el medio.

#### 3.13.4. Descarboxilación de la lisina

Se procedió a inocular por punción y estrías una colonia sospechosa en el medio Lisina Hierro Agar (LIA), luego se incubó a 37 ° C durante 24 horas. Esta prueba se utilizó con la finalidad de determinar la capacidad de la bacteria de producir la enzima lisina descarboxilasa capaz de atacar aminoácidos hasta amina que elevan el pH del medio y hacen virar el indicador púrpura de bromocresol a púrpura intenso, considerando la prueba positiva.

#### 3.13.5. Hidrólisis de la urea

La colonia sospechosa fue inoculada en tubos que contenían agua peptonada y a los que se les agregó 3 a 4 gotas del reactivo de urea. Posteriormente, los tubos fueron incubados a 37 ° C por un tiempo de 24 horas. Esta prueba se utilizó con la finalidad de determinar la capacidad de la bacteria para sintetizar la enzima ureasa capaz de hidrolizar la urea en dos moléculas de amoníaco, las cuales en solución acuosa reaccionan para formar carbonato de amonio, que provoca la alcalinización del medio y por lo tanto el viraje de color del indicador rojo de fenol a fucsia, considerando la prueba positiva.

#### 3.13.6. Rojo de metilo

Se procedió a realizar la inoculación de la colonia sospechosa en tubos que contenían caldo Rojo de Metilo-Voges Proskauer (RMVP) y que luego fueron incubados a 37 ° C durante 24 horas. Transcurrido este tiempo, se le agregó a cada tubo 3 gotas del reactivo rojo de metilo, considerándose la prueba positiva cuando se mantenían un anillo de color rojo en el medio y por el contrario la prueba es negativa si había un viraje del indicador de rojo a amarillo. Con esta prueba se pudo determinar si la bacteria utilizó la vía de los ácidos mixtos o la vía de butilenglicol para degradar la glucosa presente en el medio.

#### 3.13.7. Determinación de indol-motilidad y Descarboxilación de la ornitina

En tubos que contenían el medio solidificado, se procedió a inocular la colonia sospechosa y posteriormente fueron incubados a 37 ° C durante 24 horas. Esta prueba se utilizó para determinar la motilidad del microorganismo; la producción del indol y la producción de la enzima ornitina descarboxilasa por parte de la bacteria. La motilidad se evidenció

mediante la turbidez del medio a partir de la línea de punción. La producción de indol se basó en la formación de un complejo de color rojo en la superficie del medio, cuando el triptófano es degradado por la enzima triptofanasa, obteniéndose indol, el cual reacciona con el aldehído del p- dimetil aminobenzaldehído, producto químico activo del reactivo de Kovacs. La producción de la enzima ornitina descarboxilasa la cual es capaz de reaccionar con la porción carboxilo (COOH) de la ornitina formando aminas de reacción alcalina que elevan el pH y hacen virar el indicador púrpura de bromocresol a púrpura intenso, considerándolo positivo.

#### 3.13.8. Utilización del malonato

Se inoculó una colonia en caldo malonato y se incubó a 37 ° C por 24 horas, para determinar la capacidad de un microorganismo de utilizar el malonato de sodio como única fuente de carbono y el sulfato de amonio como única fuente de nitrógeno produciendo un aumento de la alcalinidad o formación de hidróxido de sodio (NaOH). La aparición de un color azul indicaba una prueba positiva.

#### 3.13.9. Fenilalanina desaminasa

En el tubo que contenía el agar solidificado, se inoculó el pico de flauta con una colonia del microorganismo aislado en cultivo puro de agar MacConkey. Después de incubación a 37 ° C durante 24 horas, se agregaron 4 a 5 gotas de cloruro férrico directamente a la superficie del agar. La aparición inmediata de un intenso color verde, indica la presencia de ácido fenilpirúvico y una prueba positiva.

#### **4. Determinación de anticuerpos monoclonales IgA anti *Chlamydia trachomatis***

##### **4.1. Obtención de la muestra**

A cada paciente se le extrajo un volumen entre 5 y 7 ml de sangre de la vena cubital media con jeringa estéril y previa antisepsia. Las muestras se colocaron en tubos secos y estériles, se centrifugaron a 3 000 rpm durante 10 minutos para la obtención del suero (Hamilton y Rose, 1985).

La determinación serológica de anticuerpos IgA se realizó haciendo uso de un kit de InmunoComb II *Chlamydia trachomatis* monovalente IgA de Orgenics (anexo 4). La prueba se basa en un ensayo inmunoenzimático indirecto de fase sólida (EIA), a través del cual determinó semicuantitativamente la presencia de anticuerpos contra *C. trachomatis* en suero, para ello se emplearon bandejas de desarrollo proporcionadas por el kit, que permitieron realizar varias determinaciones simultáneamente (Clad *et al.*, 1994).

El mecanismo principal de InmunoComb II *Chlamydia trachomatis* monovalente IgA, es un peine de 12 proyecciones (dientes), cada uno sensibilizado en dos áreas reactivas; un área superior con inmunoglobulina humana (control interno), y un área inferior con antígenos inactivados de *C. trachomatis*, los cuales forman un complejo coloreado al ser incubados con suero de pacientes con anticuerpos IgA anti *C. trachomatis* (Black, 1997) (anexo 5).

## 4.2. Técnica

La bandeja de desarrollo, fue incubada previamente a 37 ° C durante 20 minutos y luego se agitó vigorosamente antes de usarla. Posteriormente, se diluyeron 25 µl de cada uno de los sueros y de los controles con 75 µl de solución diluyente (anexo 6). Luego, se dispensó 25 µl de cada uno de los sueros diluidos en cada uno de los pocillos A de la bandeja de desarrollo, se insertaron los peines proporcionados por el kit en los respectivos pocillos, y se incubó durante 60 minutos a 37 ° C; transcurrido el tiempo, se procedió a realizar el lavado de los peines agitando durante el curso de dos (2) minutos, perforando los pocillos correspondientes a la fila B, los cuales disponen de solución de lavado.

Posteriormente, se insertó en la fila C y se incubó durante 20 minutos a la misma temperatura, en donde se obtuvo la unión del conjugado. Siguiendo a esto, se insertaron los peines en la fila D y E para realizar un segundo y tercer lavado aplicando el mismo procedimiento de lavado, y se insertaron en la fila F incubándose durante 10 minutos; por último, se procedió a la detección de la reacción colocando nuevamente los peines en la fila E durante 1 minuto y se procedió a leer los resultados de la prueba.

Cada peine tiene un control interno, el cual se evidencia con la formación de un punto coloreado en el extremo superior, vale la pena señalar que es indispensable la formación de este punto coloreado independientemente si la prueba es positiva o negativa, ya que indica que la técnica fue aplicada de manera correcta, o si se encuentra en condiciones óptimas para determinar los anticuerpos IgA.

El umbral de interpretación de los resultados, se realizó haciendo uso de su reglilla que forma parte de los componentes del kit de reactivos,

la cual contiene indicadores de títulos de anticuerpos, señalándolos por variaciones en la intensidad de color (anexo 7). El resultado del paciente es obtenido al comparar el punto coloreado formado en el peine con los mostrados en la reglilla. La aparición de un punto coloreado en el extremo inferior del peine con mayor o igual intensidad que el control positivo, indicó la presencia de anticuerpos IgA anti *C. trachomatis*, con un título igual o mayor a 1:8, ya que se produjo una reacción entre estos últimos y el inmunoreactivo adherido a la fase sólida, que luego formaron un complejo con el inmunoreactivo marcado con fosfatasa alcalina, lo que dio como resultado la proporcionalidad entre la cantidad de color y la cantidad de anticuerpos presentes en la muestra estudiada; la formación de una coloración de menor intensidad que el del control positivo, o bien, cuando no hubo coloración, se consideró el resultado como negativo. A fin de confirmar el funcionamiento correcto de la prueba y demostrar la validez de los resultados, se verificó con un control positivo y uno negativo (Clad *et al.*, 1994; Katz *et al.*, 1994). La sensibilidad para la determinación de anticuerpos monoclonales IgA anti *Chlamydia trachomatis* es de 96,0 % (Clad *et al.*, 1994)

##### **5. Determinación de anticuerpos bivalentes IgG contra *Chlamydia trachomatis* y *Chlamydia pneumoniae***

La prueba Inmunocomb *Chlamydia* bivalente IgG es un ensayo inmunoenzimático indirecto de fase sólida. La fase sólida es un peine de 12 proyecciones (dientes). Cada diente está sensibilizado entres puntos: Un punto superior constituido por anticuerpos de cabra contra inmunoglobulina humana (control interno), un punto medio, la cual contiene antígenos inactivados de *C. pneumoniae* y un punto inferior con antígenos inactivados de *C. trachomatis*, este punto fue el que se utilizó para la prueba . La bandeja de desarrollo tiene 6 filas (A-F) de 12 pocillos. Cada fila contiene una solución reactiva para ser utilizada en cada etapa del ensayo. La prueba se realizó en etapas, pasando el peine de una fila a

otra, con un período de incubación en cada etapa.

Al comienzo de la prueba, las muestras de suero se prediluyeron a 1:32 y se agregaron al diluyente en los pocillos de la fila A de la bandeja de desarrollo. El peine luego fue insertado en los pocillos de la fila A. Los anticuerpos anticlamideos, de estar presentes en las muestras, se unieron específicamente a los antígenos clamidiales respectivos en los puntos inferiores del diente. Simultáneamente, las inmunoglobulinas presentes en las muestras fueron capturadas por la anti-inmunoglobulina humana en el punto superior. Los componentes no unidos fueron removidos con un lavado en la fila B. En la fila C, el IgG anticlamideo capturado en el diente reacciona la IgG anti humana marcado con fosfatasa alcalina (FA). En las siguientes dos filas, los componentes no unidos fueron eliminados mediante un lavado. En la fila F, la fosfatasa alcalina unida reacciona con componentes cromógenos. Los resultados pueden observarse como puntos azul grisáceo en la superficie del diente del peine. La prueba incluye un control positivo (anti-*C. trachomatis* y anti- *C. pneumoniae*) y un control negativo, la cual fue incluido cada vez que se realizó la prueba. La sensibilidad de la prueba para la determinación de anticuerpos IgG contra *C. trachomatis* fue de 92,9% y la especificidad de 96,6% (Clad *et al.*, 1994).

### 5.1. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se presentaron a través de estadística descriptiva (tablas y/o gráficas). Además, se aplicó la prueba de Chi cuadrado ( $\chi^2$ ) con un nivel de confiabilidad de 95% (Sokal y Rohlf, 1979), con la finalidad de establecer la asociación entre la presencia de cultivos positivos y negativos con los parámetros espermáticos y entre la presencia de anticuerpos IgA e IgG para *Chlamydia trachomatis* con cultivo negativo y los índices espermáticos.

