



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

VALORACIÓN DE LA INFECCIÓN GENITAL POR *Chlamydia trachomatis* EN
HOMBRES CON DIAGNÓSTICO DE INFERTILIDAD
(Modalidad: Investigación)

CARMEN MILAGROS RIVAS VILLARROEL

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADA EN BIOANÁLISIS

CUMANÁ, 2009

**VALORACIÓN DE LA INFECCIÓN GENITAL POR *Chlamydia trachomatis*
EN HOMBRES CON DIAGNÓSTICO DE INFERTILIDAD**

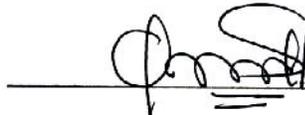
APROBADO POR:



**Prof. Henry A. De Freitas F.
Asesor Académico**



**Licdo. Pedro Hernández Bello
Coasesor**



INDICE

DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTOS	v
LISTA DE TABLAS	vi
LISTA DE FIGURAS	viii
RESUMEN.....	ix
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	10
Población.....	10
Muestras	10
Especímenes de suero	10
Especímenes de semen.....	11
Procesamiento de las muestras.....	11
Observación microscópica	12
Contaje de células redondas (CR).....	12
Realización del test de permeabilidad espermática o test de endósmosis celular (HOST).....	13
Ensayo Inmunoenzimático Inmunocomb II <i>Chlamydia trachomatis</i> IgA	13
Procedimiento	13
Análisis estadístico.....	15
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	16
CONCLUSIONES	29
RECOMENDACIONES	30
BIBLIOGRAFÍA	31
ANEXOS	36

DEDICATORIA

A:

Dios Todopoderoso, a los santos Miguel Arcángel y Marcos de León, por darme la fortaleza espiritual, acompañarme y protegerme día a día.

Mis amados y adorados padres, a quienes dedico de manera muy especial este trabajo, Jesús Rivas y Milena de Rivas, cuyo amor y apoyo no tienen límites; por darme el ser, por darme la certeza y la seguridad que puedo contar con ustedes en todo momento y por brindarme la oportunidad de estudiar, espero con esto gratificar un poco tanto esfuerzo y sacrificio para mi formación profesional, para cumplir esta meta.

Mi siempre recordada y querida abuela Petra Velásquez (†), porque siempre quisiste que llegara hasta este momento, por favor bendíceme y protégeme donde quiera que estés.

Mis amigas y compañeras de estudio de la Universidad de Oriente: admirables, respetadas y queridísimas Melissa Chacón, Mariali Guarín, Indira Legendre, Marcielt Villarroel y Roxana Matheus, a ellas por todos los buenos y bellos momentos que hemos compartido, que me han enriquecido como persona y han fortalecido mis valores como ser humano; LOS BUENOS AMIGOS SON LA FAMILIA QUE LA VIDA NOS PERMITE ELEGIR.

Mi persona, mis lágrimas, mi angustia, mi impotencia, mi constancia, mi paciencia: por demostrarme a mi misma que puedo ir mucho más lejos de lo que pensaba cuando creía que no se podía más. Definitivamente todo valió la pena "lo logré".

AGRADECIMIENTOS

A:

El Licdo. Pedro Hernández y al profesor Dr. Henry De Freitas, por su valiosa asesoría y conocimientos, por aceptar el reto de dirigir, desarrollar y llevar a cabo la culminación de este trabajo de investigación, y al Msc. Alexander Barrios, por su asesoría estadística, ayuda y colaboración desinteresada.

Mis padres por todo el aporte económico, sin ellos jamás hubiera podido realizar este trabajo.

Mis amigas (os) y compañeras (os) de estudio de la Universidad de Oriente: Leonor González, Ivor Osorio, Aldo Guzmán, Iliana Karina Cortez, Yurinel Rivera, Rosimir Cabeza, Krysbeth Gutiérrez, Magdalena Rodríguez, Leogimar Hernández y Gabriela Quiñones, por hacer de mi vida de estudiante una experiencia maravillosa e inolvidable, siempre los recordaré a todos.

Mi amigo Marcos Marín, a Francimar Bruzual, la Sra. María Guarín (Tina), al Dr. Elio Figuera y a todo el personal del Laboratorio Clínico "Josefina de Figuera", por la colaboración prestada para la realización de este trabajo.

Todas las personas que sirvieron de colaboradores aceptando donar sus muestras de semen y suero, y también a aquellas personas cuyos nombres no aparecen en este papel, en el especial a la Sra. Luisa Paulina de Reyes quienes con sus buenos augurios de alguna u otra manera contribuyeron a fortalecer mi ánimo para que cumpliera esta meta.

De corazón me siento profundamente agradecida de todos.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Análisis estadístico del test de Kruskal-Wallis para las variables del espermatograma en semen de individuos que acudieron al Laboratorio Clínico "Dr. Santos Aníbal Dominicci C.A." de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, entre los meses mayo a septiembre del año 2007.	16
Tabla 2. Análisis estadístico de correlación múltiple para relacionar la presencia de anticuerpos séricos y seminales IgG e IgA anti- <i>Chlamydia trachomatis</i> con el espermatograma de individuos del grupo de referencia que acudieron al Laboratorio Clínico "Dr. Santos Aníbal Dominicci C.A." de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, entre los meses mayo a septiembre del año 2007.	20
Tabla 3. Análisis estadístico de correlación múltiple para relacionar la presencia de anticuerpos séricos IgG e IgA anti- <i>Chlamydia trachomatis</i> con el espermatograma de individuos del grupo experimental que acudieron al Laboratorio Clínico "Dr. Santos Aníbal Dominicci C.A." de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, entre los meses mayo a septiembre del año 2007.	21
Tabla 4. Análisis estadístico de correlación múltiple para relacionar el test de permeabilidad espermática (HOST) con el espermatograma de individuos que acudieron al Laboratorio Clínico "Dr. Santos Aníbal Dominicci C.A." de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, entre los meses mayo a septiembre del año 2007.	23
Tabla 5. Análisis estadístico de correlación múltiple para relacionar la presencia de anticuerpos séricos y seminales IgG e IgA anti- <i>Chlamydia trachomatis</i> con el test de permeabilidad espermática (HOST) de individuos del grupo de referencia que acudieron al Laboratorio Clínico "Dr. Santos Aníbal Dominicci C.A." de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, entre los meses mayo a septiembre del año 2007.	26
Tabla 6. Análisis estadístico de correlación múltiple para relacionar la presencia de anticuerpos séricos IgG e IgA anti- <i>Chlamydia trachomatis</i> con el test de permeabilidad espermática (HOST) de individuos del grupo experimental que	

acudieron al Laboratorio Clínico “Dr. Santos Aníbal Dominicci C.A.” de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, entre los meses mayo a septiembre del año 2007..... 27

Tabla 7. Análisis estadístico del test de Kruskal-Wallis para establecer la relación de los anticuerpos IgG e IgA anti-*Chlamydia trachomatis* en el suero y líquido seminal de individuos que acudieron al Laboratorio Clínico “Dr. Santos Aníbal Dominicci C.A.” de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, entre los meses mayo a septiembre del año 2007..... 28

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Frecuencia de positividad de anticuerpos IgG anti- <i>Chlamydia trachomatis</i> en suero y semen de individuos que acudieron al Laboratorio Clínico “Dr. Santos Aníbal Dominicci C.A.” de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, entre los meses mayo a septiembre del año 2007.....	17
Figura 2. Frecuencia de positividad de anticuerpos IgA anti- <i>Chlamydia trachomatis</i> en suero y semen de individuos que acudieron al Laboratorio Clínico “Dr. Santos Aníbal Dominicci C.A.” de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, entre los meses mayo a septiembre del año 2007.....	18

RESUMEN

La infertilidad se define como la imposibilidad de producirse un embarazo a pesar de mantener relaciones sexuales regulares, sin el empleo de métodos contraceptivos, durante un período de 12 meses. Se estima que el factor masculino está implicado en el 30 a 50% de los casos, generalmente, por alteración de las características seminales como lo son la viabilidad, concentración y motilidad espermática. El daño producido por procesos infecciosos de origen bacteriano es causa frecuente de infertilidad masculina. El objetivo general de este trabajo fue evaluar la influencia de la infección genital por *Chlamydia trachomatis* en la calidad del semen en pacientes con diagnóstico de infertilidad; para ello se estudió una población de 50 hombres (25 de referencia y 25 con trastornos) que acudieron al Laboratorio Clínico "Dr. Santos Aníbal Dominicci C.A." de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, entre los meses mayo-septiembre de 2007. Las características seminales básicas fueron evaluadas según los criterios establecidos por la OMS. Los anticuerpos anti-*Chlamydia trachomatis* IgG e IgA en suero y en semen, fueron determinados utilizando el ensayo inmunoenzimático Inmunocomb II y el test de permeabilidad espermática, incubando los espermatozoides en medio hiposmótico. Según los resultados obtenidos se puede concluir que: los anticuerpos IgG e IgA en suero y semen anti-*Chlamydia trachomatis*, determinados por EIA no deben ser utilizados como marcadores de infertilidad masculina, ya que estos no guardaron ninguna relación estadística con los parámetros del espermatograma ni con el test de permeabilidad espermática en ninguno de los grupos estudiados. La frecuencia de positividad de anticuerpos IgG e IgA anti-*Chlamydia trachomatis* fue baja en este estudio, y puede ser atribuida al método diagnóstico utilizado.

INTRODUCCIÓN

La infertilidad, puede definirse como la imposibilidad de producirse un embarazo a pesar de mantener relaciones sexuales regulares, sin el empleo de métodos contraceptivos, durante un período de 12 meses (Teppa y Palacios, 2004). Se presenta en cada una de siete parejas que tienen interés en reproducción, y se considera que el factor masculino está implicado entre el 30 y 50% de los casos, esto ha obligado su estudio, el cual se inicia con un análisis clínico andrológico y otro de líquido seminal, que son las bases para orientar una propuesta diagnóstica (Zapata *et al.*, 1997; Tapia y Rojas, 2003).

Las causas de la infertilidad masculina pueden ser congénitas (criptorquidia, hipospadias), infecciosas (parotiditis, pospuberal, enfermedades de transmisión sexual), urológicas (prostatitis, litiasis), traumáticas, consecuencia de cirugía inguinoescrotal, pueden estar asociadas a enfermedades pulmonares crónicas, genéticas, tumorales, disfunciones sexuales (eréctiles, eyaculatorias), por lesiones neurológicas y por factores ambientales y tóxicos. Aunque la mayoría de los casos se deben a varicocele, a infección de las glándulas sexuales accesorias, a falla testicular u obstrucción, en otros, se considera de naturaleza idiopática. Por otro lado, el alcohol produce alteración de la función exocrina y endocrina que conlleva a atrofia testicular, con azoospermia, impotencia y feminización; mientras que, el cigarro, además de causar atrofia al testículo, produce detención de la espermatogénesis y alteración de la morfología espermática. Otra causa de infertilidad en el hombre es el factor inmunológico, evidenciado por la presencia de anticuerpos antiespermáticos en el semen de pacientes infértiles (Teppa y Palacios, 2004).

