

**DETERMINACION DE ANTICUERPOS ANTICHLAMYDIA
TRACHOMATIS ISOTIPO IgG EN MUJERES CON
ANTECEDENTE DE INFERTILIDAD**

LINA ALEJANDRA CRUZ GOMEZ

**TRABAJO DE GRADO
Presentado como requisito parcial para optar el título de
BACTERIOLOGA**

**POTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
CARRERA DE BACTERIOLOGÍA**

Santafé de Bogotá, D.C.

Mayo 30 de 2001

**DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTICHLAMYDIA
TRACHOMATIS ISOTIPO IgG EN MUJERES CON ANTECEDENTE
DE INFERTILIDAD**

LINA ALEJANDRA CRUZ GOMEZ

DR. CARLOS CORREDOR
Decano académico

DRA. AURA ROSA MANASCERO
Directora carrera Bacteriología

**DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTICHLAMYDIA
TRACHOMATIS ISOTIPO IgG EN MUJERES CON ANTECEDENTE
DE INFERTILIDAD**

DRA LUZ AMPARO MALDONADO
DIRECTORA

DRA MARCELA MERCADO
CODIRECTORA

DR. OSCAR LOMBANA
ASESOR

DRA ROSA LIGIA CEPEDA
ASESORA

DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTICHLAMYDIA

TRACHOMATIS ISOTIPO IgG EN MUJERES CON

ANTECEDENTE DE INFERTILIDAD

NOTA

La Pontificia Universidad Javeriana no se hace responsable por los conceptos emitidos en el siguiente trabajo de grado.

Dedicada a Dios por otorgarme el don de la vida
a mis padres, a quien les debo todo lo que soy.
a mis hermanos por su apoyo
a ti por acompañarme y complementar mi existencia
a mis maestros por sus buenas enseñanzas
a mis compañeros por su amistad

AGRADECIMIENTOS

A la doctora Luz Amparo Maldonado, quien con su sabia orientación me guió en la realización de este trabajo de grado.

Al doctor Oscar Lombana por su dedicación y ayuda en el enfoque para la ejecución y práctica de este trabajo.

A la doctora Marcela Mercado quien me asesoró en la parte epidemiológica, dejando un aporte estadísticamente significativo para futuras investigaciones.

A la clínica Gestar y sus colaboradores quienes me facilitaron sus instalaciones y equipo ayudando a la realización de este trabajo.

A la clínica Gestar y el Hospital San Ignacio por colaborar en el suministro de pacientes y la recolección de datos útiles para un correcto análisis estadístico.

A la doctora Rosa Ligia Cepeda por su asesoramiento en el manejo del KIT para el procesamiento de las muestras.

A ORGENICS LTD por otorgarnos los reactivos necesarios para el desarrollo de las muestras.

TABLA DE CONTENIDO

| | | |
|---|----|----------|
| RESUMEN | | 1 |
| 1. INTRODUCCIÓN | 3 | |
| 2. MARCO TEÓRICO | 6 | |
| 2.1. <i>APARATO REPRODUCTOR FEMENINO</i> | 6 | |
| 2.1.1. Histología de la trompa de Falopio | 13 | |
| 2.1.2. Ovulación | | 14 |
| 2.1.3. Transporte del espermatozoide | 15 | |
| 2.1.4. El proceso de fecundación | 17 | |
| 2.1.5. Interacción entre gametos | | 19 |
| 2.2 . <i>LA INFERTILIDAD</i> | 21 | |
| 2.2.1. Clasificación | | 21 |
| 2.2.2. Aspectos generales de la infertilidad | 22 | |
| 2.2.3. Epidemiología de la infertilidad | 23 | |
| 2.2.4. Prevalencia | | 24 |
| 2.2.5. Incidencia | | 25 |
| 2.2.6. Factores de riesgo para la infertilidad | 25 | |
| 2.2.7. Causad de infertilidad femenina | | 28 |
| 2.2.8. Tipos de infertilidad | 35 | |
| 2.2.9. Técnicas actuales de tratamiento | 39 | |
| 2.2.10. Estudio de la pareja infértil | 44 | |
| 2.3 . <i>ENFERMEDAD PÉLVICA INFLAMATORIA</i> | 45 | |
| 2.3.1. Epidemiología | 46 | |
| 2.3.2. Factores de riesgo | | 47 |
| 2.3.3. Etiología y acción patógena | 49 | |
| 2.3.4. Factores facilitadores del ascenso de la infección | 50 | |
| 2.3.5. Diagnóstico | | 52 |
| 2.4 . <i>INFERTILIDAD POR FACTOR TUBÁRICO</i> | 54 | |
| 2.4.1. Causas de patología tubárica | 57 | |