## RESULTADOS

En el presente estudio se evaluó la calidad espermática de los individuos que acudieron a la Unidad de Fertilidad de la clínica Santa Rosa, en el periodo agosto 2007 y julio 2008. De los 105 pacientes que se estudiaron, el 77,14 % presentaron vitalidad espermática anormal, observándose también un porcentaje de anomalía de forma considerable en parámetros espermáticos tales como: Volumen, licuefacción, viscosidad, pH y concentración espermática (Tabla 1)

Tabla 1. Calidad espermática en pacientes infértiles provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa, Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008.

<b>Variables</b>	<b>Normal</b>	<b>%</b>	<b>anormal</b>	<b>%</b>
Volumen	64	60,95	41	39,05
Licuefacción	65	61,90	40	38,10
Viscosidad	64	60,95	41	39,05
pH	64	60,95	41	39,05
Concentración espermática	68	64,76	37	35,24
Vitalidad espermática	24	22,86	81	77,14

En la tabla 2, se observa el porcentaje de pacientes infértiles con problemas espermáticos, donde la astenozoospermia y la oligozoospermia presentan porcentajes elevados, 96,19 % y 32,38 % respectivamente.

Tabla 2. Parámetros espermáticos alterados en pacientes provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa, Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008.

Parámetros espermáticos	Numero de pacientes	Porcentaje (%)
Oligozoospermia	34	32,38
Azoospermia	3	2,86
Astenozoospermia	101	96,19
hipospermia	18	17,14

De los 105 pacientes con espermocultivos evaluados, 74 (70,48 %), presentaron cultivos positivos y 31(29,52 %) mostraron cultivos negativos (Tabla 3).

Tabla 3. Cultivos positivos y negativos obtenidos en semen de pacientes provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa. Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008.

Cultivos	Nº	%
Positivos	74	70,48
Negativos	31	29,52
Total	105	100,00

De los pacientes con cultivos positivos, se logró aislar un total de 99 bacterias. En la tabla 4, se evidencia la frecuencia de aislamiento de las distintas especies bacterianas encontradas. *Enterococcus faecalis*, fue la especie hallada con mayor frecuencia, con 40 (40,40%) aislamientos, seguido en segundo orden por *Staphylococcus coagulasa negativa* con 17(17,17%). *Ureaplasma urealyticum* y *Escherichia coli*, ocuparon el tercero y cuarto puesto de aislamientos, con 16(16,16%) y 10(10,01%), respectivamente.

Tabla 4. Frecuencia de bacterias en espermocultivos de pacientes provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa. Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008.

Géneros	Número de aislamientos	Porcentaje (%)
<i>Enterococcus faecalis</i>	40	40,40
<i>Staphylococcus</i> coagulasa negativa	17	17,17
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	16	16,16
<i>Escheriachia coli</i>	10	10,01
<i>Klepsiella pneumoniae</i>	5	5,05
<i>Proteus mirabilis</i>	3	3,03
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	2,02
<i>Staphylococcus</i> coagulasa positiva	2	2,02
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	1,01
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	1,01
<i>Citrobacter freundii</i>	1	1,01
<i>Micoplasma hominis</i>	1	1,01
Total	99	100,00

En la tabla 5, se observa la asociación entre los cultivos positivos y negativos con la concentración espermática de los pacientes estudiados, donde se encontró que no existe asociación estadísticamente significativa entre las variables estudiadas ( $\chi^2 = 0,23$ ;  $p > 0,05$ )

Tabla 5. Asociación entre la presencia de cultivos positivos y negativos y la concentración espermática, de pacientes provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa, Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008.

Concentración espermática	Cultivo positivo	%	Cultivo negativo	%	Total	Total (%)
Normal	49	46,67	19	18,10	68	64,77
Anormal	25	23,81	12	11,42	37	35,23
Total	74	70,48	31	29,52	105	100,00

ns= no significativo, (p > 0,05)

$$\chi^2 = 0,23 \text{ ns}$$

Al asociar la presencia de cultivos positivos y negativos con la concentración espermática de los pacientes estudiados, se pudo observar que no se encontró asociación estadísticamente significativa ( $\chi^2 = 0,22$ ; p > 0,05). Es importante señalar que de los 74 cultivos positivos obtenidos del espermocultivo, 58(55,24%) correspondieron a una vitalidad espermática anormal (Tabla 6).

Tabla 6. Asociación entre la presencia de cultivos positivos y negativos y la vitalidad espermática, en pacientes provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa, Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008.

Vitalidad espermática	Cultivo positivo	%	Cultivo negativo	%	Total	Total (%)
Normal	16	15,24	8	7,62	24	22,86
Anormal	58	55,24	23	21,90	81	77,14
Total	74	70,48	31	29,52	105	100,00

ns= no significativo, (p > 0,05)

$$\chi^2 = 0,22 \text{ ns}$$

En la tabla 7 se puede observar que no existe asociación estadísticamente significativa ( $\chi^2 = 0,002$ ;  $p > 0,05$ ) entre la presencia de cultivos positivos y negativos con el volumen espermático presente en los pacientes estudiados. Además se muestra que de los 74 cultivos positivos encontrados en el semen de los pacientes estudiados, 29(27,62%) presentaron volúmenes espermáticos anormales.

Tabla 7. Asociación entre la presencia de cultivos positivos y negativos y el volumen espermático, en pacientes provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa, Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008.

Volumen espermático	Cultivo positivo	%	Cultivo negativo	%	Total	Total (%)
Normal	45	42,86	19	18,10	64	60,96
Anormal	29	27,62	12	11,42	41	39,04
Total	74	70,48	31	29,52	105	100,00

ns= no significativo, ( $p > 0,05$ )

$$\chi^2 = 0,002 \text{ ns}$$

En la tabla 8 se muestra la asociación entre la presencia de cultivos positivos y negativos con la licuefacción del semen de los pacientes muestreados, donde se puede observar, según la prueba de Chi cuadrado ( $\chi^2$ ), que no hubo diferencia estadísticamente significativa ( $\chi^2 = 0,007$ ;  $p > 0,05$ ). De un total de 74 cultivos positivos encontrados, 28 (26,67%) correspondieron a pacientes con licuefacción espermática anormal.

Tabla 8. Asociación entre la presencia de cultivos positivos y negativos con la licuefacción del semen, en pacientes provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa, Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008.

Licuefacción	Cultivo positivo	%	Cultivo negativo	%	Total	Total (%)
Normal	46	43,81	19	18,10	65	60,96
Anormal	28	26,67	12	11,42	40	38,09
Total	74	70,48	31	29,52	105	100,00

ns= no significativo, ( $p > 0,05$ )

$$\chi^2 = 0,007 \text{ ns}$$

En la tabla 9 se puede observar la asociación entre la presencia de cultivos positivos y negativos con la viscosidad del semen de los pacientes estudiados. Se encontró que no hubo diferencias significativas entre las dos variables ( $\chi^2 = 0,002$ ;  $p > 0,05$ ), cuando se aplicó la prueba de Chi cuadrado ( $\chi^2$ ). Obteniéndose además que, de los 74 cultivos positivos en el semen, 29(27,62%) correspondieron a viscosidades anormales.

Tabla 9. Asociación entre la presencia de cultivos positivos y negativos y la viscosidad del semen, en pacientes provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa, Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008.

Viscosidad	Cultivo positivo	%	Cultivo negativo	%	Total	Total (%)
Normal	45	42,86	19	18,10	64	61,96
Anormal	29	27,62	12	11,42	41	39,04
Total	74	70,48	31	29,52	105	100,00

ns= no significativo, (p > 0,05)

$$\chi^2 = 0,002 \text{ ns}$$

En la tabla 10 se muestra la asociación entre los cultivos positivos y negativos en las muestras de semen con respecto al pH presente en los individuos estudiados, observándose que, de 74 cultivos positivos 29 (27, 62%) presentaron pH anormales, al aplicar la prueba de Chi cuadrado ( $\chi^2$ ) no se encontró diferencias estadísticamente significativas ( $\chi^2 = 0,002$ ; p > 0,05).

Tabla 10. Asociación entre la presencia de cultivos positivos y negativos y el pH del semen, en pacientes provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa, Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008.

pH	Cultivo positivo	%	Cultivo negativo	%	Total	Total (%)
Normal	45	42,86	19	18,10	64	61,96
Anormal	29	27,62	12	11,42	41	39,04
Total	74	70,48	31	29,52	105	100,00

ns= no significativo, (p > 0,05)

$$\chi^2 = 0,002 \text{ ns}$$

La figura 1 señala los resultados de IgA e IgG anti *Chlamydia trachomatis* realizado en 105 muestras de suero, obtenidas de cada uno de los pacientes infértiles incluidos en el estudio, de los cuales 61 resultaron positivos ocupando un 58,09 % y 44 negativos representando un 41,91 %.

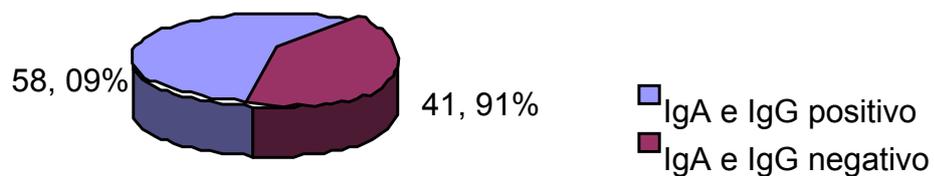


Figura 1. Distribución porcentual de resultados positivos y negativos para anticuerpos IgA- IgG anti *Chlamydia trachomatis* de pacientes de pacientes masculinos infértiles provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa, Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008.

El análisis estadístico aplicado para asociar la presencia de anticuerpos IgA e IgG anti-*Chlamydia trachomatis* en pacientes con cultivo negativo, con respecto a la concentración espermática, demostró que no existe asociación estadísticamente significativa ( $\chi^2 = 0,16$ ;  $p > 0,05$ ) (Tabla 11).

Tabla 11 Asociación entre la presencia de anticuerpos IgA e IgG para *Chlamydia trachomatis* con cultivo negativo y la concentración espermática, en pacientes provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa, Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008.