La valoración del análisis rutinario de semen, conocido también como

espermograma, espermiograma o seminograma, a pesar, de ser el método comúnmente aceptado para estudiar el factor masculino, por ser rápido, sencillo y muy económico, 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 Barrios, 2003). Este procedimiento se inicia con el estudio de sus características físicas, que comprenden fundamentalmente el volumen, color, pH, licuefacción, viscosidad y olor. Posteriormente, sigue el análisis citomorfológico, mediante el cual se evalúa en forma cuantitativa y cualitativa la concentración, movilidad y morfología de los espermatozoides, su aglutinación (cuando están vivos, unidos entre sí) o su agregación (cuando están probablemente muertos), así mismo, la presencia en el semen de otras células, como leucocitos. También se hace una valoración bioquímica del semen, entre los que destacan la medición de la fructosa (marcador de la función de las vesículas seminales), el ácido cítrico (indicador de función prostática) y la glicerilfosforilcolina (relacionada con la función del epidídimo), útil en el diagnóstico de la permeabilidad de la vía seminal (Teppa y Palacios, 2004).

La membrana espermática puede ser estudiada desde el punto de vista estructural, mediante la utilización de tinciones supravitales como: la eosina/nigrosina, el verde/rápido eosina, la eosina/azul de anilina, el azul tripán/giemsa, o el amarillo naftol eritrosina; siendo la coloración más utilizada la eosina/nigrosina, al igual que la eosina al 0,5% en solución salina fisiológica (ssf), por ser las más económicas, asequibles y de fácil realización (Jeyendran *et al.*, 1989; Campana *et al.*, 1995; Quintero, 2003), estas son útiles para distinguir entre casos de necrozoospermia o de espermatozoides vivos inmóviles (Teppa y Palacios, 2004). Por otro lado, teniendo en cuenta que la presión osmótica ideal para mantener viables a

los espermatozoides es de 300 mosm/kg, la funcionabilidad de la membrana espermática puede ser evaluada mediante el test hiposmótico o de endósmosis celular (HOST); el cual se basa en someter al espermatozoide a un medio con una presión osmótica inferior a la fisiológica, provocando, de esta manera, la entrada de agua al interior de la célula en un intento por equilibrar el desbalance osmótico, pero para que esta respuesta se produzca, la membrana plasmática del espermatozoide debe estar intacta, y con los mecanismos de intercambio de fluidos funcionando correctamente, hablándose entonces, de endosmosis positiva, si hay hinchazón y enrollamiento de flagelos; mientras que, si el aspecto del espermatozoide es normal, sin acúmulos de agua en su interior, se habla de endosmosis negativa, es decir hay falta de continuidad en la membrana y por consiguiente pérdida de integridad celular (Jeyendran *et al.*, 1989; Campana *et al.*, 1995; Pérez *et al.*, 1999).

El daño producido por procesos infecciosos de origen bacteriano es causa frecuente de infertilidad masculina, aunque se sabe que el tracto genital masculino está colonizado por bacterias comensales como *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus difteroides* y algunas especies de *Streptococcus*, existen un gran número de microorganismos patógenos que pueden establecerse y producir en el hombre obstrucción del paso del esperma al epidídimo o a los conductos eyaculadores, lo que puede ocasionar un deterioro en la calidad del semen. Entre estas bacterias se mencionan *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis*, también, *Escherichia coli*, *Streptococcus* β -hemolíticos, *Enterococcus faecalis*, entre otras (Zapata *et al.*, 1997; Rojas y Bravo, 2001; Gallegos, 2003; Askienazy, 2005).

Actualmente, la clamidiasis es una de las enfermedades de transmisión sexual más frecuentes, su agente causal es *Chlamydia trachomatis*, germen que afecta específicamente al ser humano (Cravioto *et al.*, 2003; Hamdad *et al.*, 2004). En

hombres, la clamidiasis puede ser asintomática hasta un 30% de los casos. La característica más notable de la infección por *Chlamydia trachomatis* es el equilibrio que con frecuencia se alcanza entre el hospedero y el microorganismo que resulta en una infección prolongada y persistente (Cravioto *et al.*, 2003; Ostos y Sánchez, 2003). La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que cada año ocurren 92 millones de nuevos casos en el mundo (Cravioto *et al.*, 2003; Hamdad *et al.*, 2004).

Chlamydia trachomatis carece completamente de cualquier sistema enzimático para la producción de energía (ATP), por esta razón son parásitos intracelulares obligatorios y colonizan el citoplasma de las células susceptibles (Del Piano *et al.*, 1989; Gómez *et al.*, 1997; Ostos y Sánchez, 2003). Presentan una morfología esférica u ovalada, observándose en el microscopio electrónico como cocos Gram variables, son inmóviles; no ciliadas, con una membrana interna y otra externa, que se asemeja a la pared celular de las Gram negativas; al parecer su pared carece del ácido n-acetilmurámico. Se dividen por fisión binaria y contienen ribosomas similares a los de otras bacterias, poseen un único ciclo de desarrollo con la producción de dos tipos de partículas diferentes para caracteres metabólicos e infectantes: el cuerpo elemental (CE) y el cuerpo reticulado (CR), causan infecciones persistentes o crónicas y su supervivencia es asegurada por el CE (Del Piano *et al.*, 1989; Gómez *et al.*, 1997; Ostos y Sánchez, 2003).

Los CE son estructuras redondeadas, diminutas (200 a 400 nm), infecciosas, rígidas, resistentes a la ruptura, se liberan cuando se lisa la célula hospedera infectada, con coloración de Giemsa se tiñen de púrpura y con tinción de Machiavello de rojo, contrastando con la coloración que toma el citoplasma de la célula hospedera. En los CE, la mayor parte de DNA se encuentra en el nucleóide central electrodensó, y la mayor parte del RNA está en los ribosomas. Presentan antígenos especie-específicos y antígenos serotipo-específicos, que inducen la fagocitosis, no tienen

actividad metabólica, ni pueden replicarse y son infectivos. Los CR son el resultado de la diferenciación de los CE al ser fagocitados, tienen una morfología bacilar, carecen del nucleóide electrodenso y su tamaño es de 600 a 1000 nm, no son infecciosos, con capacidad de replicación y actividad metabólica y el ADN está disperso (Gómez *et al.*, 1997; Ostos y Sánchez, 2003).

La membrana clamidial muestra dos membranas celulares trilaminares caracterizadas por la ausencia de peptidoglicanos, pero con proteínas de unión a las penicilinas. La membrana presenta proteínas extracelulares ricas en cisteína, las cuales están unidas en forma cruzada mediante puentes disulfuro, en los CE para proveer una integridad estructural de resistencia frente a situaciones de estrés mecánico y osmótico. Los CR son frágiles en comparación con los CE. Las proteínas de la envoltura clamidial ricas en cisteína, incluyen: Proteína mayor de membrana externa (MOMP), proteína de 60 000 g/mol y proteína de 12 000-15 000 g/mol. La MOMP, expresada en la envoltura del cuerpo elemental es el blanco principal de anticuerpos neutralizante y puede ser el blanco de inmunidad proteccionista (Brunham y Peeling, 1994; Gómez *et al.*, 1997; Ostos y Sánchez, 2003), su peso, de 40 000 g/mol, constituye casi el 60% del total de las proteínas de la membrana externa. La proteína de 60 000 g/mol, se encuentra en el espacio periplásmico, dando a las clamidias una integridad semejante a la dada por el peptidoglicano. La proteína de 12 000-15 000 g/mol es una lipoproteína hidrofílica. Los CR no contienen esta proteína ni la proteína de 60 000 g/mol. *Chlamidia* posee proyecciones hemisféricas especializadas de superficie y se cree que éstas intervienen en la adhesión de los CE a las células huésped. También existen proyecciones puntiagudas que son formas intermedias entre CE y CR, se originan debajo de las depresiones de la membrana plasmática y se proyectan más allá de la superficie clamidial; esto sugiere que estas púas podrían ser conexiones entre la célula huésped y la clamidia, los lipopolisacáridos son otros componentes importantes de la envoltura clamidial

(Gómez *et al.*, 1997; Ostos y Sánchez, 2003).

Como bacteria intracelular, *Chlamydia trachomatis*, es un patógeno extremadamente exitoso; la enfermedad clamidial es menos común que la infección y se atribuye a las respuestas inmunes de los antígenos específicos del organismo (Brunham y Peeling, 1994). La clamidia estimula el sistema de inmunidad humoral, el cual es mediado por células capaces de sobrevivir en los monocitos y macrófagos (Del Piano *et al.*, 1989). La respuesta inmune humoral, tras la infección genital por *Chlamydia trachomatis*, se manifiesta por una fuerte reacción local, con acumulación de polimorfonucleares y producción de anticuerpos séricos y locales. Los anticuerpos se forman frente a antígenos de la membrana externa, el lipopolisacárido y otros componentes celulares. Aunque se desconoce el valor protector de los anticuerpos séricos frente a una reinfección, *in vitro* estos pueden neutralizar la infectividad por *Chlamydia trachomatis*. En cuanto a la respuesta inmune celular aun, no se conoce bien su intervención y se ha demostrado que ella no tiene siempre significado protector en la infección, sino que interviene en la inflamación y en el proceso de cicatrización que caracteriza el cuadro, en el que las reinfecciones y la reacción inmune desempeñan un papel fundamental. A menudo, la reacción inmune celular es mas perjudicial que protectora, pues induce una inflamación local grave que contribuye al curso crónico de la infección (Perea y García, 1997).

Algunos autores no consideran que las infecciones urogenitales sean causas de infertilidad; sin embargo, otros han planteado que las infecciones ocultas de epidídimo, vesícula seminal y próstata, deben ser consideradas como una causa frecuente de alteración de la calidad seminal y de infertilidad. La controversia está basada en que no se ha probado satisfactoriamente la relación causa-efecto entre esta condición y la infertilidad (Villanueva *et al.*, 2003).