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 2.4.2. | Diagnóstico | 60 |
| 2.5 . | <i>CHLAMYDIA TRACHOMATIS</i> | 64 |
| 2.5.1 | Reseña histórica | 65 |
| 2.5.2 | Clasificación | 66 |
| 2.5.3 | Interacción de Chlamydia con las células | 67 |
| 2.5.4 | Propiedades moleculares y metabólicas | 68 |
| 2.5.5 | Ciclo biológico de la Chlamydia | 69 |
| 2.5.6 | Ciclo de desarrollo intracelular | 71 |
| 2.5.7 | Genética | 72 |
| 2.5.8 | Estructura antigénica | 73 |
| 2.5.9 | Factores de virulencia Chlamydia Trachomatis | 74 |
| 2.5.10 | Eventos inmunológicos de la Chlamydia Trachomatis | 75 |
| 2.5.11 | Prevalencia y acción patógena | 77 |
| 2.5.12 | Diagnóstico y tratamiento | 79 |
| 3. | FORMULACIÓN DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN | 81 |
| 4. | OBJETIVOS | 85 |
| 4.1. | <i>OBJETIVO GENERAL</i> | 85 |
| 4.2 . | <i>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</i> | 85 |
| 5. | MATERIALES Y MÉTODOS | 87 |
| 5.1. | <i>DISEÑO</i> | 87 |
| 5.2 . | <i>VARIABLES</i> | 87 |
| 5.3 . | <i>FORMULACIÓN</i> | 89 |
| 5.4 . | <i>POBLACIÓN</i> | 89 |
| 5.4.1. | Población de referencia | 89 |
| 5.4.2. | Población blanco | 89 |
| 5.4.3. | Población de estudio | 89 |
| 5.5 . | <i>RECLUTAMIENTO DE SUJETOS</i> | 91 |
| 5.6 . | <i>METODOLOGÍA</i> | 92 |
| 5.6.1 | Principios del test | 92 |

| | | |
|-----------|---|-----|
| 5.6.2 | Contenido del kit | 94 |
| 5.6.3 | Seguridad y precauciones | 96 |
| 5.6.4 | Almacenamiento de los reactivos | 97 |
| 5.6.5 | Procedimiento de la prueba | 98 |
| 5.6.6 | Instrucciones para la prueba | 98 |
| 5.6.7 | Resultados de la prueba | 101 |
| 5.6.8 | Interpretación cuantitativa de los resultados | 102 |
| 5.6.9 | Limitaciones | 105 |
| 5.6.10 | Sistema analítico | 105 |
| 5.7 | <i>RECOLECCIÓN DE DATOS</i> | 106 |
| 5.7.1 | Objetivos de la encuesta | 106 |
| 6. | RESULTADOS | 107 |
| 7. | DISCUSIÓN | 115 |
| 8. | CONCLUSIONES | 118 |
| 9. | RECOMENDACIONES | 119 |
| | BIBLIOGRAFÍA | 120 |
| | ANEXOS | 126 |

RESUMEN

En las mujeres, la mayoría de las infecciones causadas por *Chlamydia trachomatis* cursan de manera totalmente asintomática o a lo sumo con un cuadro inespecífico, que muchas veces hace imposible el diagnóstico clínico sin la ayuda del laboratorio. Pero este comportamiento “silente” contrasta con la gran cantidad de complicaciones a las que puede dar lugar y con la importancia de las mismas. Así, representa la primera causa de Enfermedad Pélvica Inflamatoria y por ello de esterilidad de origen tubárico, estimándose que hasta un 75% de las infertilidades de este tipo tendrían su origen en una infección desapercibida en el pasado por *Chlamydia trachomatis*.