Concentración espermática	IgA e IgG positivo	%	IgA e IgG negativo	%	Total	Total (%)
Normal	13	41,94	6	19,35	19	61,29
Anormal	8	25,81	4	12,90	12	38,71
Total	21	67,75	10	32,25	31	100,00

ns= no significativo, (p > 0,05)

$$\chi^2 = 0,16 \text{ ns}$$

Al asociar la presencia de anticuerpos IgA e IgG anti-*Chlamydia trachomatis* en pacientes con cultivo negativo, en comparación con la vitalidad espermática, se encontró que el grupo más afectado fue el que presentaba vitalidad espermática anormal con presencia de anticuerpos IgA e IgG positivo (54,84%), pero no existió asociación estadísticamente significativa ( $\chi^2 = 0,23$  ; p > 0,05) (Tabla 12)

Tabla 12. Asociación entre la presencia de anticuerpos IgA e IgG para *Chlamydia trachomatis* con cultivo negativo y la vitalidad espermática, en pacientes provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa, Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008.

Vitalidad espermática	IgA e IgG positivo	%	IgA e IgG negativo	%	Total	Total (%)
Normal	4	12,90	2	6,45	6	19,35
Anormal	17	54,84	8	25,81	25	80,65
Total	21	67,74	10	32,26	31	100,00

ns= no significativo, (p > 0,05)

$$\chi^2 = 0,23 \text{ ns}$$

Cuando se asoció la presencia de anticuerpos IgA e IgG para *Chlamydia trachomatis* con cultivo negativo y el volumen espermático, se observó que al aplicar el análisis estadístico Chi cuadrado, se encontró que no hubo asociación estadística significativa ( $\chi^2 = 0,39$ ;  $p > 0,05$ ) (Tabla 13)

Tabla 13. Asociación entre la presencia de anticuerpos IgA e IgG para *Chlamydia trachomatis* con cultivo negativo y el volumen espermático, en pacientes provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa, Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008.

Volumen espermático	IgA e IgG positivo	%	IgA e IgG negativo	%	Total	Total (%)
Normal	13	41,94	5	16,13	18	58,07
Anormal	8	25,80	5	16,13	13	41,93
Total	21	67,74	10	32,26	31	100,00

ns= no significativo, ( $p > 0,05$ )

$$\chi^2 = 0,39 \text{ ns}$$

Al asociar la presencia de anticuerpos IgA e IgG para *Chlamydia trachomatis* con cultivo negativo y la licuefacción del esperma, se encontró que no hubo asociación estadísticamente significativa, al aplicar la prueba de Chi cuadrado ( $\chi^2 = 0,39$ ;  $p > 0,05$ ) (Tabla 14).

Tabla 14. Asociación entre la presencia de anticuerpos IgA e IgG para *Chlamydia trachomatis* con cultivo negativo y la licuefacción del semen, en pacientes provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa, Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008.

Licuefacción	IgA e IgG positivo	%	IgA e IgG negativo	%	Total	Total (%)
Normal	13	41,94	7	22,58	20	64,52
Anormal	8	25,80	3	9,68	11	35,48
Total	21	67,74	10	32,26	31	100,00

ns= no significativo, (p > 0,05)

$$\chi^2 = 0,39 \text{ ns}$$

En los pacientes en que se reportaron espermocultivos negativos, el 80,00% presentó vitalidad espermática anormal, mientras que en los positivos a 1 colonia este porcentaje bajo al 65,12%, aumentando luego cuando desarrollaron 2 tipos diferentes de colonias bacterianas afectando ésta la vitalidad espermática, reportándose anormal en el 86,84%, Siguiendo la tendencia cuando el 85,71% de los espermocultivos positivos a 3 microorganismos diferentes fue catalogado con vitalidad anormal (Figura 2)

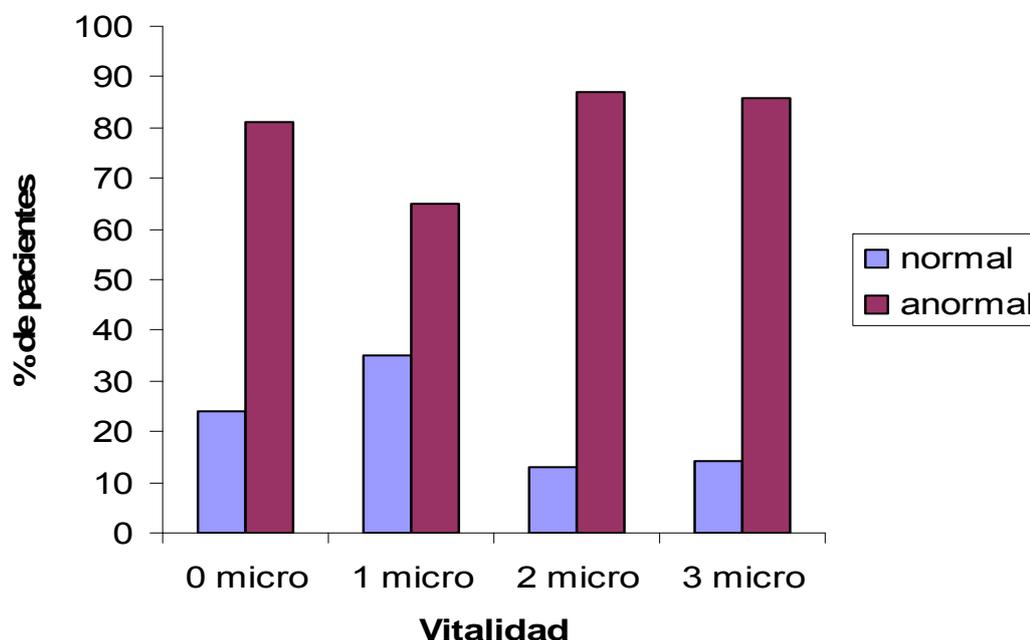
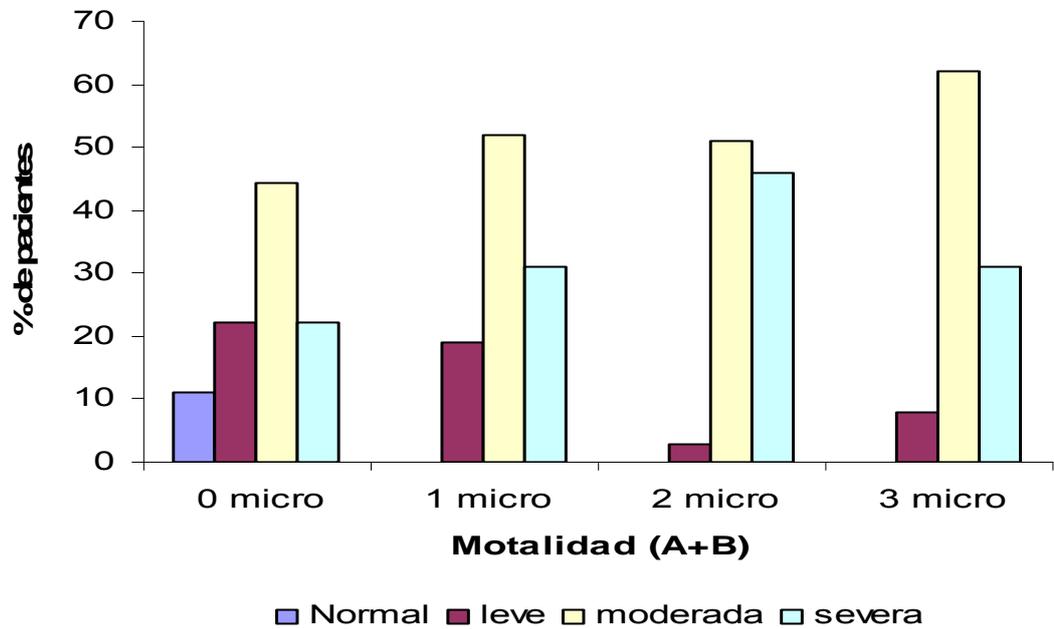


Fig. 2. Modificación de la vitalidad espermática de acuerdo al número de microorganismos reportados en los pacientes provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa, Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008.

De los 9 pacientes en los que se reportó espermocultivo negativo el 88,88% presentó algún grado de astenozoospermia siendo de 22,22%, 44,44% y 22,22% para los grados leve moderada y severa respectivamente, el 100,00% de los 42 pacientes que presentaron desarrollo bacteriano de 1 colonia bacteriana en el espermocultivo, los espermatozoides presentaron astenozoospermia en diferente grado, leve (19,05%), moderada (50,00%) y severa (30,95%), los análisis seminales que coincidían con desarrollo microbiológico de 2 agentes, la motilidad siguió disminuyendo considerablemente en el 100,00% de 37 pacientes, los grados de astenozoospermia para este grupo fue de 2,70%, 51,35% y 45,95% para leve, moderada y severa respectivamente. De los 13 pacientes con desarrollo de 3 colonias diferentes en el espermocultivo, presentaron astenozoospermia en diferente grado: leve (7,69%), moderada (61,54%) y severa (30,77%) (Figura 3).



Normal: motilidad > 50%

Leve: motilidad (49% - 40%)

Moderada: motilidad (39% – 21%)

Severa: motilidad (menor de 20%)

Fig. 3 Modificación de la motilidad espermática (a+b) con respecto al número de microorganismos reportados en los pacientes provenientes de la Unidad de Fertilidad del laboratorio de la Clínica Santa Rosa, Cumana, estado Sucre. Agosto 2007- julio 2008.

## DISCUSIÓN

Las enfermedades del tracto reproductivo se han convertido en un serio problema de salud a nivel mundial, afectando tanto a hombres como a mujeres, a sus familias y a comunidades enteras. Pueden tener severas consecuencias, entre ellas, la infertilidad, que tiene variadas causas, tales como: neuroendocrinas, morfo funcionales, inmunológicas, ambientales, infecciosas, psicológicas etc. Sólo en la última década se ha empezado a dar importancia a las infecciones como causa de infertilidad de las parejas, tal vez porque las enfermedades de transmisión sexual han aumentado en la población mundial en forma alarmante, produciendo patologías que culminan en infertilidad de la pareja (Muñoz, 2000).

Según algunos estudios epidemiológicos publicados indican que en las últimas décadas la calidad espermática en diferentes países del mundo se esta deteriorando, hoy en día, no es raro ver o encontrar hombres jóvenes de 20 a 25 años con eyaculaciones de muy mala calidad; en el presente estudio se determinó que el 77,17 % de los pacientes con problemas de fertilidad presentaron vitalidad espermática anormal, lo que indica que dicha población esta siendo afectada por alguna causa, que pudieran ser: alcoholismo, tabaquismo, drogas, factores ambientales, infecciones entre otras. La Organización mundial de la Salud considera que existe infertilidad masculina cuando hay alteración del espermatograma fundamentalmente de la calida seminal, definida por la concentración de espermatozoides, la motilidad, la vitalidad y morfología, asociada a alteraciones propias del líquido seminal ( OMS, 1999).

En un estudio realizado en México por Rojas *et al.*, (1998)

encontraron que el 71 % de pacientes infértiles con cultivos positivos para bacterias, presentaban vitalidad espermática anormal.