El mecanismo por el cual se produce la infertilidad masculina a través de la

infección no está aún definido (Mania *et al.*, 2001). Algunas investigaciones señalan que *Chlamydia trachomatis* está presente en el 71% de los casos de infertilidad masculina, observándose que en hombres la infección subclínica crónica puede degenerar en prostatitis, epididimitis, estenosis de uretra y de los conductos deferentes, con el riesgo de esterilidad por azoospermia. Estas bacterias afectan al espermatozoide directamente al adherirse a él y penetrar su citoplasma, pero también indirectamente a través de especies reactivas de oxígeno, moléculas nocivas que se liberan durante la respuesta inflamatoria (Cravioto *et al.*, 2003; Gallegos, 2003; Ostos y Sánchez, 2003; Hamdad *et al.*, 2004). Esta infección puede causar la oclusión en el sistema canalicular del tracto genital masculino y puede dañar las células epiteliales involucradas en la espermatogénesis (Mania *et al.*, 2001).

El huésped infectado, generalmente, produce anticuerpos a varios antígenos de *Chlamydia* que tienen escaso efecto contra la reinfección. Por lo general, el agente infectante persiste en presencia de títulos altos de anticuerpos (Cravioto *et al.*, 2003; Ostos y Sánchez, 2003). La inmunoglobulina A (IgA) constituye, aproximadamente, un 20% de las inmunoglobulinas; es la que predomina en las secreciones como saliva, secreciones bronquiales, calostro, leche y secreciones genitourinarias; una vez unida al antígeno, puede activar el complemento por la vía alterna. Por otra parte, la inmunoglobulina G (IgG) es la más abundante en el suero humano, representa un 70% del total de las inmunoglobulinas, se encuentra distribuida uniformemente entre los espacios intra y extravascular, se comporta como anticuerpo bivalente, tiene la capacidad de fijar el complemento, predomina en las respuestas secundarias de anticuerpos y es la única que actúa como antitoxina (Amich *et al.*, 2000).

La determinación en el suero de anticuerpos específicos del tipo IgG contra *Chlamydia trachomatis* no muestran evidencias de una infección actual o reciente, debido a que en individuos en etapas post-infecciosas, es posible encontrar esta variedad de anticuerpos, además, estos persisten durante largos períodos de tiempo y

declinan muy lentamente. Asimismo, se puede determinar la presencia de anticuerpos específicos de tipo IgA, la cual aparece luego de las inmunoglobulinas M (IgM) y se encuentran presentes en infecciones agudas, crónicas y recurrentes. Los anticuerpos IgA declinan rápidamente a niveles basales seguidos al tratamiento y erradicación de la infección, y su presencia es principalmente indicativa de infección en un tiempo indeterminado; sin embargo, el incremento de esta inmunoglobulina específica puede indicar una infección sistémica o crónica (Periódico Científico Referlab, 2001).

Estudios realizados han demostrado la presencia de *Chlamydia trachomatis* en semen y de anticuerpos séricos anti *Chlamydia trachomatis*, evidenciándose con esto una relación significativa entre la presencia de este germen y daño en la calidad morfológica y funcional del eyaculado, hecho por el cual se hace necesario incluir pruebas indirectas (serológicas) para *Chlamydia* en los chequeos y estudios de la calidad seminal como una de las principales tareas de la reproducción asistida en la medicina humana (Veznik y Pospisil, 1999; Jakiel y Wieczorek, 2000).

Las técnicas inmunológicas han provocado gran avance en el diagnóstico de enfermedades infecciosas y en la evaluación de las variables epidemiológicas (Venkatesan y Wakelin, 1993). Entre estas técnicas está el Enzymatic Inmuno Assay (EIA), descrita por primera vez por Engvall y Peelman en 1971, la cual constituye una de las herramientas actuales más útiles en el laboratorio de inmunodiagnóstico debido a su eficacia (Muñoz *et al.*, 1991).

Los ensayos serológicos para la detección de anticuerpos contra *Chlamydia trachomatis* han contribuido notablemente en el diagnóstico de esta patología, ya que sirven como una herramienta no invasiva en la identificación de infecciones agudas y crónicas (Periódico Científico Referlab, 2001).

Por todo lo antes expuesto, este trabajo de investigación se desarrolló con la finalidad estudiar el impacto que produce la infección genital por *Chlamydia*

trachomatis en hombres con diagnósticos de infertilidad, para lo cual, se propuso la aplicación de técnicas adicionales como el ensayo inmunoenzimático (del inglés Enzymatic Immuno Assay: EIA), para la determinación sérica y seminal de anticuerpos IgG e IgA anti-*Chlamydia trachomatis* y el test de permeabilidad espermática para la valoración de la integridad funcional de la membrana, como herramientas complementarias que contribuyan al diagnóstico de individuos con infertilidad, permitiendo la selección y aplicación del tratamiento adecuado.

METODOLOGÍA

Población

La población en estudio estuvo conformada por 50 individuos en edades comprendidas entre 18 y 45 años, que asistieron al Laboratorio Clínico “Dr. Santos Aníbal Dominicci.CA,” de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, entre los meses mayo-septiembre de 2007, a realizarse análisis de líquido seminal, 25 de ellos presentaron diagnóstico de trastornos de fertilidad y conformaron el grupo experimental (GE), los otros 25 que manifestaron tener niños propios, en edades comprendidas de 0 a 1 año, se les denominó grupo referencia (GR). A ambos grupos se les realizó una encuesta para la recolección de los datos personales, clínicos, así como la investigación de antecedentes alcohólicos, tabáquicos y sexuales, entre otros, y se les informó sobre los alcances y objetivos de la presente investigación, así como, las ventajas y desventajas de su participación en él, con el propósito de obtener su consentimiento por escrito (OPS, 1990). Así mismo, este trabajo se realizó tomando en cuenta las normas de ética establecidas por la OMS para trabajos de investigación en grupos humanos y la declaración de Helsinki (OPS, 2000).

Muestras

Especímenes de suero

A cada paciente se le extrajo una muestra de 5 ml de sangre por punción venosa, previa antisepsia de la zona del pliegue del codo, las cuales se recolectaron en tubos estériles y secos (sin anticoagulante), se incubaron a 37°C por 10 minutos, para permitir la retracción del coágulo, y se centrifugaron a 3 000 rpm por 10 minutos, para separar el suero del paquete globular. Los sueros obtenidos se trasvasaron en

tubos de ensayo estériles y secos, las muestras que no se pudieron procesar al momento de la extracción, se preservaron en congelador hasta su posterior análisis (Schachter, 1991).

Especímenes de semen

Para la obtención del semen los pacientes mantuvieron una abstinencia sexual y alcohólica de 3 a 5 días antes del estudio y recogieron las muestras por masturbación en un colector de orina estéril, aproximadamente, entre 7 y 8 am, las cuales se comenzaron a analizar en un periodo no mayor a 30 minutos después de la recolección (Krüger *et al.*, 1989).

Procesamiento de las muestras

Los líquidos seminales fueron estudiados macroscópicamente a temperatura ambiente, mediante la observación de características como: color, aspecto, volumen, tiempo de licuefacción y viscosidad; así mismo, se les determinó el pH como prueba complementaria. Todo se llevó a cabo siguiendo los criterios establecidos por la OMS (De Alvear, 1989; Acosta y Krüger, 1996).

El volumen normal del eyaculado (entre 2 a 5 ml, normalmente) se midió aspirando toda la muestra con una pipeta graduada; la viscosidad se evaluó introduciendo un palillo de madera en la muestra y se observó la longitud del filamento que se formó al retirarlo lentamente, siendo normal una longitud aproximada entre 2 a 10 mm. El color del semen varía generalmente, de blanco amarillento a blanco grisáceo, mientras que su aspecto debe ser opalescente y homogéneo, siendo la opalescencia proporcional a la concentración de espermatozoides en la muestra. El tiempo de licuefacción en el semen normal debe

producirse antes de los 45 minutos, y se evidenció por la desintegración de coágulos de fibrina presentes en el semen, por acción enzimática (aminopeptidasa y pepsinas). El pH se determinó colocando una gota de semen sobre un papel sensible y se estableció comparación con la escala de colores de pH, encontrándose en condiciones normales entre 6,5 a 8,0 (Vásquez y Vásquez, 2007).

Observación microscópica

Se realizó un estudio cualitativo de las muestras de líquido seminal a temperatura ambiente, haciendo una evaluación subjetiva sobre la cantidad de espermatozoides presentes en el eyaculado, con la finalidad de establecer el tipo de dilución a aplicar para la realización del conteo celular, estudio de la morfología y presencia de células redondas. Para ello, se depositó un volumen fijo de 20 μ l de líquido seminal, vertidos con una micropipeta sobre una lámina portaobjetos limpia, y se cubrió con una laminilla cubreobjetos de 22 x 22 mm, se dejó reposar por un minuto, y luego se observó en el microscopio óptico con aumento de 400X (De Alvear, 1989).

Contaje de células redondas (CR)

El conteo de células redondas se realizó empleando la técnica visual directa en cámara de Neubauer, utilizando como diluyente la solución de Macomber y Saunder, útil para el conteo de espermatozoides, ya que los inmoviliza por acción del formol, mientras que, el bicarbonato fluidifica el moco presente, facilitando así la observación de estas células, de acuerdo a la cantidad de células redondas observadas en el examen directo; estas pueden variar de 0 a 5, 5 a 10 o más de 10 CR por campo visual (400X), se aplicaron diluciones 1:2, 1:5 y 1:20, respectivamente (Iovine y Selva, 1985).

Realización del test de permeabilidad espermática o test de endósmosis celular (HOST)

Se evaluó la integridad de la membrana plasmática del espermatozoide, mediante la preparación de una solución hipoosmótica, conteniendo 0,735 g de citrato de sodio dihidratado y 1,351 g de fructosa en 100 ml de agua destilada, luego se colocó 1 ml de solución hipoosmótica en tubos de ensayo, a los cuales se les agregaron 100 μ l de líquido seminal fresco y se procedió a incubar en una estufa gaseada (5% de CO₂) a 37°C, durante 30 minutos. Posteriormente, se observó al microscopio óptico con aumento de 400X, evidenciándose en este caso la hinchazón de las colas (Durphy *et al.*, 1989).

Ensayo Inmunoenzimático Inmunocomb II *Chlamydia trachomatis* IgA

La prueba Inmunocomb II *Chlamydia trachomatis* IgA, es un ensayo inmunoenzimático indirecto cualitativo de fase sólida, a través del cual se determina la presencia de IgA anti-*Chlamydia trachomatis* específica de especie en cada muestra. La fase sólida es un peine de 12 proyecciones o dientes.