Chlamydia trachomatis es actualmente el patógeno mas prevalente de los causantes de enfermedades de transmisión sexual en países desarrollados, alcanzando en ellos proporciones epidémicas y estimándose que en algunos un tercio de la población joven pueden tener una o más infecciones por dicho germen a lo largo de su vida. Un ejemplo de ello es Estados Unidos donde es responsable cada año de aproximadamente cuatro millones de infecciones nuevas.

La bacteria asciende por el tracto genital colonizando el endometrio y posteriormente la mucosa de las trompas de Falopio causando oclusiones tubáricas lo que puede conllevar a la infertilidad.

El estudio presentado se realizó en 40 mujeres entre 22 y 40 años, con diagnóstico de infertilidad, que no habían concebido después de 12 meses de no utilizar ningún método anticonceptivo y en 40 mujeres entre 22 y 40 años que habían tenido uno o más embarazos espontáneos a término o que se encontraban en embarazo al momento del estudio y que no tenían antecedentes de patología relacionada con *Chlamydia trachomatis* como controles; las muestras fueron obtenidas entre mayo y agosto del 2001 de la clínica Gestar y del Hospital San Ignacio respectivamente.

Para el procesamiento de las muestras se utilizó la técnica del ensayo inmunoenzimático de fase sólida de la casa comercial Orgenics, la cual tiene como principio la detección serológica de anticuerpos isotipo IgG contra *Chlamydia trachomatis*.

En los resultados se encontró que 21 de 40 casos y 15 de 40 controles dieron resultados positivos para la determinación de anticuerpos anti-*Chlamydia trachomatis*. Concluyendo que aunque los resultados obtenidos muestran que las mujeres infértiles tienen un porcentaje mayor de positividad para anticuerpos Anti-*Chlamydia trachomatis* isotipo IgG con relación a las mujeres fértiles, no se encuentra una asociación estadísticamente significativa para corroborar la relación existente entre *Chlamydia* e infertilidad. Dicha relación se puede verificar realizando un estudio similar pero utilizando una muestra mayor.

1. INTRODUCCIÓN

Las cuatro enfermedades de transmisión sexual (ETS) más importantes, sin contar el SIDA, afectan cada año a 333 millones de personas. La sífilis, la gonorrea, la tricomoniasis y las infecciones por *Chlamydia* atacan anualmente a casi tantas personas como el paludismo o las enfermedades respiratorias agudas, aunque pocas veces son mortales. Aun así, suelen acarrear complicaciones neurológicas, malestar y riesgos de infertilidad, así como infecciones en los recién nacidos. (Infomundi, 1997)

La bacteria "*Chlamydia trachomatis*" es una de las culpables de la complicación más común por transmisión sexual en mujeres: la Enfermedad Pélvica Inflamatoria (EPI), una patología que puede llegar a provocar la infertilidad de la paciente.

La EPI es una complicación del endometrio, de las trompas de Falopio y de las estructuras vecinas, que afecta a un 10% de las mujeres en edad reproductiva, especialmente a las adolescentes y mujeres sexualmente activas entre 20 y 25 años. La mayoría de las mujeres que están infectadas por esta bacteria

desconocen los síntomas ya que son mínimos o inexistentes. En el 20% de las pacientes infectadas, la infección por "*Chlamydia* " evoluciona hasta la enfermedad inflamatoria y puede ser detectada por el médico. Cuando se desarrolla la enfermedad, la bacteria pasa del útero a las trompas de Falopio y allí se instala ocasionando daños que son mayores cuanto más tiempo permanezca. Esta infección puede acabar convirtiendo las trompas de Falopio en una maraña de cicatrices que son el origen de todas las complicaciones, a menudo irreversibles y hasta fatales; que pueden provocar la enfermedad: dolor crónico de pelvis, embarazos extrauterinos e infertilidad. (Perazic, 2000)

La detección y el tratamiento de esta bacteria en las pacientes de mayor riesgo reducirían la incidencia de la enfermedad pélvica inflamatoria en un 60%, siendo lo mejor que las mujeres y adolescentes fueran chequeadas casi rutinariamente; pero esto es imposible debido a los altos costos de las pruebas.