La astenozoospermia y oligozoospermia constituyen las alteraciones más frecuentes del semen en los pacientes con infertilidad. Por lo general, la astenozoospermia es de origen desconocido por lo que también ocasiona dificultades para su diagnóstico y consecuente tratamiento. En esta investigación se encontraron porcentajes de astenozoospermia y oligozoospermia de 96,19% y 32,38%, lo que indica que la población estudiada tiene un alto porcentaje de estas anomalías, al respecto se conoció que en un estudio realizado en Perú, entre los años de 1990 a 1992, específicamente en 242 varones del servicio de andrología (Hospital Cayetano Heredia), se encontró que la anomalía más frecuente en espermogramas de varones es la astenozoospermia (33%), consecuencia probable de un proceso inflamatorio en el tracto reproductivo (Torres y Gonzáles, 1995). En 1999 otro estudio en 404 varones del servicio de Andrología (Hospital Militar Central) concluyó que la alteración seminal más frecuente fue la astenozoospermia (64,1%) y en el recuento de espermatozoide la alteración más frecuente fue la oligozoospermia, que se presentó en el 13 % (Alvizuri, 1999).

En los cultivos bacterianos de los pacientes infértiles estudiados se encontró un porcentaje de cultivos positivos del 70,48%, esto demuestra que dichos pacientes se encuentran expuestos a infecciones de este tipo. En un estudio realizado por Terriquez y González (2003) encontraron resultados muy similares al presente estudio, ellos demostraron en 277 pacientes infértiles evaluados, que el porcentaje de cultivos positivos en semen para un desarrollo bacteriano de 1 a 4 colonias fueron del 72,4 %, sin embargo, nuestros resultados difieren de lo reportado por Shalika *et al* (1996) quienes encontraron en el semen de 101 pacientes infértiles una frecuencia de 32% de cultivos positivos, al igual que Rojas *et al* (1998)

quienes también reportaron un porcentaje de pacientes con cultivos espermáticos positivos de un 39 %.

Las infecciones bacterianas del tracto genital masculino es un factor etiológico importante en la infertilidad masculina, ya que afectan sitios anatómicos relacionados con el aparato reproductor masculino (testículo, epidídimo, glándulas accesorias y conductos eyaculadores), conduciendo al deterioro de los diferentes estadios de la espermatogénesis, afectando la producción y la calidad del semen (Terriquez y González, 2003). Todo bloqueo de los canales espermáticos, de los conductos seminales o del tracto urinario es un impedimento para que la esperma sea eyaculado. Los bloqueos son una causa de infertilidad que ocurren comúnmente. Pueden ser causados por infecciones (incluyendo enfermedades de transmisión sexual – ETS).

La frecuencia de aislamientos bacterianos en semen de pacientes infértiles mostraron un mayor porcentaje de *Enterococcus faecalis* con un 40,40 %, seguido de *Staphylococcus coagulasa negativa* (17,17 %), *Ureaplasma urealyticum* (16,16 %) y *Escherichia coli* con 10,01 %. Al respecto, en el Centro de Fertilidad de Maryland USA, se realizó una investigación para examinar el efecto de espermocultivos positivos con colonias bacterianas en los procesos de fertilización in-vitro, donde se encontró que la gran mayoría de los espermocultivos, reveló la presencia de *Enterococcus* con un 73,00 %, seguido por *Ureaplasma urealyticum* (11,00 %) y *Escherichia coli* con 8,00 % (Shalika et al., 1996). En un estudio de espermocultivos realizados en 171 pacientes infértiles salvadoreños en el periodo 2005- 2006, revelaron la presencia de distintas bacterias, donde las mas frecuentes fueron: *Escherichia coli*, *Staphylococcus coagulasa negativa* y *Enterococcus faecalis* (<http://www.elsalvador.com>).

En otro estudio realizado por Gdoura *et al.*, (2007) encontraron en un total de 120 semen de hombres infértiles a *Ureaplasma urealyticum* como la especie mas frecuente con un 15,00%, resultado que se asemeja a lo expresado en este estudio. La frecuencia de *U. urealyticum* en muestras de semen de pacientes infértiles reportadas en la literatura, varia entre 5 a 42 % (De Jong *et al.*, 1990; Knox *et al.*, 2003; Rosemond *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2006).

En las tablas 5,6, 7, 8, 9 y 10, muestran la asociación entre los parámetros espermáticos (concentración espermática, vitalidad espermática, volumen espermático, licuefacción, viscosidad y pH del semen) con los cultivos positivos y negativos de los pacientes infértiles, encontrándose que no hubo asociación estadísticamente significativa entre cada uno de los parámetros. A pesar de estos resultados, se pudo observar que un porcentaje del 55,24 % de pacientes infértiles tenía vitalidad espermática anormal, lo que es probable que el proceso infeccioso en ellos este produciendo tal anormalidad.

Muchas veces los resultados satisfactorios de estos parámetros seminales convencionales no se corresponden con los resultados que desde el punto de vista de fertilidad tienen estos individuos, por lo que clínicamente no son siempre suficientes para demostrar la función espermática y fertilidad masculina. El hecho de no encontrar alguna asociación entre los cultivos positivos con los parámetros espermáticos estudiados no indica que la capacidad funcional de los espermatozoides no se encuentra comprometida, ya que tanto las bacterias, como sus productos y el incremento de la peroxidación de la infección, podrían ocasionar cambios químicos y moleculares en la membrana espermática, que afectan la reacción acrosómica y su capacidad de fusión con el ovocito, así como daños en el ADN espermático (Hungerhuber *et al.*, 2004; Martínez y Camejo, 2007).

Las infecciones seminales en el hombre son de poca sintomatología, por lo que permanecen largo tiempo sin ser identificadas y generan secuelas que pueden conducir a la infertilidad. Se ha determinado que existe una relación entre la leucocitospermia y los defectos morfológicos en los espermatozoides que no solo compromete los eventos de fertilización del hombre, sino la implantación, e incluso, embarazo futuro (Aziz, *et al.*, 2004).

Una causa frecuente de infertilidad masculina es el daño producido por procesos infecciosos. Un número de infecciones del tracto genital son establecidas como causantes de infertilidad masculina. Su fisiopatología involucra daño de los túbulos seminíferos u obstrucción del paso de la esperma al epidídimo o conductos eyaculadores. Además algunos microorganismos tienen un impacto desfavorable en la calidad del semen. Algunos estudios realizados en cultivos de semen en pacientes infértiles revelan que ciertas bacterias producen defectos en espermatozoides e inclusive varios autores indican que hay diferencias en el tipo y prevalencia de infección en el hombre fértil o subfértil y que el daño en la función espermática suele ser muy frecuentemente secundario a la epididimitis y la prostatitis crónica (Keck *et al.*, 1998; Khon *et al.*, 1998; Szoke *et al.*, 1998). Sin embargo otros autores no han encontrado relación alguna entre la bacteriospermia y la disminución en la calidad del semen (Gregoriou *et al.*, 1989; Colpi *et al.*, 1989; Ness *et al.*, 1997).

La presencia de gérmenes en el semen, procedentes generalmente de la próstata pueden dar lugar a procesos inflamatorios que obstruyan la vía seminal a cualquier nivel. También pueden adherirse a los espermatozoides afectando la movilidad o a la capacidad fecundante. Los microorganismos pueden favorecer la producción de anticuerpos antiespermáticos con toda una serie de efectos perjudiciales. Las infecciones del líquido seminal aun siendo asintomáticas, son capaces de

inducir alteraciones en la viscosidad y la densidad del líquido espermático, produciendo inmovilización secundaria del espermatozoide (Kohn *et al.*, 1998)

En una investigación realizada en Chile, en la cual se evaluó el efecto de bacterias sobre la reacción del acrosoma en espermatozoides humanos, se comprobó que la incubación con las bacterias (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus*) produjo una significativa reducción de la reacción del acrosoma de los espermatozoides (Schulz *et al.*, 2001). En la actualidad se reconoce también como agentes etiológicos de infertilidad a bacterias gram positivas como *Staphylococcus aureus* y *E. faecalis* (Krieger *et al.*, 1999; Weidner y Ludwig, 2003). Nickel y Costerton (1992) describieron en tres casos, la presencia del *Staphylococcus* coagulasa negativo (*Staphylococcus epidermidis*) tanto en la SPE como en tejido prostático de hombres con prostatitis crónica, sin embargo tanto este como otros estudios (Carson *et al.*, 1982; Wedren, 1989) no han podido demostrar con certeza que estos gérmenes son los verdaderos agentes etiológicos de la prostatitis crónica y no simple colonizadores.

En un estudio realizado por Terriquez y González (2003), donde se correlacionó el número de colonias bacterianas en espermocultivos con alteraciones en los índices del análisis seminal, reveló que la presencia de especies bacterianas reactivas al oxígeno (como *E. faecalis*) afecta la motilidad y bloquean los mecanismos de penetración y fecundación espermática manifestándose como infertilidad masculina. Es importante señalar que en un trabajo realizado en Chile donde se evaluó la apoptosis en espermatozoides humanos inducida por bacterias patógenas, se demostró que *E. faecalis* produjo un aumento significativo en el nivel de apoptosis tardía de los espermatozoides (Villegas *et al.*, 2001).

La infertilidad asociada a la infección por *U. urealyticum* se sospecha desde hace 3 décadas. Kundsín en 1970, reportó por primera vez la presencia de *U. urealyticum* en el tracto genital de una pareja infértil. El rol etiológico de *U. urealyticum* en la infertilidad fue sugerido por Gnarpe y Friberg quienes en 1972 demostraron una frecuencia alta en cultivos positivos en semen de pacientes infértiles (85 %) comparado con un 22 % de hombres fértiles. A nivel experimental se ha comprobado que *U. urealyticum* interactúa *in vitro* con espermatozoides libres, obtenidos de donadores sanos con óptimas características seminales. Concentraciones de 25 unidades cambiadoras de color (UCC) de la bacteria por cada espermatozoide, causaron fuerte reducción de la motilidad y alteración de la permeabilidad de la membrana de espermatozoide demostrada mediante la prueba de shock hipoosmótico, después de cuatro horas de incubación (Núñez-Colange, *et al.*, 1998).

Por su contenido de ureasa, *U. urealyticum* altera el pH local actuando como toxina que en bovinos afecta el movimiento de los cilios del epitelio oviductal *in vitro* (Stalheim, 1976). También posee en su membrana actividad de fosfolipasa (De silva y Quinn, 1991) y una aryl sulfatasa que degrada al receptor sulfogalactoglicerolipídico una vez que se une a la membrana, pudiendo interferir así con la fecundación (Lingwood *et al.*, 1990).