Procedimiento

La técnica se inició colocando los reactivos y las muestras a temperatura ambiente. Posteriormente se procedió a prediluir las muestras: 25 μ l de suero o líquido seminal y 75 μ l del diluyente para muestras. Se agregaron 25 μ l de cada muestra prediluida y control, en pocillos de la fila A de la bandeja de desarrollos, debidamente etiquetados, y se incubó a 37°C por 60 minutos. En este paso ocurre la reacción antígeno anticuerpo. Al finalizar la incubación se procedió a retirar los peines de la fila A y se absorbió el líquido adherido a las puntas de los dientes

apoyándolos sobre un papel absorbente limpio. Luego, se insertó el peine en los pocillos de la fila B con el fin de realizar el primer lavado, retirando y agitando vigorosamente el peine en los pocillos durante al menos 10 segundos, se repitió el lavado varias veces agitando en el transcurso de 2 minutos. Después, se retiró el peine y se absorbió el líquido adherido de la manera descrita anteriormente. Se insertó el peine en la fila C, en donde ocurrió la unión del conjugado, se mezcló e incubó a 37°C durante 20 minutos, finalizado este tiempo se retiró y absorbió el líquido adherido al peine. En las filas D y E Se procedió al segundo y tercer lavado, respectivamente, de la manera descrita. Por último se insertó el peine en la fila F, se mezcló e incubó por 10 minutos, en donde hubo la reacción de color, luego, se regreso a la fila E, con la finalidad de lavar el peine y detener la reacción, se incubó por un minuto, se retiró, se dejó secar al aire libre y se procedió a interpretar el resultado (Schachter, 1991).

Para confirmar el funcionamiento correcto de la prueba deben cumplirse las siguientes condiciones: El control positivo debe producir dos puntos en el diente del peine, uno superior y otro inferior. El control negativo debe producir un punto superior, el punto inferior no debe aparecer o aparecer tenuemente sin afectar la interpretación de los resultados. Cada muestra probada debe producir un punto superior.

Para la interpretación de los resultados, se consideró positivo los anticuerpos IgA contra *Chlamydia trachomatis* a los dientes del peine que presentaron un punto inferior con una intensidad de color igual o mayor que la del control positivo y la ausencia del punto inferior o un punto con una intensidad menor que la del control positivo, se consideró negativo.

Análisis estadístico

Los resultados de esta investigación fueron sometidos a un test de normalidad y homogeneidad; posteriormente, se aplicó estadística no paramétrica utilizando, el test de Kruskal-Wallis, el cual permitió evaluar los valores obtenidos en los parámetros del líquido seminal entre los grupos estudiados y para establecer relación entre los anticuerpos anti-*Chlamydia trachomatis* presentes en ambos grupos; así mismo, se utilizó un análisis de correlación por coeficiente de Pearson para relacionar las variables estándar del espermograma con el test de permeabilidad espermática y la presencia de anticuerpos séricos y seminales IgG e IgA anti-*Chlamydia trachomatis*, de igual manera, para establecer la relación entre el test de permeabilidad espermática y los anticuerpos séricos y seminales IgG e IgA anti-*Chlamydia trachomatis*, de los grupos analizados. Todas las pruebas fueron realizadas a un nivel de confiabilidad del 95 % (Sokal y Rohlf, 1981).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se presentan los resultados obtenidos en este trabajo de investigación. Las variables cualitativas del espermatograma relacionadas con color, olor, aspecto y viscosidad, así como, las variables de la viabilidad espermática a las 2 horas, arrojaron resultados que no se correlacionan estadísticamente con los anticuerpos IgG e IgA anti-*Chlamydia trachomatis*, ni con el test de permeabilidad espermática, por lo que no se incluyeron en las tablas subsiguientes.

En la tabla 1 se muestra el resumen de los resultados del análisis estadístico del test de Kruskal-Wallis entre las variables del espermatograma del grupo experimental y el grupo de referencia.

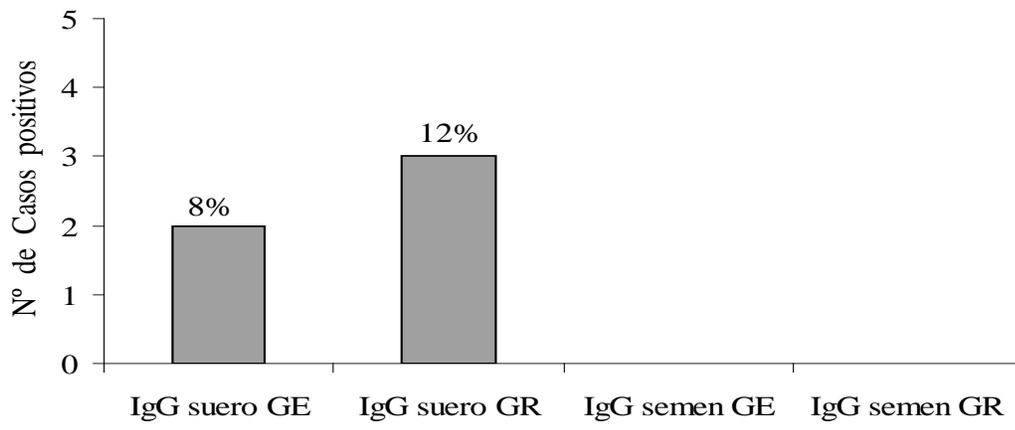
Tabla 1. Análisis estadístico del test de Kruskal-Wallis para las variables del espermatograma en semen de individuos que acudieron al Laboratorio Clínico "Dr. Santos Aníbal Dominicci C.A." de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, entre los meses mayo a septiembre del año 2007.

VARIABLES	Kruskal-Wallis	Valor-p	Nº (cada grupo)
Volumen (ml)	0,226	0,633	25
Tiempo de licuefacción	1,783	0,181	25
pH	0,318	0,572	25
Fructosa mg/dl	0,587	0,443	25
30 min Esp. MTR	8,824	0,002*	25
30 min Esp. MIS	5,667	0,017*	25
30 min Esp. Inmóviles	12,151	0,004*	25
% Esp. Vivos	6,287	0,012*	25
% Esp. Muertos	9,375	0,002*	25
N. Esp. x ml	15,979	0,001*	25
% Esp. Normales	9,650	0,001*	25
% Esp. Anormales	6,275	0,012*	25

Esp.: Espermatozoides; MTR: Móviles traslativos; MIS: Móviles *in situ*; *Significativo (p< 0.05).

Al aplicarse el test estadístico de Kruskal-Wallis en los datos obtenidos de los grupos estudiados, se puede observar que existen diferencias significativas entre ellos, en la viabilidad, morfología y contaje espermático, presentando el grupo experimental menor viabilidad, menor contaje espermático y mayor porcentaje de morfoanomalías. Cabe señalar que las alteraciones encontradas en algunas de las variables propuestas, no pueden ser consideradas de manera aislada como diagnóstico de infertilidad, ya que algunos individuos del grupo de referencia, es decir, con fertilidad comprobada, presentaron resultados fuera de los criterios establecidos por Krüger *et al.* (1989) y la OMS, hecho que sugiere que estos rangos de normalidad deben ser sujetos a revisión.

La figura 1 muestra la frecuencia de anticuerpos IgG anti-*Chlamydia trachomatis* en suero y líquido seminal, de individuos que acudieron al Laboratorio Clínico "Dr. Santos Aníbal Dominicci C.A." de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, entre los meses mayo a septiembre del año 2007.



GE: Grupo experimental; GR: Grupo referencia

Figura 1. Frecuencia de positividad de anticuerpos IgG anti-*Chlamydia trachomatis* en suero y semen de individuos que acudieron al Laboratorio Clínico "Dr. Santos Aníbal Dominicci C.A." de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, entre los meses mayo a septiembre del año 2007.

En la figura 1 se observa que la frecuencia de positividad de anticuerpos séricos IgG anti-*Chlamydia trachomatis* es menor en el suero del grupo experimental (8%) que en el suero del grupo de referencia (12%). La inmunoglobulina G es la más abundante en el suero humano y es la que predomina en las respuestas secundarias de anticuerpos (Amich *et al.*, 2000) pero, las determinaciones séricas de anticuerpos específicos tipo IgG contra *Chlamydia trachomatis* no muestran evidencias de una infección actual creciente, debido a que en individuos en etapas infecciosas, es posible encontrar esta variedad de anticuerpos, además, estos persisten durante largos períodos de tiempo y declinan muy lentamente (Periódico científico Referlab, 2001). También se puede observar en el presente gráfico que no se encontraron anticuerpos seminales IgG anti-*Chlamydia trachomatis* en ninguno de los grupos estudiados.

La figura 2 muestra la frecuencia de anticuerpos IgA anti-*Chlamydia trachomatis* en suero y líquido seminal, de individuos que acudieron al Laboratorio Clínico "Dr. Santos Aníbal Dominicci C.A." de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, entre los meses mayo a septiembre del año 2007.

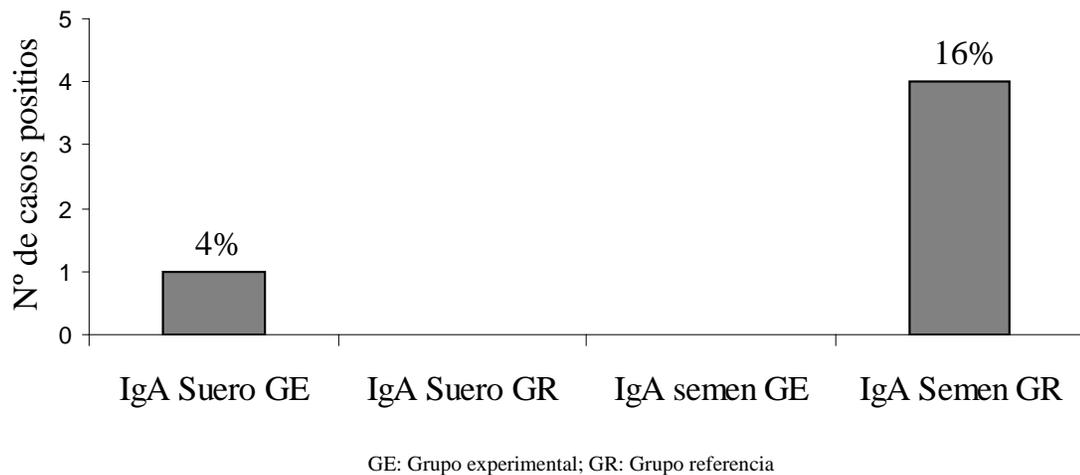


Figura 2. Frecuencia de positividad de anticuerpos IgA anti-*Chlamydia trachomatis* en suero y semen de individuos que acudieron al Laboratorio Clínico "Dr. Santos Aníbal Dominicci C.A." de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, entre los meses mayo a septiembre del año 2007.