Una solución posible sería que se dirija sólo a las mujeres de mayor riesgo: las menores de 25 años y especialmente las adolescentes; las mayores de 25 años se pueden chequear si su comportamiento sexual las coloca en el grupo de riesgo, por ejemplo, si han cambiado de pareja o han tenido múltiples en los últimos tres meses.

En Colombia todavía no se han realizado estudios que soporten la implementación de programas para reducir la incidencia de infección genital por *Clamydia*, tampoco se han realizado estudios profundos para detectar estos casos, y los datos que se conocen aparte de ser muy globales no están

actualizados; así, el último reporte conocido es de 1997 en el que se presentaron por consulta externa 16 casos de tracoma; 4319 casos de enfermedades inflamatorias del ovario y de las trompas; 368 casos de enfermedades inflamatorias del útero; 1114 casos de trastornos inflamatorios en el útero, las trompas y los ovarios y por ingreso hospitalario fueron reportados 137 casos de tracoma; 2341 casos de enfermedades inflamatorias del ovario y de las trompas; 547 casos de enfermedades inflamatorias del útero y 1131 casos de trastornos inflamatorios del útero, las trompas y los ovarios. A pesar de ser la infertilidad una complicación frecuente y de gran magnitud, además estudiada en otros países los cuales reconocen la gran dimensión del problema; en el nuestro no existen reportes del Ministerio de Salud que muestren la incidencia y frecuencia de esta patología. (Min Salud, 1997)

En la actualidad, sería posible, partiendo de este estudio la instauración de políticas para prevenir la infección por *Chlamydia* y sus graves complicaciones. Se podría establecer un servicio de diagnóstico nacional que incluya pruebas para mujeres de alto riesgo, mujeres embarazadas, planificación familiar, educación a la población y tratamiento eficaz a los pacientes que tengan esta infección.

Con los anteriores antecedentes se hace necesario en nuestro país un plan para asociar la positividad de la *Chlamydia* con graves y frecuentes patologías que ocurren en nuestro medio.

2. MARCO TEORICO

2.1 APARATO REPRODUCTOR FEMENINO

El aparato genital de la mujer, se encuentra situado dentro de la excavación pelviana, consta de los siguientes órganos: ovarios, trompas uterinas (formaciones pares), útero y vagina (formaciones impares); los externos se designan con el nombre de vulva. Los ovarios, trompas y útero se hallan en la cavidad pélvica; la vagina está situada en parte de aquélla y en parte del perineo, y la vulva, por delante y abajo del pubis.