*U. urealyticum* es considerado uno de los patógenos más comunes del tracto genitourinario, pues provoca daño directo al espermatozoide (Wang *et al.*, 2005) y decrecimiento de los niveles de factores inmunosupresores en el plasma seminal, además cambios de pH y prolongación de la licuefacción del semen, lo cual conduce a la declinación de la calidad espermática (Wang *et al.*, 2005). Estudios realizados para investigar la relación entre la infección por *U. urealyticum* y la calidad del semen, demuestran la influencia negativa de este

patógeno en la calidad seminal (Yoshida, 2006), como en otros casos, la infección por *U. urealyticum* estuvo asociada con la alta viscosidad del semen y baja concentración de espermatozoides; sin embargo, la infección no afectó significativamente los índices de calidad de otras muestras de semen implicadas en el estudio (Wang *et al.*, 2006).

*Escherichia coli* ha sido encontrado como causante de disminución de la movilidad del espermatozoide por unión a residuos de manosa en la superficie la cual provoca aglutinación de estos (Wolff *et al.*, 1993). En un estudio realizado en Chile por Villegas *et al.*,(2001) demostraron que la incubación con *E. coli* indujo un aumento significativo en la apoptosis temprana de los espermatozoides.

La infección causada por la bacteria *Chlamydia trachomatis* tiene una elevada incidencia en la infertilidad masculina (Scott, 2004). La población masculina es el reservorio natural de esta bacteria, pero pocas veces provoca síntomas en ellos. En el presente estudio se observó un porcentaje de seropositividad para *C. trachomatis* de 58,09 %, estos resultados son similares a lo reportado por Custo en (1987), quien indica que *C. trachomatis* esta presente en el 71 % de los casos de infertilidad masculina. Otros estudios han informado que las muestras de semen de los compañeros sexuales de mujeres con diagnóstico de infertilidad son positivas a *C. trachomatis* entre 10 y 39,3%. En un estudio realizado por Figuera (2005) en pacientes que acudieron a las consultas de enfermedades de transmisión sexual del ambulatorio “Arquímedes Fuentes”, Cumaná, estado Sucre, encontró un porcentaje de positividad para antiuerpos IgA anti *C. trachomatis* de 50,48%. Sin embargo, Terriquez *et al.* (2003) difiere de estos resultados, reportando un porcentaje de 4,7 % de seropositividad para anticuerpos anti- *C. trachomatis* en hombres infértiles.

Hay que hacer notar que en el presente estudio, no hubo asociación significativa entre la presencia de anticuerpos IgA e IgG anti *Chlamydia trachomatis* en pacientes con cultivos negativos en comparación con la concentración espermática, vitalidad espermática, volumen espermático y licuefacción, sin embargo, se pudo observar un porcentaje de seropositividad para *C. trachomatis* bastante considerable en parámetros espermáticos anormales, como es el caso de la vitalidad espermática con un 54,84%. Al respecto, estudios *in vitro*, coincubando esperma con *C. trachomatis* muestran una declinación significativa en el número de espermatozoides móviles, e incluso, muerte prematura de éstos (Elev *et al.*, 2005), lo que pudiera contribuir al fallo de las técnicas *in vitro* (Pacey y Eley, 2004). Además, esta bacteria puede causar inflamación en los testículos y el escroto, lo cual incide en la calidad del semen, especialmente en la movilidad de los espermatozoides (Satta *et al.*, 2006).

La Chlamidiosis es la enfermedad de transmisión sexual mas frecuente en parejas jóvenes entre 15 a 19 años (Baseviciene *et al.*, 2003), es la causa más frecuente de uretritis y epididimitis no gonococcicas (Moller y Mardh, 1980), prostatitis crónica (Ostaszewska *et al.*, 1998) y enfermedad pélvica inflamatoria (Pavoneen, 1999; Baseviciene *et al.*, 2003).

Aunque no se conoce como *C. trachomatis* deteriora la fertilidad del hombre, se ha reportado su adherencia y penetración al citoplasma del espermatozoide (Wolner-Hansen y Mardh, 1984; Erbenji, 1993). *C. trachomatis* también se ha detectado por medio de microscopio electrónico de transmisión, en los espermatozoides por ensayos *in vitro* y en semen de los pacientes infértiles, donde se han descrito cuerpos elementales adheridos en pieza intermedia, cuello, cabeza y citoplasma espermático (Wolner-Hansen y Mardh, 1984; Erbenji, 1993; Bragina *et*

*al.*, 2001). Mavrov (1995) confirmó con sus observaciones la incorporación de *C. trachomatis* al citoplasma espermático y señaló su localización cercana a la membrana acrosómica, sugiriendo que esto pudiera inducir cambios morfológicos en el acrosoma.

*C. trachomatis* puede traer consigo una reacción inflamatoria que puede facilitar la formación de anticuerpos antiespermáticos (Stanislavov, 1999; Rezacova *et al.*, 1999), o afectar órgano como la próstata cuya reacción inflamatoria puede extenderse a todo el aparato reproductivo (Gattuccio *et al.*, 1988).

Cuando se relacionó la vitalidad espermática normal y anormal con los diferentes tipos de colonias bacterianas presentes en las muestras seminales se encontró que la tendencia fue un aumento en la anormalidad del parámetro estudiado cuando el número de colonias diferentes aumentaba, lo que podría indicar que la presencia de infecciones múltiples esta relacionada de manera directa con la disminución de la vitalidad espermática. Aunque se encontró un porcentaje del 80,00% de espermocultivos negativos con vitalidad espermática anormal, no se descarta que dicho porcentaje pudiera estar relacionado con otro tipo de anormalidad presente en el semen u otro factor de riesgo, como el tabaquismo, el alcoholismo etc. Reportes previos señalan que el principal factor que altera los parámetros espermáticos es el desarrollo de infecciones asintomáticas por diferentes microorganismos, dentro los que se reportan con mayor frecuencia en los espermocultivos (*Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis* y *Escherichia coli*) (Merino *et al.*, 1995; Huwe *et al.*, 1998).

Se ha reportado que la presencia de *U. urealyticum* y/o *C. trachomatis* en combinación con otros microorganismos Gram negativos,

producen un efecto que se ve potenciado en forma directa con el número y tipo de microorganismos presentes en el líquido seminal (Diemer *et al.*, 1996).

En este estudio se encontró que la cantidad de colonias presentes en el semen también afecta de manera directa la motilidad de los espermatozoides, encontrándose una disminución de la motilidad de grado moderado y leve, cuando se aumento el número de diferentes tipos de colonias en los espermocultivos de pacientes infértiles. Este hecho indica que la presencia de infecciones múltiples podría incrementar el grado de astenozoospermia en hombres infértiles, es probable que dichas infecciones produzcan alteraciones directas sobre el espermatozoide y de tipo indirecta sobre las propiedades fisicoquímicas del líquido seminal (Kohn *et al.*, 1998). En reportes previos se ha observado que la producción de radicales libres de oxígeno en las infecciones del tracto genito-urinario masculino producen depleción del contenido energético mediante el bloqueo de enzimas mitocondriales necesaria en el ciclo de krebs, lo cual conlleva a una disminución en la motilidad espermática por deficiencia de ATP, se ha reportado que la peroxidación de lípidos secundaria al exceso de especies reactivas al oxígeno (ROS) bloquea los mecanismos de penetración y fecundación espermática manifestándose como infertilidad masculina (Aitken *et al.*, 1991; Sharma y Agarwal, 1996 ).

## CONCLUSIÓN

La vitalidad espermática la cual representa el porcentaje de espermatozoides vivos en el eyaculado, esta siendo considerablemente afectada en la población estudiada, de igual manera el volumen espermático, el pH, la viscosidad, la licuefacción y la concentración espermática, presentan anormalidad pero en menor proporción.

Los líquidos seminales de los pacientes estudiados presentaron, números de espermatozoides móviles inferior al 50% (astenozoospermia) en un 96,19%, lo que permite inferir que la infertilidad de estos pacientes se debe al deterioro de la motilidad de sus espermatozoides.

Existe una alta frecuencia de aislamientos bacterianos (70,48 %) en los pacientes infértiles estudiados, con predominio de *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus coagulasa negativa*, *Ureaplasma urealyticum* y *Escherichia coli*.

No se encontró asociación estadísticamente significativa entre los cultivos positivos y negativos con los parámetros espermáticos estudiados, a pesar de ello se observó un porcentaje de anormalidad de los índices espermáticos relativamente alto.

En este estudio se observó un alto porcentaje de seropositividad para *Chlamydia trachomatis* en la población de hombres infértiles.

No existe asociación estadísticamente significativa entre la presencia de anticuerpos anti-*Chlamydia trachomatis* y los parámetros: concentración espermática, volumen espermático, licuefacción y vitalidad espermática en los individuos estudiados, pero si se pudo notar un

aumento en el porcentaje de anormalidad en dichos parámetros.

La vitalidad espermática anormal se incrementa cuando el número de colonias por diferentes tipos aumentan en los espermocultivos.

La disminución en la motilidad de los espermatozoides en los pacientes infértiles probablemente sea debido al número de bacterias de diferentes tipos encontrados en los espermocultivos.

## **Recomendaciones**

Promover el estudio bacteriológico del semen en pacientes infértiles con el fin de controlar y evitar posible infertilidad masculina.

Realizar programas continuos de educación, orientados a un ejercicio responsable de la sexualidad.

Realizar un estudio mas preciso donde se tome en cuenta otros factores predisponentes de infertilidad, que permita determinar la influencia de las bacterias como causantes de infertilidad masculina.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aitken, J. R.; Irvine, D. S. y Wu, F. C. 1991. Prospective analysis of sperm. oocy fusion and reactive oxygen species generation as criteria for the diagnosis of infertility. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, (64): 542-551.
- Alvizuri, H. 1999. Prevalencia de oligozoospermia y factores asociados en varones que acudieron por infertilidad al Hospital Militar Central 1993-1998. Tesis Especialista Endocrinología.
- Aziz, N.; Agarwal, A.; Lewis, I.; Sharma, R. y Thomas, A.J. 2004. Novel bacterial culture of semen morphological defects and leukocytospermia. *Int. J. Fertil. Women Med.*, 47: 265-70.
- Barcha, J. 2000. El semen.< <http://www.MIMEDICO.net>> (25 de mayo de 2002).
- Barja, I. y Berrios, L. 2002. Alteraciones de los espermogramas en varones que acudieron por infertilidad de pareja a la unidad de reproducción humana del hospital Edgardo Rebagliati Martins. Enero-Diciembre 2002. Trabajo de post grado. Facultad de Medicina. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú.
- Barten J. 1998. Screening for infertility in Indonesia. Results of examination of 863 infertile couples. *Bull World Health Organ.*, 76(2): 183-7.
- Baseviciene, I.; Labanauskas, L. y Vysniauskaite, N. 2003. Early diagnosis of genital *Chlamydia trachomatis* infection among adolescent girls. *Medicina (Kaunas)*, 39:138-143.