En la figura 2 se puede observar que los anticuerpos IgA anti-*Chlamydia trachomatis* estuvieron presentes solo en el suero del grupo experimental y en el líquido seminal del grupo de referencia en un 4 y 16%, respectivamente, lo que indica infección activa o por contacto secundario (reinfección) con *Chlamydia trachomatis*, en contradicción con lo señalado por Cravioto *et al.* (2003), Gallegos (2003), Ostos y Sánchez (2003) y Hamdad *et al.* (2004), los cuales reportan que *Chlamydia trachomatis* está presente en el 71% de los casos de infertilidad masculina. Los resultados obtenidos en la figura 1 y la figura 2 concuerdan con Guerra *et al.* (2005), quienes trabajaron en México con un grupo de 384 varones y obtuvieron una frecuencia de 3,6% para 14 casos positivos, pero al mismo tiempo difieren de un estudio realizado en Valencia (Venezuela), por Ramírez *et al.* (2005), quienes obtuvieron una frecuencia de 23,50% y de López y Guerra, (2002); Tapia y Rojas (2003), quienes describen una prevalencia elevada de infecciones por *Chlamydia trachomatis* en varones asintomáticos o que muestran una ligera sintomatología, siendo esta infección considerada de importancia epidemiológica, porque al no ser detectada ni tratada oportunamente, el hombre se comporta como reservorio principal y transmisor de la bacteria.

Esta diferencia de resultados posiblemente radique en el tipo de método diagnóstico utilizado; Perea y García (1997), López y Guerra (2002), Ostos y Sánchez, (2003), sostienen que las técnicas como el enzimoimmunoensayo (EIA), utilizado en este trabajo de investigación, presenta baja sensibilidad en pacientes asintomáticos y tienen valor limitado en el diagnóstico de las infecciones agudas debido a la persistencia de los anticuerpos tras la resolución del cuadro clínico, pudiendo ser estas las causa de los resultados obtenidos; notable diferencia que se refleja en un estudio realizado por Witking *et al.* (1993), quienes obtuvieron una alta frecuencia (39%) en una población de 384 varones estudiados, empleando la técnica de PCR. Las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y reacción en cadena de la ligasa (LCR) han

demostrado mayor sensibilidad, pero son muy costosas (Labau *et al.*, 1998; Madico *et al.*, 2000).

En la figura 2 se pudo observar que los anticuerpos seminales IgA anti-*Chlamydia trachomatis* se encontraron solo en el grupo de referencia, lo que permite inferir que deben ser excluidos como marcadores de infertilidad.

En la tabla 2 se muestra el resumen de los resultados obtenidos mediante el análisis de correlación múltiple para establecer la relación que existe entre los anticuerpos séricos y seminales IgG anti-*Chlamydia trachomatis* y el espermograma básico del grupo de referencia. Los anticuerpos IgG semen e IgA suero, no se incluyeron en esta tabla, debido a que, resultaron todos negativos.

Tabla 2. Análisis estadístico de correlación múltiple para relacionar la presencia de anticuerpos séricos y seminales IgG e IgA anti-*Chlamydia trachomatis* con el espermograma de individuos del grupo de referencia que acudieron al Laboratorio Clínico “Dr. Santos Aníbal Dominicci C.A.” de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, entre los meses mayo a septiembre del año 2007.

Variables	Grupo Referencia total 25N r: 0,398		Grupo Referencia Casos Positivos 5N r:1,000	
	IgG suero	IgA semen	IgG suero	IgA semen
Volumen (ml)	0,019	0,160	0,119	0,674
Tiempo de licuación	-0,160	-0,134	-0,328	-0,186
pH	-0,236	-0,236	0,250	0,250
Fructosa mg/dl	0,117	0,109	0,471	0,445
30 min Esp. MTR	-0,298	-0,370	-0,398	-0,591
30 min Esp. MIS	0,381	0,328	0,468	0,245
30 min Esp. Inmóviles	0,006	0,178	0,285	0,808
% Esp. Vivos	0,018	0,084	0,333	0,583
% Esp. Muertos	-0,044	0,098	0,168	0,838
Nro. Esp. x ml	-0,017	-0,025	-0,290	-0,341
% Esp. Normales	-0,111	-0,003	-0,276	0,567
% Esp. Anormales	0,126	0,018	0,276	-0,567

Esp.: Espermatozoides; MTR: Móviles traslativos; MIS: Móviles *in situ*.

De acuerdo a estos resultados se puede observar que no hubo diferencias significativas en el grupo de referencia total, ni en los casos positivos del mismo grupo y los parámetros evaluados del líquido seminal.

En la tabla 3 se muestra el resumen de los resultados obtenidos mediante el análisis de correlación múltiple para establecer la relación que existe entre los anticuerpos séricos IgG e IgA anti-*Chlamydia trachomatis* y el espermograma básico del grupo experimental. Los anticuerpos IgG semen e IgA semen, no se incluyeron en esta tabla, debido a que, resultaron todos negativos.

Tabla 3. Análisis estadístico de correlación múltiple para relacionar la presencia de anticuerpos séricos IgG e IgA anti-*Chlamydia trachomatis* con el espermograma de individuos del grupo experimental que acudieron al Laboratorio Clínico “Dr. Santos Aníbal Dominicci C.A.” de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, entre los meses mayo a septiembre del año 2007.

Variables	Grupo Experimental total 25N r: 0,398		Grupo Experimental Casos Positivos 3N r: 1,000	
	IgG suero	IgA suero	IgG suero	IgA suero
Volumen (ml)	0,040	-0,074	1,000**	1,000**
Tiempo de licuación	-0,368	-0,035	-0,277	0,277
pH	0,241	0,167	0,000	0,000
Fructosa mg/dl	0,061	0,109	-0,167	0,167
30 min Esp. MTR	0,237	0,173	-0,023	0,023
30 min Esp. MIS	0,029	0,082	-0,088	0,088
30 min Esp. Inmóviles	0,370	-0,312	0,931	-0,931
%Esp. Vivos	0,301	-0,110	0,786	-0,786
%Esp. Muertos	0,272	-0,335	0,978	-0,978
Nro. Esp. x ml	-0,115	0,187	-0,439	0,439
%Esp. Normales	0,216	0,066	0,123	-0,123
%Esp. Anormales	0,451*	-0,181	0,947	-0,947

Esp.: Espermatozoides; MTR: Móviles traslativos; MIS: Móviles *in situs*; * Significativo (p< 0.05); ** Muy Significativo (p< 0.01).

De acuerdo a estos resultados, se puede observar que en el grupo experimental

total existe diferencias significativas, estableciéndose una asociación positiva entre los anticuerpos séricos IgG anti-*Chlamydia trachomatis* y los espermatozoides anormales (0,451; p= 0,024), aunque no se puede establecer que la presencia de anticuerpos séricos sea responsable de morfoanomalías, ya que, en el grupo con anticuerpos positivos no se observó significancia estadística; además, las estadísticas descriptiva, reportaron valores promedios de anormalidad similares para todos los grupos de pacientes estudiado, grupo experimental casos positivos (\bar{x} =21,67); grupo referencia casos positivos (\bar{x} = 24,40); grupo de pacientes totales positivos (\bar{x} = 23,38).

Por otro lado, en los individuos con anticuerpos positivos del grupo experimental se evidencia que el volumen guarda una relación estadística positiva muy significativa con los anticuerpos séricos IgG (1,000; p= 0,010) e IgA (1,000; p= 0,010) anti-*Chlamydia trachomatis*, pero a pesar de lo antes expuesto, en este trabajo de investigación no se puede asegurar que la presencia de IgA sérico anti-*Chlamydia trachomatis* influya en la modificación del volumen seminal, ya que, en la estadística descriptiva, se obtuvieron valores promedios en los referidos grupos que se encuentran dentro de los parámetros normales; grupo experimental casos positivos (\bar{x} = 3,70), grupo experimental total (\bar{x} = 3,58) y en el grupo de referencia total (\bar{x} = 3,47), en donde cabe destacar la ausencia de anticuerpos séricos IgA anti-*Chlamydia trachomatis*; por lo que se puede inferir que el funcionamiento de las glándulas accesorias, incluyendo las vesículas seminales y la glándula prostática, las cuales proporcionan los fluidos que lubrican el sistema de conductos y conforman en casi un 95% el volumen seminal no se vieron comprometidas por la infección clamidial.

Los resultados hallados en esta investigación concuerdan con los obtenidos por Eggert *et al.* (1996) y Gdoura *et al.* (2001), quienes no encontraron relación entre el espermatograma y la infección clamidial, y al mismo tiempo difieren de los estudios

reportados por Custo *et al.* (1989) quienes si relacionaron la infección clamidial y la calidad del semen.

La tabla 4 ilustra el resumen de los resultados obtenidos en el análisis de correlación múltiple para relacionar el test de permeabilidad espermática (HOST) con las variables del espermatograma en el semen de los grupos estudiados.

Tabla 4. Análisis estadístico de correlación múltiple para relacionar el test de permeabilidad espermática (HOST) con el espermatograma de individuos que acudieron al Laboratorio Clínico “Dr. Santos Aníbal Dominicci C.A.” de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, entre los meses mayo a septiembre del año 2007

Variables	Grupo Referencia 25N r: 0,398		Grupo Experimental 25N r: 0,398	
	HOST Post	HOST Neg	HOST Post	HOST Neg
Volumen (ml)	-0,171	0,351	-0,007	0,341
Tiempo de licuación	-0,188	0,258	-0,278	0,057
pH	-0,110	0,142	-0,163	0,095
Fructosa mg/dl	-0,247	0,197	0,224	-0,132
30 min Esp. MTR	0,000	-0,136	0,677*	0,011
30 min Esp. MIS	0,181	0,114	0,539*	0,287
30 min Esp. Inmóviles	-0,225	0,090	0,100	0,691**
% Esp. Vivos	-0,124	0,104	0,179	-0,531**
% Esp. Muertos	0,056	0,185	0,007	0,523**
Nro. Esp. x ml	-0,078	-0,017	0,537**	-0,121
% Esp. Normales	0,068	-0,553**	0,841**	0,142
% Esp. Anormales	-0,025	0,588**	0,096	0,736**

Esp.: Espermatozoides; MTR: Móviles traslativos; MIS: Móviles *in situs*; HOST Post: test de permeabilidad espermática positivo; HOST Neg: test de permeabilidad espermática negativo; *Significativo ($p < 0.05$); **Muy Significativo ($p < 0.01$).