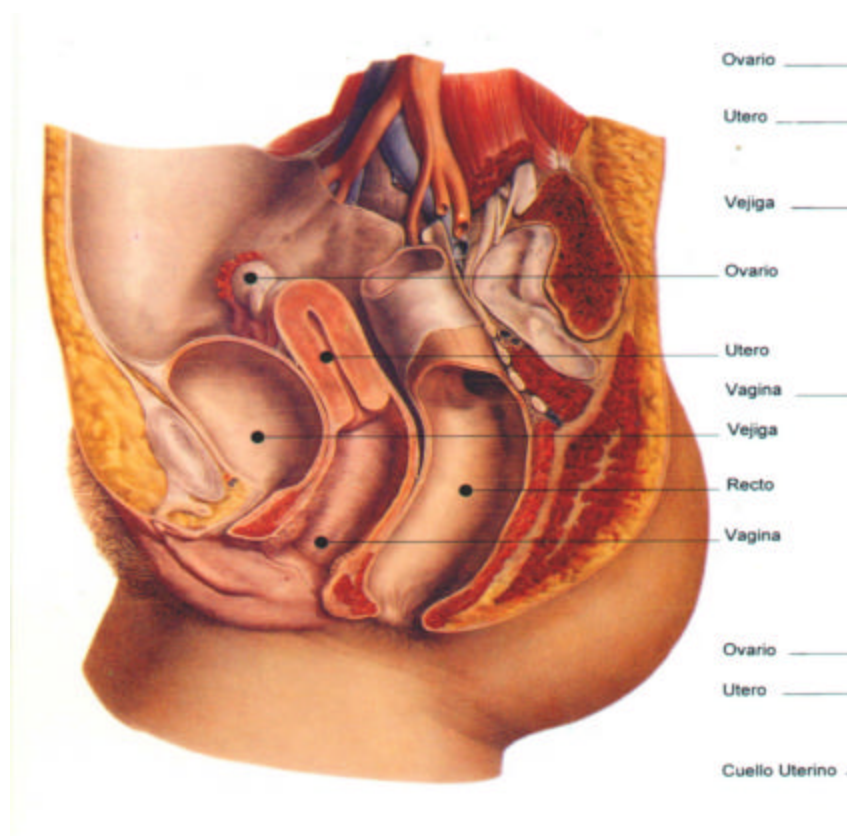


figura 1: LATERAL APARATO REPRODCTOR FEMENINO

Los ovarios son los órganos esenciales del aparato genital femenino. De forma comparable a una almendra, son cuerpos ovoides, sólidos y se encuentran alojados en las fosas ováricas situadas en la pared lateral de la pelvis y limitadas por el uréter y los vasos iliacos externos, miden 3 cm en su diámetro mayor, 2cm en su diámetro menor y 1cm de espesor; la extremidad externa está cubierta por la trompa uterina, la interna, va unida al útero por un ligamento.

Están formados por la sustancia medular, integrada por vasos, fibras conjuntivas y musculares y la sustancia cortical, que envuelve completamente la medular. En aquélla se encuentran los elementos esenciales del ovario, los folículos de De Graaf, en diversos estadios de desarrollo, que contienen el óvulo.

Por encima de la sustancia cortical se extiende una capa epitelial. Además en el ovario existen células especializadas en la producción de hormonas sexuales (glándula intersticial.) La superficie del ovario es de color blanca nacarada debido a la capa albugínea superficial; debajo se puede apreciar distintas estructuras de la evolución de los folículos que se desarrollan en su zona cortical, como quistes de retención, folículos o cuerpos amarillos. (Bachs, 1994).

Las trompas uterinas o de Falopio son dos conductos extendidos transversalmente, desde la extremidad externa del ovario hasta la parte superior del útero. Miden de 8 a 12 cm. El extremo externo, que corresponde a la cercanía con el ovario, adopta la forma de un embudo incurvado, y la circunferencia de su abertura aparece festoneada por unas franjas dentelladas con aspecto de corola, la fimbria, en cuyo centro se sitúa un orificio (orificio abdominal), que se abre,

cerca del ovario, en plena cavidad peritoneal; la franja más larga se adhiere como ligamento al ovario. Al pabellón le sigue el cuerpo de la trompa, que se estrecha progresivamente hasta llegar al útero, cuya pared atraviesa para desembocar en su interior (orificio uterino). Internamente presenta unos pliegues longitudinales que se extienden entre ambos orificios.

La mucosa de la trompa está provista de un epitelio secretor y ciliado que contribuye a la nutrición y al transporte del óvulo hacia la cavidad uterina; de igual modo provee el medio adecuado para el avance del espermatozoide y la fecundación del óvulo. Por la época de la ovulación se produce un aumento de la movilidad de las fibras musculares de su pared para facilitar el avance del óvulo. Desde el punto de vista de la estructura, la trompa de Falopio se compone de tres túnicas superpuestas: una túnica externa o serosa, una a túnica media o muscular y una túnica interna o mucosa. (Botero,1999)

El útero o matriz es un órgano muscular, hueco, periforme, aplanado de delante atrás, con el polo más abultado dirigido hacia arriba. Ocupa la parte media de la cavidad pélvica, entre la vejiga y el recto, y su dirección es oblicua de arriba abajo y de delante atrás; lo forman un cuerpo y un cuello, separados por un estrechamiento (istmo). El cuerpo tiene una extremidad superior (fondo del útero) y otra inferior que se prolonga con el cuello (cervix), alrededor del cual se inserta al orificio superior la vagina.

Interiormente el útero presenta una cavidad amplia en el fondo (en donde se hallan los orificios de la desembocadura de las trompas), más estrecha hacía el istmo, en donde se halla el orificio interno del cuello.

Tiene el útero tres tunicas: dependencia del peritoneo; muscular, constituida por fibras lisas (músculo uterino), dispuestas en tres capas de fibras longitudinales, transversales y entrecruzadas (capa plexiforme) y, finalmente la mucosa (endometrio), que reviste toda la superficie interna del órgano.