- Black, C. 1997. Current methods of laboratory diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections. *Clinical Microbiology Review.*, 10: 160-184.
- Bragina, E.Y.; Gomberg, M.A. y Dmitriev, G.A.2001. Electron microscopic evidence of persistent chlamydial infection following treatment. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, 15: 405-409.
- Brugh,V.; Matschke, H. y Lipshultz, L. 2003. Male factor infertility. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.*, 32(3): 689-707.
- Calamera, J. 1997. *El espermatograma*. BAESA. Buenos Aires.
- Carson, C. C.; McGraw, V. D. y Zwadyk, P .1982. Bacterial prostatitis caused by *Staphylococcus. saprophyticus*. *Urology*, 19:576-578.
- Clad, A.; Freidank, H.; Plunnecke, J.; Jung, B. y Petersen, E. 1994. *Chlamydia trachomatis* species specific serology: Inmunocomb *Chlamydia* bivalent versus microimmunofluorescence. *Infection*, 22 : 165-173.
- Colpi, G.; Negri, L.; Piffaretti-Yannez, A. y Balerna, M. 1989. Inflammatory pathology of the genital tract and male infertility. A short review. *Acta Eur. Fertil*, 20: 125-132.
- Comhaire, F.; Verschraegen, G. y Vermeulen, L. 1980. Diagnosis of accesory gland infection and its possible role in male infertility. *Int. J. Androl.*, 3: 32-45.
- Cortesse, A. ; Auroux, M.; Jacques, L.; Auer, J.; Feneux, D. y Le Duc, A. 1987. Anomalies de la mobilite des spermatozoides apres infection du sperm humain in vitro. Role d' *Ureaplasma urealyticum*. *Presse Med.*,

(16): 1375-7.

Custo, G.M. ; Lauro, V. ; Saitto, C. y Frongilo, R.F. 1989. Chlamydial infection and male infertility: an epidemiological study. *Arch. Androl.*, 23: 243-248.

De Jong, Z.; Pontonnier, F. y Plante, P. 1988. The frequency of *Chlamydia trachomatis* in acute epididymitis. *Br. J. Urol.*, (62): 76-8.

De Silva, N. y Quinn, P. 1991. Localization of endogenous activity of phospholipases a and C in *Ureaplasma urealyticum*. *J. Clin. Microbiol.*, 29: 1498-1503.

Diemer, T.; Weidner, W.; Michelmann, H.W.; Schiefer, H. G.; Rován, E. y Mayer, F. 1996. Influence of *Escherichia coli* on motility parameters of human spermatozoa *in vitro*. *International Journal of Andrology*, (19): 271-277.

Elev, A.; Pacey, A.A.; Galdiero, M. y Galdiero, F. 2005. Can *Chlamydia trachomatis* directly damage your sperm?. *Lancet Infect. Dis.*, 5.

Erbengi, T. 1993. Ultrastructural observations on the entry of *Chlamydia trachomatis* into human spermatozoa. *Hum. Reprod.*, 8: 416-21.

Figuera, M. 2005. Seroepidemiología de *Chlamydia trachomatis* en pacientes que asistieron a las consultas de enfermedades de transmisión sexual del ambulatorio "Arquimedes Fuentes", Cumana, estado Sucre. Trabajo de grado, Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre.

Gattuccio, F.; Di Trapani, D.; Romano, C.; Turtulici, B.; Milici, M.; Pavone,

- C.; D'Alia, O.; Alaimo, R. y Latteri, M.A. 1988. Urogenital inflammations: aetiology, diagnosis and their correlation with varicocele and male infertility. *Acta Eur. Fertil*, 19: 201-8.
- Gnarpe, H. y Fribert, J. 1972. *Mycoplasma* and human reproductive failure I: The occurrence of different *Mycoplasma* in couples with reproductive failure. *Am. J. Gineacol. Obstet.*, 114: 727.
- González, M. 2005. *Esterilidad masculina*. BAESA. Buenos Aires.
- Gregoriou, O.; Botsis, D.; Papadias, K.; Kassanos, D.; Liapis, A. y Zourlas, P. 1989. Culture of seminal fluid in infertile men and relationship to semen evaluation. *Int. J. Gynaecol. Obstet.*, 28: 149-153.
- Hamilton, H. y Rose, M. 1985. *Diagnóstico Clínico*. Editorial Interamericana. México.
- Hales, D.; Diemer, T. y Hales, K. 1999. Role of cytokines in testicular function. *Endocrine*, (10): 201-217.
- Hellstrom, W. y Neal, D. 1992. Diagnosis and therapy of male genital tract infections. *Infertility and Reproductive Medicine Clinics of North America*, 3: 399-427.
- Huccker, y Coon, A. 1923. Methods of Gram Staining. *Tech. Buil. N. Y St. Agric. Exp.*, 93 (5): 1-37.
- Hull, M.G. 1985. Population study of causes treatment and outcome of infertility. *Brit. Med. J.*, 291: 1693-1967.
- Hungerhuber, E.; Stef C.G. y Siebels, M. 2004. Urogenital infections in

the male and their implications on fertility. *J. of Rep. and Contract.*, 15: 193-200.

Huwe, P.; Diemer, T.; Ludwig, M.; Liu, J.; Schiefer, H. y Weidner, W. 1998. Influence of different uropathogenic microorganisms on human sperm motility parameters in an *in vitro* experiment. *Andrología*, 30(1): 55-59.

Katz, Z.; Levy, R. y Lurie, S. 1994. Positive serology for *Chlamydia*: Is it always for *Chlamydia trachomatis*?. *Gynecology obstetrics Investigation.*, 39: 271-273.

Keck, C.; Gerber-Schafer, C.; Clad, A.; Wilhelm, C. y Breeckwoldt, M. 1998. Seminal infections: Impact on male fertility and treatment options. *Hum Reprod Update.*,(4): 891-903.

Kohn, F.; Erdmann, I.; Oeda, T.; el Mulla, K.; Schiefer, H. y Schill, W. 1998. Influence of urogenital infections on sperm functions. *Andrología*, 30 (1): 73-80.

Koneman, E.; Allen, S.; Janda, W.; Schreckenberger, P. y Winn, W. 2008. *Diagnóstico microbiológico*. Sexta edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires.

Krieger, J. N; Nyberg, L. y Nickel, J. C. 1999. Consensus definition and classification of prostatitis. *JAMA*, 282: 236.

Kruger, T.; Acosta, A.; Simmons, K.; Swanson, R.; Matta, J. y Veeck, L. 1987. New method of evaluating sperm morphology with predictive value for human *in vitro* fertilization. *Urology*, 30: 248-51.

- Kundsin, R. 1976. *Mycoplasmas* in genitourinary tract infection and reproductive failure. In: Progress in Gynecology. Sturgis, S.; Taymor, M. New York. pp 275.
- Lingwood, C.; Queen, P. y Wilansky, S. 1990. Common sulfoglycolip receptor for *Mycoplasmas* involved in animal and human infertility. *Biol. Reprod.*, 43: 694-697.
- MacFaddin, J. 2002. *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Tercera edición.* Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires.
- Martínez, E. y Camejo, M. 2007. Prevalencia de infecciones en plasma seminal humano. *Medicina*, 67 (1): 128.
- Mavrov, G.I. 1995. An electron microscopic study of the interaction of *Chlamydia trachomatis* with human spermatozoa. *Mikrobiol. Z.*, 57: 74-9.
- Merino, G.; Carranza-Lira, S.; Murrieta, S.; Rodríguez, L.; Cuevas, E. y Moran, C. 1995. Bacterial infection and semen characteristics in infertile men. *Arch. Androl.*, (35): 43-7.
- Moller, B.R. y Mardh, P.A. 1980. Pathogenic role of *Chlamydia* in urogenital infections. *Nord. Med.*, 95: 128-32.
- Nickel, J. C. y Costerton, J. W. 1992. Coagulase – negative *Staphylococcus* in chronic prostatitis. *J. Urol.*, 147 : 398-402.
- Núñez-Calonge, R.; Caballero, P.; Redondo, C.; Baquero, F.; Martínez-Ferrer, M. y Meseguer, M. 1998. *Ureaplasma urealyticum* reduces

motility and induces membrane alterations in human spermatozoa. *Hum. Reprod.*, 13: 2756-2761.

Organización Mundial de la Salud. 1999. *Laboratory Manual for the Examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction*. Cambridge: Cambridge University Press.

Ostaszewska, I.; Zdrodowska-Stefanow, B.; Badyda, J.; Pucilo, K.; Tribula, J. y Bulhak, L. 1998. *Chlamydia trachomatis*: probable cause of prostatitis. *Int. J. STD & AIDS*, 9: 350-3.

Pacey, A. y Eley, A. *Chlamydia trachomatis* and male infertility. *Hum. Fertil.*, 7: 271-6.

Padrón, R. 1990. *Temas de reproducción masculina y diferenciación sexual*. Editorial Científico-Técnica. La Habana.

Pavoneen, J. y Eggert-Kruse, W. 1999. *Chlamydia trachomatis*: impact on human reproduction. *Hum. Reprod. Update*, 5: 433-47.

Poirot, C. y Cherruau, B. 2005. Infertilidad Masculina, aspectos clínicos e investigaciones biológicas. *Acta Bioquim. Clin. Latinoam.*, 39 (2): 225-241.

Pomerol, J. y Arrondo, J. 1994. *Práctica andrológica*. Barcelona: Ediciones Científicas y Técnicas, SA.

Ravolamanana, R.; Randaoharison, P.; Ralaiavy, H. y J. Debry. 2001. Etiologic approach in infertile couples in Mahajanga. *Arch. Inst. Pasteur Madagascar*, (67): 68-73.