De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio, existen diferencias muy significativas en cuanto al test de permeabilidad espermática y la morfología espermática, en el grupo de referencia y en el grupo experimental, en donde se evidenció una asociación positiva entre el porcentaje de espermatozoides anormales con los espermatozoides HOST negativo (0,588; $p = 0,002$) y (0,736; $p = 0,003$) respectivamente, mientras que, esta asociación fue inversa para los espermatozoides

normales en el grupo de referencia (-0,553; $p= 0,004$). En el grupo experimental el porcentaje de espermatozoides normales se asoció positivamente con el porcentaje de espermatozoides HOST positivo (0,841; $p= 0,001$) todo esto permite sugerir, que el daño a la membrana espermática conlleva a morfoanomalías

Por otro lado se observó que en el grupo experimental los espermatozoides móviles traslativos y los móviles *in situ*, registraron una correlación positiva con los espermatozoides HOST positivo (0,677; $p= 0,004$ y 0,539 $p= 0,005$, respectivamente), similarmente los inmóviles tuvieron una asociación positiva muy significativa con el porcentaje de espermatozoides HOST negativo (0,691; $p= 0,003$), pudiendo deducirse en el grupo experimental, que a mayor integridad de membrana, mejora la motilidad espermática. En el grupo de referencia no se observó relaciones estadísticas significativas.

En cuanto a la vitalidad espermática del grupo experimental, se puede apreciar que los espermatozoides vivos se asocian negativamente de manera muy significativa con el porcentaje de espermatozoides HOST negativo (-0,531; $p= 0,006$), de igual manera, los espermatozoides muertos se relacionaron positivamente con el porcentaje de espermatozoides HOST negativo (0,523; $p= 0,007$). Al mismo tiempo podemos resaltar que en este grupo de individuos el número de espermatozoides por ml, tiene una relación positiva con el porcentaje de espermatozoides HOST positivo (0,537; $p= 0,006$).

Estos resultados coinciden con un estudio realizado por Legendre (2007), en Carúpano (Venezuela), quien aplicó el test de endósmosis celular a un grupo de varones con infertilidad y los comparó con un grupo control, obteniendo resultados similares a los que se evidencian en esta investigación en la dos poblaciones estudiadas.

La falta de asociación estadística con las demás variables del espermatograma, confirman lo planteado por otros investigadores, cuando proponen que el test de permeabilidad espermática, es un marcador confiable para estudiar la integridad de la membrana espermática, siendo este test utilizado en semen de humanos (Jeyendran, *et al.*, 1989) y de igual manera modificado para ser utilizado en semen de otras especies como: toros, perros y cerdos, respectivamente (Correa y Zavos, 1994; Vásquez *et al.*, 1997; Sánchez *et al.*, 2002). Así mismo, en esta investigación se pone de manifiesto que el test de permeabilidad espermática, al igual que el de eosina, sirven como parámetros evaluadores, tanto a nivel estructural como funcional, de la membrana plasmática de los espermatozoides, siendo esta indispensable para la vitalidad y viabilidad espermática, por lo tanto, pueden considerarse como buenos métodos predictivos de la capacidad de fertilizar del espermatozoide, aunque no todos los autores sostienen este planteamiento (Rogers y Parker, 1991; Bahamondes *et al.*, 2001).

La tabla 5 ilustra el resumen de los datos obtenidos del análisis de correlación múltiple entre los anticuerpos séricos y seminales IgG e IgA anti-*Chlamydia trachomatis* con el test de permeabilidad espermática del grupo de referencia. Los anticuerpos IgG semen e IgA suero, no se incluyeron en esta tabla, debido a que, resultaron todos negativos.

Tabla 5. Análisis estadístico de correlación múltiple para relacionar la presencia de anticuerpos séricos y seminales IgG e IgA anti-*Chlamydia trachomatis* con el test de permeabilidad espermática (HOST) de individuos del grupo de referencia que acudieron al Laboratorio Clínico “Dr. Santos Aníbal Dominicci C.A.” de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, entre los meses mayo a septiembre del año 2007.

Variables	Total		Positivos	
	25 N r: 0,398		5 N r: 1,000	
	IgG suero	IgA semen	IgG suero	IgA semen
HOST Post Grupo de Referencia	-0,093	-0,329	0,439	-0,957**
HOST Neg Grupo de Referencia	-0,066	0,168	-0,228	0,975**

HOST Pos: test de permeabilidad espermática positivo; HOST Neg: test de permeabilidad espermática negativo; * Significativo ($p < 0.05$); ** Muy Significativo ($p < 0.01$).

De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede observar que existe diferencias muy significativas entre el test de permeabilidad espermática y los anticuerpos seminales IgA anti-*Chlamydia trachomatis*, en individuos del grupo de referencia con anticuerpos positivo, pudiéndose interpretar, que la presencia de anticuerpos IgA en el semen conllevan a daño en la integridad de la membrana espermática, ya que la relación fue inversa con el porcentaje de HOST positivo (-0,957; $p = -0,011$) y directamente proporcional con el porcentaje de espermatozoides HOST negativo (0,957; $p = 0,005$); Hanssen y Mardh (1984) sostienen que *Chlamydia trachomatis* es capaz de adherirse a la membrana citoplasmáticas de los espermatozoides y dañarla, haciéndolos infuncionales.

La tabla 6 ilustra el resumen de los datos obtenidos del análisis de correlación múltiple entre los anticuerpos séricos IgG e IgA anti-*Chlamydia trachomatis* con el test de permeabilidad espermática del grupo experimental. Los anticuerpos IgG semen e IgA semen, no se incluyeron en esta tabla, debido a que, resultaron todos negativos y no guardan correlación estadística con este grupo.

Tabla 6. Análisis estadístico de correlación múltiple para relacionar la presencia de anticuerpos séricos IgG e IgA anti-*Chlamydia trachomatis* con el test de permeabilidad espermática (HOST) de individuos del grupo experimental que acudieron al Laboratorio Clínico “Dr. Santos Aníbal Dominicci C.A.” de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, entre los meses mayo a septiembre del año 2007.

Variables			Total 25 N r: 0,398		Positivos 3 N r: 1,000	
			IgG suero	IgA suero	IgG suero	IgA Suero
HOST	Post	Grupo	0,214	0,062	0,134	-0,134
Experimental						
HOST	Neg	Grupo	0,340	-0,163	0,816	-0,816
Experimental						

HOST Pos: test de permeabilidad espermática positivo; HOST Neg: test de permeabilidad espermática negativo.

De acuerdo a estos resultados, se puede evidenciar que en el grupo experimental total al igual que en individuos con anticuerpos positivos de este mismo grupo, no existe diferencias estadísticas significativas entre el test de permeabilidad espermática y los anticuerpos séricos IgG e IgA anti-*Chlamydia trachomatis*.

Aunque la presencia de anticuerpos IgA en el semen de los individuos del grupo de referencia, pueda ser considerada con un indicador de daño de membrana, la ausencia de estos anticuerpos en el grupo experimental no excluye daño de la misma, lo que permite inferir, que la presencia de de anticuerpos IgA anti-*Chlamydia trachomatis*, no es factor exclusivo de daño en la integridad de la membrana espermática.

La tabla 7 ilustra el resumen de los datos obtenidos en el análisis de test de Kruskal-Wallis entre los anticuerpos séricos y seminales IgG e IgA anti-*Chlamydia trachomatis* de los grupos estudiados. Es necesario resaltar que en los anticuerpos IgG semen e IgA suero, del grupo de referencia no se incluyeron en esta tabla, debido a que, resultaron todos negativos y no guardan correlación estadística con este grupo,

de igual manera fueron excluidos los anticuerpos IgG e IgA semen del grupo experimental.

Tabla 7. Análisis estadístico del test de Kruskal-Wallis para establecer la relación de los anticuerpos IgG e IgA anti-*Chlamydia trachomatis* en el suero y líquido seminal de individuos que acudieron al Laboratorio Clínico “Dr. Santos Aníbal Dominicci C.A.” de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, entre los meses mayo a septiembre del año 2007.

Variables	Grupo de Referencia		Grupo Experimental	
	Valor-p	Kruskal-Wallis	Valor-p	Kruskal-Wallis
IgG Suero-IgA Semen	1,000	0,000		
IgG Suero-IgA Suero			0,555	0,374

*Significativo ($p < 0,05$).

Sobre la base de estos resultados, se puede apreciar que en ambos grupos no se encontraron diferencias significativas entre los anticuerpos IgG e IgA anti-*Chlamydia trachomatis*, probablemente por encontrarse estos en fases distintas del proceso infeccioso, IgA en fase aguda e IgG en fase crónica, además de esta situación, se estableció relación para el grupo de referencia en fluidos corporales distintos, como lo son IgG suero e IgA semen, lo cual también pudo influir en los resultados.

CONCLUSIONES

La determinación de anticuerpos séricos y seminales IgG e IgA anti-*Chlamydia trachomatis* por EIA, no mostró relación estadística con los parámetros del espermatograma ni con el test de permeabilidad espermática, por lo cual no se recomiendan como marcadores de infertilidad masculina.

La frecuencia de positividad de anticuerpos IgG e IgA anti-*Chlamydia trachomatis* baja en este estudio, puede ser atribuida al método de diagnóstico utilizado.

Las alteraciones en algunos parámetros del espermatograma (viabilidad, conteo espermático, morfología) no son patognomónicos de infertilidad masculina, como lo demuestra el hecho, de que individuos del grupo de referencia o con fertilidad comprobada, presentaran valores fuera de los criterios establecidos por Krüger *et al.* (1989) y la OMS, hecho que sugiere que estos rangos de normalidad deben ser sujetos a revisión.

El test de permeabilidad espermática resulta una prueba económica, confiable y de fácil ejecución para evaluar la integridad de la membrana espermática.

RECOMENDACIONES

Introducir el test de permeabilidad espermática, como prueba complementaria en el análisis de rutina del líquido seminal.

Promover programas de educación sexual y sanitaria a la población, que aporten información sobre enfermedades venéreas, transmisión y profilaxis de las mismas.

Promover el uso de preservativos con la finalidad de evitar y prevenir la infección por *Chlamydia trachomatis*, así como de otras infecciones de transmisión sexual.

Promover en personas que cursen con la infección, la aplicación del tratamiento adecuado y evitar mantener relaciones sexuales cuando se encuentre bajo tratamiento antimicrobiano, con el fin de prevenir complicaciones y la expansión de la enfermedad a otras personas.

BIBLIOGRAFÍA

Acosta, A. y Krüger, T. 1996. *Human spermatozoa in assisted reproduction*. 2^{da} Edition. The Parthenon Publishing Group. New York.

Askienazy, M. 2005. Male genital tract infection: the point of view of the bacteriologist. *Gynecology Obstetrics and Fertility*, 33(9): 691.

Amich, S.; Salve, M. y Prieto, S. 2000. *Manual de laboratorio clínico diagnóstico inmunológico*. McGraw - Hill Interamericana de España, S.A.U.

Bahamondes, L.; Fazano, F.; De Lucio, M.; Neves, P.; Luiz, F. y Lorenzetti, G. 2001. Evaluation of human sperm membrana integrity using the water test and the hypoosmotic test. *Andrologia*, 33(2): 75-77.