Los ligamentos del útero se dividen en laterales, anteriores y posteriores. Los primeros están formados por hojas peritoneales que cubren el útero por sus dos caras y al llegar a cada uno de los bordes se sueldan y forman sendos tabiques (ligamentos anchos derecho e izquierdo que van a implantarse en las paredes laterales de la pelvis). Los ligamentos anteriores son dos cordones fibrosos (ligamentos redondos derecho e izquierdo) que, desde la parte superior y lateral del útero, y bajo los ligamentos anchos, describen una curva, penetran por su orificio interno en el conducto inguinal respectivo y, al salir, se desflecan en unos filamentos que se pierden bajo los tegumentos del pubis.

El útero en reposo tiene una pared con espesor aproximado de 15 mm, constituida principalmente por tejido muscular liso conocido como miometrio. La cavidad del cuerpo está recubierta por una membrana glandular llamada endometrio, especializada para recibir el óvulo fecundado y facilitar su implantación y desarrollo. (Estrada, 1994)

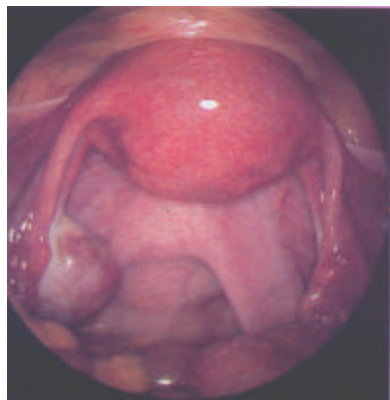


Figura 2: LAPAROSCOPIA DE UN ÚTERO

El cervix es una compuerta biológica que se abre en los días preovulatorios del ciclo menstrual y produce un moco (MC) de características físico-químicas especiales para permitir la penetración espermática. Su endocervix contiene más de 20.000 criptas, cada una con más de 100.000 células productoras de MC. Estas funcionan bajo el estímulo de los estrógenos producidos con concentraciones crecientes por los folículos preovulatorios maduros.

El MC es un hidrogel compuesto por glicoproteínas. Agua (95%) y sales solubles de sodio, cloro y magnesio. Las glicoproteínas están integradas por cadenas de carbohidratos ricas en Galactosa, Ácido siálico, Glucosamina, Galactosamina, Fucosa y núcleos polipeptídicos ricos en Treonina, Serina, Prolina y Alanina. Preovulatoriamente forman redes longitudinales unidas por puentes peptídicos y de oligosacáridos a manera de malla que permiten la fácil penetración de los espermatozoides.

Las dos funciones importantes del MC son:

- Penetración espermática.
- Reservorio de espermatozoides en las criptas para permitir la emisión constante en los días siguientes.

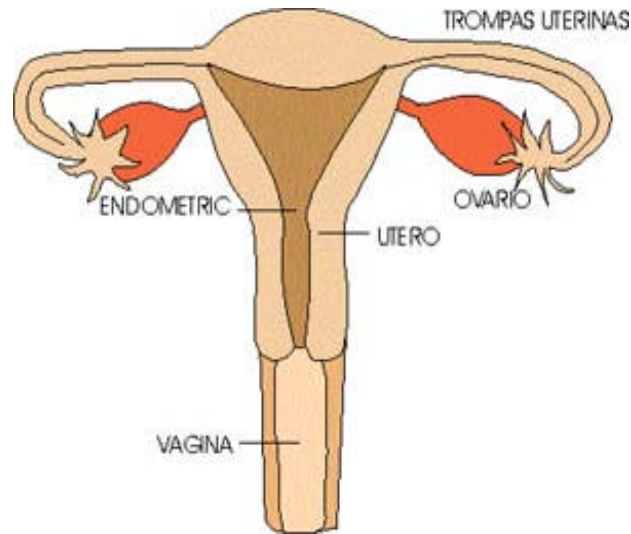
Inmunoglobulinas de los tipos IgS, IgG, IgM e IgA también están presentes en el moco cervical.

El cuello se cierra después de la ovulación y el MC disminuye sus concentraciones de agua y sales causando el recogimiento de las cadenas de glicoproteínas y sus enlaces, formando una esponja distorsionada que impide la penetración espermática.