- Remohi, J.; Romero, J.; Pellicer, A.; Simón, C. y J. Navarro. 2001. *Manual práctico de esterilidad y reproducción humana*. Editorial McGraw-Hill Interamericana. Madrid.
- Rezacova, J.; Masata, J.; Pribylova, M. y Drazd'akova, M. 1999. *Chlamydia trachomatis* in men with impaired fertility. *Ceska. Gynekol.*, 64: 371-5.
- Rojas-Retiz, J.; Bravo-Gatica, C.; y R. Tapia-Navarro. 2001. Las bacterias como causa de infertilidad masculina. Instituto de Medicina Reproductiva y Andrología. México.
- Rose, B. y Scott, B. 1994. Sperm motility, morphology, hyperactivation, and ionophore-induced acrosome reactions after overnight incubation with mycoplasmas. *Fertility and Sterility*, 1994; (61): 341-348.
- Sanz, E.; Ávila, L.; Gaitán, P., Escobar, M.; Santos, A.; Fernandez, A.; Ruiz, J. y Madero, J. 1999. Células redondas. *Medicina de Reproducción*, 2(2): 17-25.
- Satta, A.; Stivala, A.; Garozzo, A.; Morello, A.; Perdichizzi, A. y Vicari, E. 2006. Experimental *Chlamydia trachomatis* infection causes apoptosis in human sperm. *Hum. Reprod.*, 21: 134-7.
- Schulz, M.; Villegas, J.; Soto, L.; Iglesias, T.; Boehme, C. y Sánchez, R. 2001. Efecto de bacterias sobre la reacción de acrosoma en espermatozoides humanos.
- Scott, G. 2004. *Chlamydia* and male infertility. *J. R. Soc. Health*, 211-2.
- Shalika, S.; Dugan, K.; Smith, R. y Padilla, S. 1996. The effect of positive semen bacterial and *Ureaplasma* cultures on in vitro fertilization success. *Human Reproduction*, 11(2): 2789-2792.

- Sharma, R. K. y Agarwal, A. 1996. Role of reactive oxygen species in male infertility. *Urology*, (48): 835-50.
- Silva, L.; Rechkemmer, A. y Allemant, J. 2001. Diagnóstico y tratamiento de la infertilidad masculina. *Ginecol. Obstret.*, 47: 144-157.
- Simón, M. 2003. *Avances en el conocimiento de la espermatogénesis. Implicaciones clínicas. Revista Iberoamericana de fertilidad.* 20 (4): 213-225.
- Smith, D.; Russell, W. y Thirkell, D. 1994. Adherence of *Ureaplasma urealyticum* to human epithelial cells. *Microbiology.*, (140): 2893-8.
- Sokal, R. y Rohlf, J. 1979. *Introducción a la Bioestadística.* Editorial Reverté S.A. España.
- Stanislavov, R. 1999. Leukocytes in human seminal fluid. *Akush. Ginekol.*, 3: 20-1.
- Stalheim, O.; Porctor, S. y Gallager S. 1976. Growth with effects of Ureaplasmas (T mycoplasmas) in bovine oviductal organ cultures. *Infect. Immune*, 13: 915-925.
- Szöque, L.; Török, E.; Dósa, E.; Nagy, M. y Scultéty. 1998. The possible role of anaerobic bacteria in chronic prostatitis. *Int. J. Andrology.*, 21: 163-168.
- Talkington, D.; Davis, J. y Canupp, J. 1991. The effects of three serotypes of *Ureaplasma urealyticum* on spermatozoal motility and penetration in vitro. *Fertil Steril.*, (55): 170-6.

- Teppa, A. y Palacios, A. 2004. Evaluación actual de la infertilidad masculina. *Departamento de Andrología, Clínica el Ávila*, 45 (4): 355-370.
- Terriquez, M. y González, J. 2003. Correlación entre el número de colonias bacterianas en espermocultivos con las alteraciones en los índices del análisis seminal. *El Colegio Mexicano de Urología*, 18(3): 100-103.
- Torres, D. y Gonzáles, G. F. 1995. El factor masculino en un servicio de infertilidad de Lima. 34 (2).
- Vanrell, J.A.; Colon, J.; Balasch, J. y Visco, P. 2000. *Infertilidad y esterilidad humana*. Edición Masson. España.
- Villegas, J.; Sánchez, R.; Schulz, M.; Soto, L.; Iglesias, T.; Óveme, C. y Miska, W. 2001. Apoptosis en espermatozoides humanos inducida por bacterias patógenas.
- Wang, Y.; Han, X.D.; Hu, Y.Y. y Chen, J. X. 2005. *Ureaplasma urealyticum* infection related to seminal plasma immunosuppressive factors, semen pH and liquefaction duration. *Arch. Androl.*, 51: 267-70.
- Wang, Y.; Kang, L.; Hou, Y.; Hou, Y.; Wu, X.; Chen, J. Han, X. 2005. Microelements in seminal plasma of infertile men infected with *Ureaplasma urealyticum*. *Biol. Trace. Elem. Res.*, 105: 11-18.
- Wang, Y.; Liang, C.L.; Wu, X. y Quin, S.X. 2006. *Ureaplasma urealyticum* infections in the genital tract affect semen quality. *Asian. J. androl.*, 8: 562-8.
- Wedren H. 1989. On chronic prostatitis with special studies of *Staphylococcus epidermidis*. *Scand. J. Urol. nephrol.*, 123 : 1-36.
- Weidner, W. y Ludwig, M. 2003. Common organisms in urogenital infections with special impact on Prostatitis. *Eur. Urol.*, (2): 15-18.
- Wolner-Hansen, P. y Mardh, P.A. 1984. In *vitro* tests of the adherence of

*Chlamydia trachomatis* to human spermatozoa. *Fertil. Steril.*, 42: 102-107.

Wolff, H.; Panhans, A y Stoltz, W. 1993. Adherence of *Escherichia coli* to sperm a mannose mediated phenomenon leading to agglutination of sperm and *E. coli*. *Fertil. Steril.*, 60: 154-158.

Yoshida, T. 2003. Rapid detection of *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma parvum* and *Ureaplasma urealyticum* organisms in genitor urinary samples by PCR-microtiter plate hybridization. *J. Clin. Microbiol.*, 41: 1850-5.

## ANEXOS

### ANEXO 1

UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
NÚCLEO DE SUCRE  
ESCUELA DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS  
TRABAJO DE ASCENSO

#### AUTORIZACIÓN

Yo, \_\_\_\_\_, portador de C.I. \_\_\_\_\_, (paciente) autorizo al Lic. José G. Betancourt V., C.I: 8649514, a analizar la muestra de semen, obtenidas por masturbación, siguiendo las recomendaciones previamente sugeridas (abstinencia sexual, tabáquica, alcohólica y traslado al laboratorio), y cuyo resultado será usado en el desarrollo de su trabajo de ascenso que lleva por nombre: "CALIDAD ESPERMÁTICA Y AISLAMIENTO BACTERIANO EN INDIVIDUOS INFÉRTILES PROVENIENTES DE LA UNIDAD DE FERTILIDAD DE LA CLÍNICA "SANTA ROSA", CUMANÁ-ESTADO SUCRE". Además otorgo el consentimiento para que los datos generados puedan ser utilizados para el estudio, sin revelar nombres y sean entregados a la brevedad posible.

En este estudio se siguieron los lineamientos establecidos en la declaración de Helsinki entre los cuales destacan que este trabajo de investigación estuvo solo a cargo de personas con la debida preparación científica y bajo la vigilancia de un profesional de la salud, por otra parte, se respetó el derecho de cada individuo participante en la investigación a salvaguardar la integridad personal, se adoptaron las precauciones necesarias para respetar su intimidad y reducir al mínimo las precauciones del estudio sobre la integridad física y mental del paciente.

\_\_\_\_\_  
Firma

## ANEXO 2

UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
NÚCLEO DE SUCRE  
ESCUELA DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIANÁLISIS  
TRABAJO DE ASCENSO

### ENCUESTA

Fecha:

\_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

#### A.- Datos personales:

1. Nombres \_\_\_\_\_ y  
Apellidos \_\_\_\_\_
2. Edad: \_\_\_\_\_
3. Ocupación: \_\_\_\_\_
4. Fecha: \_\_\_\_\_
5. Días de abstinencia: \_\_\_\_\_
6. Hora de recolección: \_\_\_\_\_
7. Numero de hijos (si tiene): \_\_\_\_\_
8. Dirección \_\_\_\_\_ y  
telefono: \_\_\_\_\_

#### B.- Datos clínicos:

1. ¿Ha presentado enfermedades de transmisión sexual? Si \_\_\_\_\_  
No \_\_\_\_\_  
De ser "Si", señale cual de ellas:  
\_\_\_\_\_
2. ¿Ha sido operado de? Varicocele \_\_\_\_\_ Vasectomía \_\_\_\_\_  
otra(s) \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_
3. ¿Actualmente está bajo tratamiento médico? Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_,  
de ser "Si" especifique: \_\_\_\_\_

4. ¿Ha presentado dificultad para tener hijos? Si\_\_\_\_ No\_\_\_\_, de ser "Si" diga las razones: \_\_\_\_\_

**C.- Otros datos:**

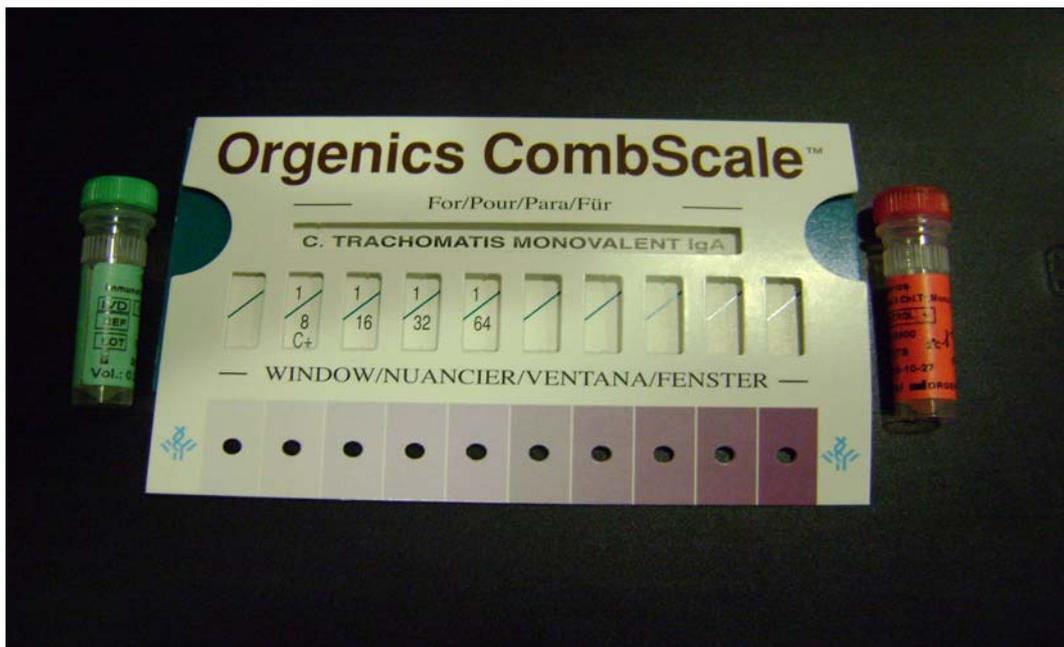
1. Cual ha sido su(s) trabajo(s) en los últimos 3 años: \_\_\_\_\_
2. Últimamente ha sido expuesto a altas radiaciones (rayos X): Si\_\_\_\_ No\_\_\_\_
3. Ha practicado ciclismo o spinning en los últimos años: Si\_\_\_\_ No\_\_\_\_
4. Ha sufrido de traumatismos severos a nivel de los testículos: Si\_\_\_\_ No\_\_\_\_