Barja, I. y Barrios L. 2003. Alteraciones en los espermatogramas en varones que acudieron por infertilidad de pareja a la unidad de reproducción humana del hospital Edgardo Rebagliati Martins. Enero-Diciembre 2002. Trabajo post grado. Facultad de Medicina. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Peru.

Brunham R. y Peeling, R. 1994. *Chlamydia trachomatis* antigens: role in immunity and pathogenesis. *Department of Medical Microbiology, University of Manitoba*, 3(5): 218-233.

Campana, A.; Agostini, A; Bichof, P.; Tawfik, E.; Mastorilli, A. 1995. Evaluation of Infertility. *Human Reproduction Update*, 17(1): 586-606.

Cravioto, M.; Matamoros, O.; Villalobos, Y.; Peña, O.; García, E.; Martínez, M.; Castelo, J. y Sifuentes, J. 2003. Prevalencia de anticuerpos anti-*Chlamydia trachomatis* y anti-*Neisseria gonorrhoeae* en grupos de individuos de la población mexicana. *Salud Pública*, 45(5): 81-84.

Correa, J. y Zavos, P. 1994. The hypoosmotic swelling test: its employment as an assay to evaluate the functional integrity of the frozen-thawed bovine sperm membrane. *Theriogenology*, 42: 351-360.

Custo, G. Lauro, V. Saitto, C. y Frongillo, R. 1989. Chlamydial infection and male fertility: an epidemiological study. *Archive Andrology*, 23: 243-248.

De Alvear, M. (ed). 1989. *Manual de laboratorio de Organización Mundial de la Salud para el examen de semen humano y la interacción entre el semen y el moco*

cervical. Editorial Médica Panamericana Buenos Aires.

Del Piano, N.; Pustorino, S. y Sessa, R. 1989. *Chlamydiae*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Retrieve&dopt=Abstract&list_uids=2483892&itool=iconabstr&query_hl=17&itool=pubmed_docsum> (11/08/2006).

Durphy B.; Neal, L. y Cooke, I. 1989. The clinical value of convencional semen analysis. *Fertil and Steril*, 51: 324-329.

Eggert, W.; Buhlinger, N.; Rohr, G.; Probst, S.; Aufenanger, J.; Naher, H. y Runnebaum, B. 1996. Antibodies ti *Chlamydia trachomatis* in semen and relationship with parameters of male fertility. *Human Reproduction*, 11: 1408-1417.

Engvall, F. y Perlmann, P. 1971. Enzyme-linked Inmunosorbent assay (ELISA): quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry*, 8: 871.

Gallegos, G. 2003. Infecciones por *Chlamydia trachomatis* y *Mycoplasma* sp. Su relación con la infertilidad masculina. *Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey México*, 18(3): 106-112.

Gdoura, R.; Daoudi, F. y Bouzid, F. 2001. Detection of *Chlamydia Trachomatis* in semen and urethral specimens from male members of infertile copules in tunisia. *Journal contraception Reproduction Health Care*, 6: 14-20.

Guerra, F.; Tapia, J.; López, M.; Flores, S. y Díaz, F. 2005. Infección por *Chlamydia trachomatis* en varones y su asociación con las alteraciones ginecológicas de su compañera sexual. *Revista de Investigacion Clínica*, 57(3): 406-414.

Gómez, M.; Montes, T.; Marcano, C. y Marino, F. 1997. *Microbiología Médica de Divo*. 5^{ta} edición. Mc Graw Hill. Caracas.

Hamdad, F.; Petit, J. y Eb, F. 2004. La valoración de infección por *Chlamydia trachomatis* en cónyuges masculinos asintomáticos de parejas infértiles. *Society for General Microbiology*, 53: 985-990.

Hanssen, W. y Mardh, P. 1984. In vitro tests of adherence of *Chlamydia trachomatis* to human spermatozoa. *Fertil Steril*, 42: 102-107.

Iovine, E. y Selva, A. 1985. *El laboratorio en la clínica*. 2^{da} Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires.

Jakiel, R. y Wieczorek, B. 2000. *La evaluación de algunos parámetros de semen humano con reacción clamidial positiva*. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=16146050&query_hl=5&itool=pubmed_docsum>> (15/05/2006).

Jeyendran, R.; Van der ven, H.; Rosecrnas, R.; Pérez, M.; Al-hasani, S. y Zaneveld, L. 1989. Chemical constituents of human seminal plasma relationship to fertility. *Andrology*, 21(5): 423-428.

Krüger, T.; Acosta, A.; Simmons, K.; Swanson, R.; Matta, J. y Veeck, L. 1989. New method of evaluating sperm morphology with predictive value for human in vitro fertilization. *Urology*, 30: 248-51.

Labau, H.; Bennet, P.; Massip, P. y Chabanon, G. 1998. Direct Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* genital infections: Culture or PCR? *Journal of Clinical Microbiology*, 46(10): 813-818.

Legendre, I. 2007. Valoración del espermatograma, test de permeabilidad espermática y marcadores bioquímicos en pacientes con problemas de infertilidad. Trabajo de grado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

López, M. y Guerra, F. 2002. Papel de los anticuerpos en el desarrollo de la infección por *Chlamydia trachomatis* y su utilidad en el diagnóstico. *Perinatal Reproduction Human*, 16(3): 140-150.

Madico, G.; Quinn, T. y Graydos, C. 2000. Touchdown enzyme time release-PCR for detection and identification of *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae* and *Chlamydia psittaci*. Using the 16s and 16s -23s spacer rRNA genes. *Journal of Clinical Microbiology*, 38: 1085-1093.

Mania, J.; Gokral, J. y Meherji, P. 2001. *Chlamydia trachomatis* infection among asymptomatic males in an infertility clinic. *Indian Journal Dermatology Venereal Leprol*, 67: 242-245.

Muñoz, J.; Rangel, A.; Espinoza, G.; Cristancho, M. y Hernández, M. 1991. *Inmunología básica*. Consejo de Publicaciones. ULA, Mérida.

Organización Panamericana de la Salud (OPS). 1990. *Bioética*. Boletín de la Oficina Panamericana. Vol. 108.

Organización Panamericana de la Salud (OPS). 2000. *Bioética*. Principios éticos para los investigadores en seres humanos. Publicación científica. OMS-OPS.

Ostos, O. y Sánchez, R. 2003. *Chlamydia trachomatis*: avances y perspectivas. *Nova-Publicación científica*, 1(1): 81-93.

Perea, E. y García S. 1997. *Infecciones por Chlamydia*. *Medicina Interna*. Farreras V. 3^{ra} Edición. Harcourt Brace. Madrid.

Pérez, B; González, J.; Clemente, M. y García P. 1999. El test de endósmosis celular (HOST) en semen de ganado porcino. *Albéitar*, 30: 16-17.

Periódico científico Referlab. 2001. *Chlamydia trachomatis*. 1(4): 1-2.

Quintero, A.; Madrigal, O.; Gallardo, F.; Ramió, L.; Peña, A.; Miró, J.; Rigau, T. y Rodríguez, J. 2003. Subpoblaciones espermáticas en mamíferos. *Biología de la reproducción*, 8: 47-49.

Ramírez, L.; Alfieri, A. y Guevara, Y. 2005 Determinación de anticuerpos contra *Chlamydia trachomatis* en pacientes del Centro Medico Doctor Rafael Guerra Mendez, Valencia Venezuela. *Revista Sociedad Venezolana de Microbiología*, 25: 123-149.

Roger, B. y Parker, R. 1991. Relationship between the human sperm hypoosmotic swelling test and sperm penetration assay. *Journal Andrology*, 12: 152-158.

Rojas, J. y Bravo, R. 2001. *Las bacterias como causa de infertilidad masculina*. <<<http://www.angelfire.com/ex2/imra/infertilidad.htm>>> (15/05/2006).

Sánchez, A.; Rubilar, J. y Gatica, M. 2002. Evaluation of fresh and frozen canine semen by the hypoosmotic swelling test. *Veterinary Medicine*, 34: 123-130.

Schachter, J. 1991. *Chlamydial Infections*. Herman Kl, Ipenberg HD, Shadomy HY. Eds. Manual of Clinical Microbiology Fifth edition. American Society for Microbiology, Washinton, DC.

Schachter, J. 1998. Chlamydial infections. *Journal Medicine*, 298: 540-547.

Sokal. R. y Rohlf, F. 1981. *Biometría, principios estadísticos en la investigación biológica*. Ediciones Blume. H Madrid, España.

Tapia, R. y Rojas, J. 2003. Seminología del análisis del semen. *Publicación científica, Colegio Mexicano de Urología*, 18: 48-52.

Teppa, A. y Palacios, A. 2004. Evaluación actual de la infertilidad masculina. *Publicación científica, Departamento de Andrología, Clínica el Ávila*, 45(4): 355-370.

Vásquez, J.; Martínez, E.; Martínez, P.; García, A. y Roca, J. 1997. Hypoosmotic swelling of the boar spermatozoa compared the other methods for analyzing the sperm membrane. *Theriogenology*, 47: 913-922.

Vásquez, F. y Vásquez, D. 2007. Espermatograma y su utilidad Clínica. *Salud Uninorte*, 23(2): 220-230.

Venkatesan, P. y Wakelin, O. 1993. ELISAs for parasitologists: or lies, damned lies and ELISAs. *Parasitology Today*, 9(6): 288-232.

Veznik, S. y Pospisil, D. 1999. *Detección de clamidia en semen animal y humano usando la inmunofluorescencia directa* <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=8830446&query_hl=8&itool=pubmed_docsum>> (10/05/2006).

Villanueva, C.; Echavarría M. y Juárez A. 2003. Bacteriospermia asintomática y esterilidad masculina. *Colégio mexicano de Urología*, 18(4): 145-148.

Witkin, S.; Jeremias, J.; Grifo, A. y Ledger W. 1993. Detection of *Chlamydia trachomatis* in semen by the polimerase chain reaction in male members of infertile couple. *Journal Obstetric Gynecologi*, 168: 1457-1462.

Zapata, M.; Ahumada, F.; Cuffini, C.; Cordoba, P. y Grutadauria, S. 1997. Aislamiento de *Chlamydia trachomatis* y respuesta inmune en diferentes poblaciones. *Medicina*, 57(1): 7-14.

ANEXOS

ANEXO 1

CONSENTIMIENTO VÁLIDO

Bajo la coordinación del Dr. Henry De Freitas, profesor de la Universidad de Oriente Núcleo de Sucre, y el Licdo. Pedro Hernández, asesor en el área asistencial, se está realizando el proyecto de investigación intitulado: " VALORACIÓN DE LA INFECCIÓN GENITAL POR *Chlamydia trachomatis* EN HOMBRES CON DIAGNÓSTICO DE INFERTILIDAD ", cuyo objetivo general es: Evaluar la influencia de la infección genital por *C. trachomatis* en la calidad del semen en pacientes con diagnóstico de infertilidad, que acudan a realizarse análisis de líquido seminal al Laboratorio Clínico "Dr. Santos Aníbal Dominicci C.A." de la ciudad de Carúpano, estado Sucre entre los meses febrero-mayo de 2007.