La vagina es un conducto cilíndrico músculo-membranoso muy extensible; su orificio superior abraza el cuello uterino y el inferior se abre en la vulva, su dirección es oblicua de arriba abajo y de atrás adelante. Se halla entre la uretra, por delante, y el recto, por detrás; su superficie interna está surcada por pliegues transversales.

La vulva es el conjunto de los órganos genitales femeninos externos, forman parte de ella, externamente, los labios mayores, pliegues tegumentarios prolongados, dirigidos de delante atrás, la conjunción de los cuales delimita una hendidura alargada. Si se separan los labios mayores quedan al descubierto los labios menores, pliegues cutáneos más pequeños que, a su vez, cubren un espacio (vestíbulo) en el que desembocan la uretra y la vagina. En el vértice del vestíbulo se sitúa un órgano medio, el clítoris, compuesto por dos pequeños cuerpos cavernosos fijados por su parte posterior a las ramas isquiopubianas. Bajo los labios menores existe otra formación eréctil (bulbos vaginales).

Gráfica No 1. Aparato reproductor femenino



2.1.1 Histología de la trompa de Falopio

La pared de la trompa de Falopio tiene tres capas: una mucosa, una muscular y una serosa adventicia.

Mucosa: El epitelio está formado por una sola capa de células cilíndricas. Las hay de dos tipos, ciliadas y secretoras, que se alternan irregularmente. Sus alturas absolutas y relativas varían según las fases del ciclo menstrual, empezando poco después de la menstruación, las dos aumentan de tamaño y al tiempo de la ovulación ambas tienen unas 30 micras de altura. Después las células ciliadas se hacen mucho más cortas, y las secretorias, aunque también se acortan, se proyectan entre las ciliadas en la luz de la trompa, con lo que la superficie epitelial de está se torna irregular. (Estrada, 1994)

Revestimiento muscular: Tiene dos capas, una interna de fibras musculares lisas dispuestas circularmente o en forma más o menos espiral y una capa externa de fibras dispuestas longitudinalmente. La línea de separación entre las dos capas musculares no es muy definida. La capa interna de fibras circulares es más gruesa en la porción intramural de la trompa, en la época de la ovulación los movimientos peristálticos de la musculatura aumentan. (Ham,1985). La capa serosa posee una estructura histológica típica.

El epitelio de las trompas de Falopio expresa productos MHC clase II, en este normalmente no se presentan acumulación de células linfoides o monocíticas, solamente cuando se presenta una infección como la salpingitis aguda es que abundan los granulocitos, linfocitos y células plasmáticas.

2.1.2 Ovulación

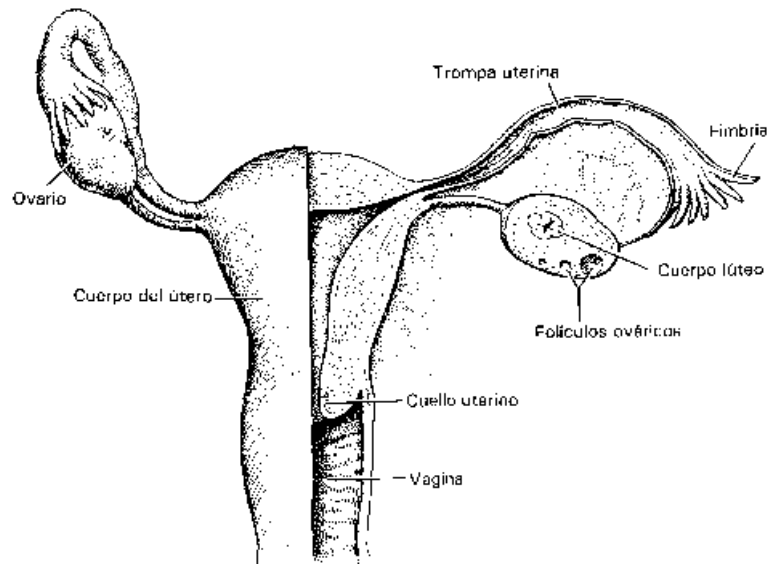
La ovulación o expulsión del ovocito del folículo ovárico es consecuencia de una serie de eventos morfológicos y hormonales. Este complejo fenómeno está regulado por mecanismos paracrinos y endocrinos.