ANEXO 3

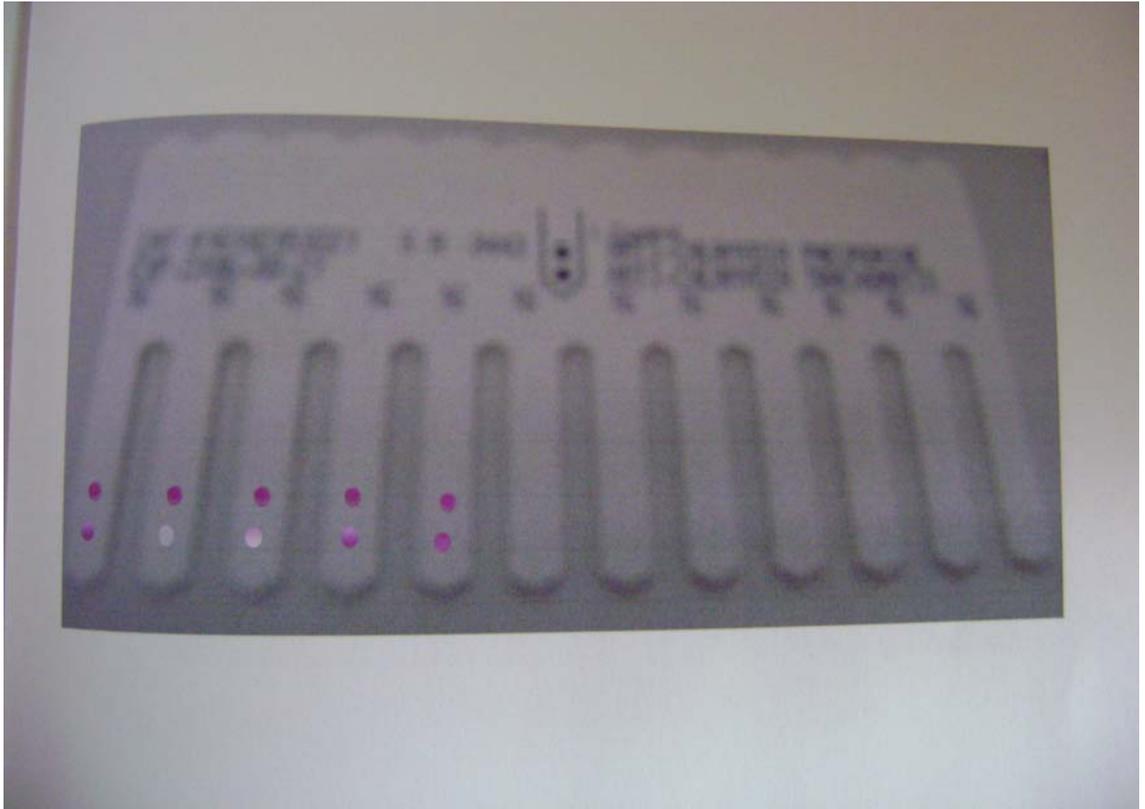




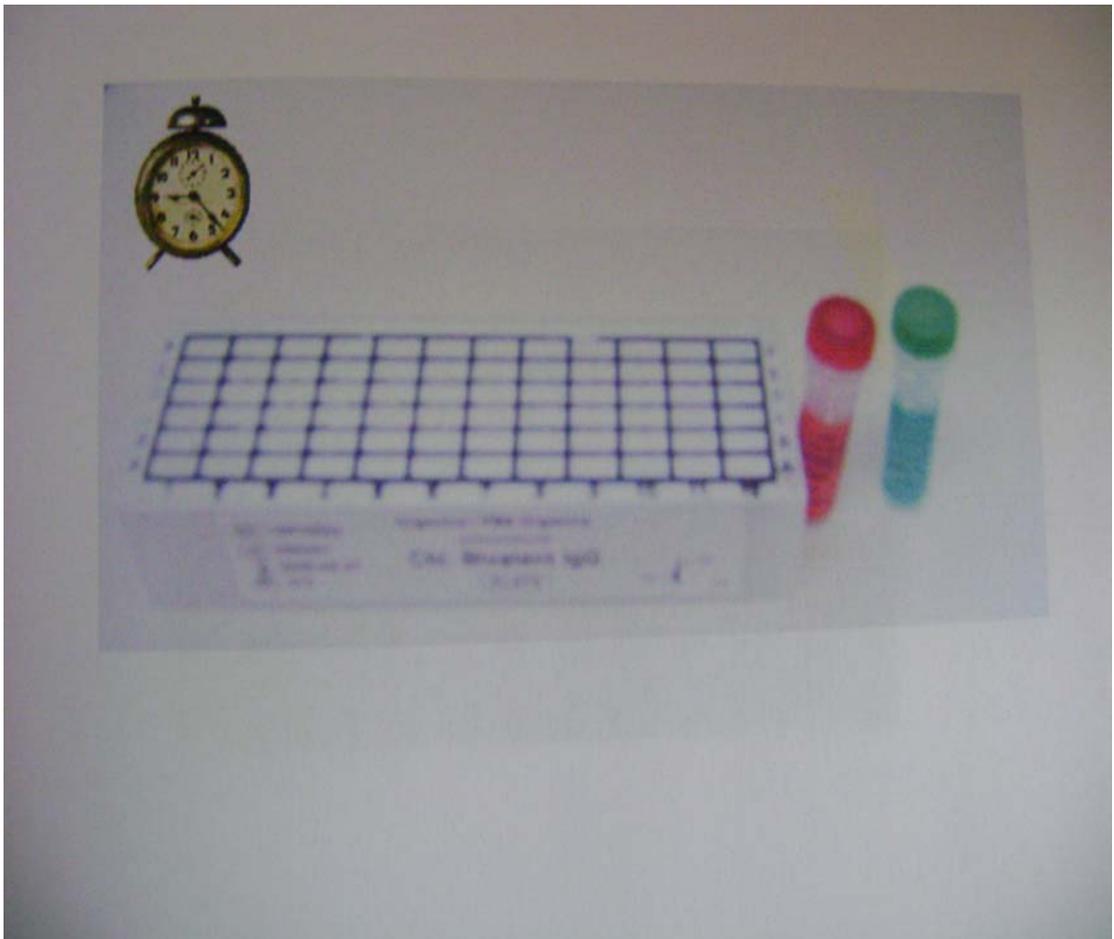
ANEXO 4



**ANEXO 5**



## ANEXO 6



ANEXO 7



# **Hoja de Metadatos**

# Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/5

<b>Título</b>	<b>CALIDAD ESPERMÁTICA, AISLAMIENTO BACTERIANO Y SEROLOGÍA DE <i>Chlamydia trachomatis</i> EN PACIENTES INFÉRTILES PROVENIENTES DE LA UNIDAD DE FERTILIDAD DE LA CLÍNICA “SANTA ROSA”, CUMANÁ-ESTADO SUCRE.</b>
<b>Subtítulo</b>	

## Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
	Carmen Luisa Belmonte Campo	CVLAC
e-mail		jbetanvi@hotmail.com
e-mail		
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

## Palabras o frases claves:

Infecciones genitales
Calidad espermática
Infertilidad

## Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
CIENCIAS	BIOANALISIS
	INFERTILIDAD

### Resumen (abstract):

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar la calidad espermática, aislamiento bacteriano y serología de *Chlamydia trachomatis* en pacientes proveniente del laboratorio de fertilidad de la Clínica Santa Rosa, de la Ciudad de Cumaná, estado Sucre, durante el período de Agosto del 2007 hasta agosto del 2008. La población en estudio estuvo conformada por 105 individuos con edades comprendidas entre 21 y 61 años, a quienes se les realizó un perfil andrológico la cual incluyo: un análisis de semen realizado según las normas de la OMS, aislamiento e identificación bacteriana, utilizando el A. F. GENITAL SYSTEM y niveles séricos de anticuerpos IgA e IgG anti-*Chlamydia trachomatis*, basado en la prueba de ensayo inmunoenzimático indirecto de fase sólida (EIA), InmunoComb II *Chlamydia trachomatis* monovalente IgA e IgG de Orgenics. Del total del líquido seminal estudiado, el 77,14 % presentaron vitalidad espermática anormal, encontrándose a su vez un porcentaje de anormalidad de 39,05 % para los parámetros: viscosidad, pH y volumen espermático, además de un 38,10% y 35,24% para la licuefacción y concentración espermática, respectivamente. La astenozoospermia resultó ser la anomalía más prevalente en los pacientes estudiados con un porcentaje de 96,19 %, seguido de la oligozoospermia con 32,38 %. De los espermocultivos evaluados, 74 (70,48 %) presentaron cultivos positivos. Las bacterias que se encontraron con mayor frecuencia fueron: *Enterococcus faecalis* con 40 (40,40%) aislamientos, seguido por *Staphylococcus coagulasa negativa* con 17(17,17%). *Ureaplasma urealyticum* y *Escherichia coli* con 16(16,16%) y 10(10,01%), respectivamente. No se encontró asociación estadísticamente significativa entre la presencia de cultivos positivos y negativos y los parámetros espermáticos estudiados; así como también entre presencia de anticuerpos IgA e IgG para *Chlamydia trachomatis* con cultivo negativo y los diferentes parámetros espermáticos analizados. La vitalidad espermática y la motilidad se ve afectada a medida que aumenta el número de colonias en los espermocultivos, por lo que es probable que el numero de colonias podrían afectar a los espermatozoides y su motilidad, para así contribuir a la infertilidad de los hombres.

**Contribuidores:**

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

**Fecha de discusión y aprobación:**

**Año      Mes      Día**

--	--	--

**Lenguaje: SPA**

**Archivo(s):**

<b>Nombre de archivo</b>	<b>Tipo MIME</b>
<b>TA-JOSEBETANCOUR.DOC</b>	<b>WORD</b>

**Alcance:**

**Espacial :** CUMANÁ, EDO. SUCRE (Opcional)

**Temporal:** 2008- 2009 (Opcional)

**Título o Grado asociado con el trabajo:**

ASCENSO A LA CATEGORÍA DE PROFESOR AGREGADO

**Nivel Asociado con el Trabajo:** PROFESOR AGREGADO

**Área de Estudio:**

BIOANALISIS

**Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:**

UNIVERSIDAD DE ORIENTE NÚCLEO DE SUCRE