Yo: _____

C.I: _____ Nacionalidad: _____

Estado civil: _____ Domiciliado en: _____

Siendo mayor de 18 años, en uso pleno de mis facultades mentales y sin que medie coacción ni violencia alguna, en completo conocimiento de la naturaleza, forma duración, propósito, inconvenientes y riesgos relacionados con el estudio indicado, declaro mediante la presente:

1. Haber sido informado, de manera clara y sencilla por parte del grupo de investigadores de este proyecto, de todos los aspectos relacionados con el proyecto de investigación llevado a cabo en la Universidad de Oriente, núcleo

de Sucre intitulado: “Valoración de la infección genital por *Chlamydia trachomatis* en hombres con diagnóstico de infertilidad”.

2. Tener conocimiento claro de que el objetivo del trabajo antes mencionado es: Evaluar la influencia de la infección genital por *C. trachomatis* en la calidad del semen en pacientes con diagnóstico de infertilidad, que acudan a realizarse análisis de líquido seminal al Laboratorio Clínico “Dr. Santos Aníbal Dominicci C.A.” de la ciudad de Carúpano, estado Sucre entre los meses febrero-mayo de 2007.
3. Conocer bien el protocolo experimental expuesto por el investigador, en el cual se establece que mi participación en el trabajo consiste en: donar de manera voluntaria una muestra de semen la cual obtendré por masturbación, habiendo tenido una abstinencia sexual, tabáquica y alcohólica de 3 a 5 días, y una muestra de sangre de 5cc, la cual se me extraerá mediante punción venosa, previa antisepsia de la región anterior del antebrazo, la cual será analizada por una persona capacitada y autorizada por el licdo. Pedro Hernández, coordinador del proyecto.
4. Que la muestra de semen y sangre que acepto donar será única y exclusivamente para realizar el espermatograma, test de permeabilidad espermática y determinación de anticuerpos IgA e IgG anti-*Chlamydia trachomatis*.
5. Que el equipo de personas que realiza esta investigación coordinada por el licenciado Pedro Hernández me ha garantizado confidencialidad relacionada tanto a mi identidad como a cualquier otra información relativa a mi persona a la que tenga acceso por concepto de mi participación en el proyecto antes mencionado.
6. Que bajo ningún concepto podré restringir el uso para fines académicos de los resultados obtenidos en el presente estudio.

7. Que mi participación en dicho estudio no implique riesgo ni inconveniente alguno para mi salud.
8. Que cualquier pregunta que tenga en relación con este estudio me será respondida oportunamente por parte del equipo de personas antes mencionadas, con quienes me puedo comunicar por el teléfono 0424-8214952 con la bachiller Carmen Rivas.
9. Que en ningún momento se me ha ofrecido, ni pretendo recibir ningún beneficio de tipo económico producto de los hallazgos que se puedan producir en el referido proyecto de investigación.

ANEXO 2
DECLARACION DEL INVESTIGADOR

Luego de haber explicado detalladamente al voluntario la naturaleza del protocolo mencionado, certifico mediante la presente que a mi leal saber, el sujeto que firma este formulario comprende la naturaleza, requerimientos, riesgos y beneficios de su participación en este estudio. Ningún problema de índole médica, de idioma o de instrucción ha impedido al sujeto tener una clara comprensión de su compromiso con este estudio.

Por el proyecto: "VALORACIÓN DE LA INFECCIÓN GENITAL POR *Chlamydia trachomatis* EN HOMBRES CON DIAGNÓSTICO DE INFERTILIDAD".

Nombre: _____

Lugar y Fecha: _____

ANEXO 3

AUTORIZACIÓN

Yo _____, portador de C.I. _____, (paciente) autorizo a la Br: Carmen M. Rivas V. C.I.: 13.631.345, a analizar la muestra de semen, obtenida por masturbación, siguiendo las recomendaciones previamente sugeridas (abstinencia sexual, tabáquica, alcohólica y traslado al laboratorio) y sangre, obtenida por punción venosa previa antisepsia de la región anterior del brazo, y cuyo resultado será usado en el desarrollo de su trabajo de grado que lleva por nombre: " VALORACIÓN DE LA INFECCIÓN GENITAL POR *Chlamydia trachomatis* EN HOMBRES CON DIAGNÓSTICO DE INFERTILIDAD".

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

Firma

APENDICE 1

Fecha: ___/___/___

A.- Datos personales

1. Nombres y Apellidos: _____
2. Edad: ___
3. Ocupación: _____
4. Dirección: _____
_____ teléfono: _____
5. ¿Tiene hijos? SI: _____ NO: _____ ¿Cuántos? _____ Edad del menor _____

B.- Datos clínicos:

1. ¿Presenta algún tipo de enfermedad?: SI _____ NO _____
2. ¿Cuál?
Varicocele: _____ Epididimitis _____ Prostatitis: _____ Hernia Inguinal: _____
Quistes _____ Orquitis: _____ Parotiditis _____ Diabetes _____
Criptorquidia _____ Otras intervenciones quirúrgicas sobre el área genito-urinario:

C.- Hábitos:

1.- Alcohólicos:

¿Consume bebidas alcohólicas?: SI _____ NO _____

¿Con qué frecuencia?

Diario: _____ Semanal: _____ Quincenal: _____ Ocasionalmente: _____

2.- Tabáquicos:

¿Consume o consumió cigarrillos?: SI _____ NO _____

¿Con qué frecuencia?

1 por día _____ 2 a 5 por día: _____ 6 a 10 por día: _____ Más de 10 por día:

Semanal: _____ Ocasionalmente: _____

3.- Otros:

¿Practica algún tipo de ejercicio?: SI ____ NO ____

¿Que tipo?: _____

¿Usa ropa interior?: SI ____ NO ____

¿Qué tipo? Algodón: ____ Poliéster: ____

¿Cómo la usa?: Ajustada ____ Floja ____

Frecuencia de las relaciones sexuales:

Diario: ____ 2 a 3 veces por semana: ____ Semanal ____ Quincenal ____

1 vez al mes ____ Ocasionalmente: ____

4.- Impresión Diagnóstica:

5.- Médico tratante: _____

HOJA DE METADATOS

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso.

Título	VALORACIÓN DE LA INFECCIÓN GENITAL POR <i>Chlamydia trachomatis</i> EN HOMBRES CON DIAGNÓSTICO DE INFERTILIDAD
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
CARMEN MILAGROS RIVAS VILLARROEL	CVLAC	13631345
	e-mail	lachimorenaclara@hotmail.com
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Palabras o frases claves:

ITS: INFECCIONES DE TRANSMISION SEXUAL
EIA: ENSAYO INMUNOENZIMATICO
IgA: INMUNOGLOBULINA
IgG: INMUNOGLOBULINA
INFERTILIDAD
ESPERMATOGRAMA
<i>Chlamydia trachomatis</i>

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
CIENCIAS	BIOANALISIS

Resumen (abstract):

La infertilidad se define como la imposibilidad de producirse un embarazo a pesar de mantener relaciones sexuales regulares, sin el empleo de métodos contraceptivos, durante un período de 12 meses. Se estima que el factor masculino está implicado en el 30 a 50% de los casos, generalmente, por alteración de las características seminales como lo son la viabilidad, concentración y motilidad espermática. El daño producido por procesos infecciosos de origen bacteriano es causa frecuente de infertilidad masculina. El objetivo general de este trabajo fue evaluar la influencia de la infección genital por *Chlamydia trachomatis* en la calidad del semen en pacientes con diagnóstico de infertilidad; para ello se estudió una población de 50 hombres (25 de referencia y 25 con trastornos) que acudieron al Laboratorio Clínico "Dr. Santos Aníbal Dominicci C.A." de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, entre los meses mayo-septiembre de 2007. Las características seminales básicas fueron evaluadas según los criterios establecidos por la OMS. Los anticuerpos anti-*Chlamydia trachomatis* IgG e IgA en suero y en semen, fueron determinados utilizando el ensayo inmunoenzimático Inmunocomb II y el test de permeabilidad espermática, incubando los espermatozoides en medio hiposmótico. Según los resultados obtenidos se puede concluir que: los anticuerpos IgG e IgA en suero y semen anti-*Chlamydia trachomatis*, determinados por EIA no deben ser utilizados como marcadores de infertilidad masculina, ya que estos no guardaron ninguna relación estadística con los parámetros del espermatograma ni con el test de permeabilidad espermática en ninguno de los grupos estudiados. La frecuencia de positividad de anticuerpos IgG e IgA anti-*Chlamydia trachomatis* fue baja en este estudio, y puede ser atribuida al método diagnóstico utilizado

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
PROFESOR Y DOCTOR: HENRY DE FREITAS.	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> T <input checked="" type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> J <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	hendef@hotmail.com
	e-mail	
LICENCIADO PEDRO HERNANDEZ BELLO	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> T <input checked="" type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> J <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	pedringo@hotmail.com
	e-mail	
DOCTORA MARIBEL MORILLO	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> J <input type="checkbox"/> U <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
LICENCIADA PATRICIA CRUCES	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> J <input type="checkbox"/> U <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2009	02	04

Lenguaje: SPA

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis_CR.doc	Aplicattion/word

Alcance:

Espacial: CUMANÁ, EDO SUCRE (Opcional)

Temporal: 2007-2008 (Opcional)

Título o Grado asociado con el trabajo:

LICENCIATURA EN BIOANÁLISIS

Nivel Asociado con el Trabajo:

LICENCIADA

Área de Estudio:

BIOANÁLISIS - CIENCIAS

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

UNIVERSIDAD DE ORIENTE NÚCLEO DE SUCRE

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

Derechos:

Yo, Carmen Milagros Rivas Villarroel, autorizo a la Universidad de Oriente a la publicación del resumen del trabajo de grado titulado: **"VALORACIÓN DE LA INFECCIÓN GENITAL POR *Chlamydia trachomatis* EN HOMBRES CON DIAGNÓSTICO DE INFERTILIDAD"**, solo con fines educativos y científicos



Prof. Henry De Freitas
TUTOR



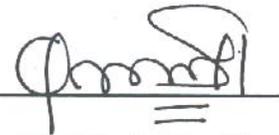
Carmen M. Rivas V.
AUTOR 1



Licdo. Pedro Hernández
COASESOR



Licda Patricia Cruces
JURADO 1



Dra. Maribel Morillo
JURADO 2

POR LA SUBCOMISIÓN DE TESIS:



Prof. Elsa Salazar