La ruptura folicular es iniciada por el pico de LH que ocurre hacia la mitad del ciclo ovárico, aunque también puede ser inducida por la HCG.

Enzimas secretadas por las células foliculares que rodean al ovocito lo liberan dentro del líquido folicular. En la pared folicular se acumulan macrófagos y neutrófilos, varias moléculas son liberadas en este proceso hacia la trompa de

Falopio, pero conserva una capa de células conocida como cúmulo. (Ham, 1985)

Grafica No 2. Ovulación



En este momento el núcleo del ovocito secundario inicia la segunda división meiótica, pero normalmente sólo la completará si es penetrado por un espermatozoide, durante la fecundación. Si ocurre la fecundación, se destruirá el segundo corpúsculo polar y el ovocito maduro conservará 23 cromosomas de estructura sencilla. (Botero, 1999)

Después de la ovulación las células foliculares que quedan en la pared del folículo abierto son vascularizadas por los vasos que las rodean y bajo el influjo de la LH se convierten en una estructura glandular conocida como Cuerpo Lúteo, el cual secreta progesterona y estradiol. La producción luteal de estrógenos y progesterona es esencial para el desarrollo y maduración del endometrio, como preparación para la implantación del embrión.

Después de la ovulación las células de la granulosa y la teca que han quedado en el folículo comienzan su transformación para convertirse en células luteales productoras de progesterona. (Speroff, 1999)

2.1.3 Transporte del espermatozoide

Usualmente, durante la relación sexual, en la vagina son depositados de 50 a 500 millones de espermatozoides, estos pasan rápidamente de la vagina al cuello uterino y de allí a las trompas de Falopio, donde solo llegan unos cientos de espermatozoides.

El paso de espermatozoides a través del moco cervical permite la selección de las formas normales con una motilidad apropiada, la concentración y la velocidad espermática son factores importantes en este ascenso, aunque también participa la actividad molecular del cérvix y el útero. (Bótero, 1999)

Capacitación: Tal y como son eyaculados, los espermatozoides no poseen la capacidad de fertilizar. La capacitación ocurre fisiológicamente en el tracto reproductivo femenino, y consiste en una modificación de la superficie espermática. Durante este proceso se reestructuran las glicoproteínas intramembrana, se pierde colesterol y se cambia la distribución y composición de algunos fosfolípidos. In vivo la capacitación facilita al espermatozoide pasar a través de las células del cúmulo que rodean al ovocito. Este proceso permite que los espermatozoides tengan un movimiento hiperactivo y puedan realizar la reacción acrosómica.

Reacción acrosómica: Es un paso crucial durante la interacción de los gametos, permite al espermatozoide penetrar la zona pelúcida y fusionarse con la

membrana del ovocito. Consiste básicamente en un proceso de secreción del contenido acrosomal, durante el cual se forman poros al fusionarse la membrana plasmática que cubre al acrosoma y la membrana externa de acrosoma, básicamente acrosina y hialuronidasa.

La presencia del calcio extracelular es un prerequisite para que tenga lugar la reacción acrosómica. (Speroff, 1999)

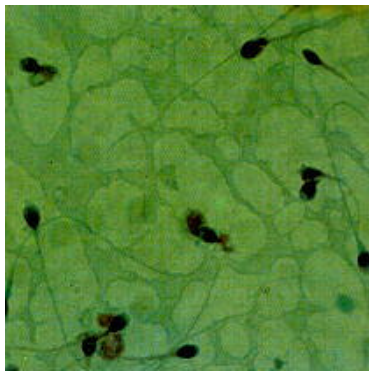


Figura 3: ESPERMATOZOIDES EN MOVIMIENTO

2.1.4 El proceso de fecundación

La fecundación es una secuencia de eventos que inicia con el contacto entre un espermatozoide y un ovocito y finaliza con la formación de una nueva célula: el cigoto, que reúne información genética proveniente de ambos gametos. Este proceso tiene lugar normalmente en la porción ampular de la trompa de Falopio. El camino que ha de recorrer el gameto masculino para encontrar el óvulo es de unos 8 o 9 cm. (Botero, 1999)

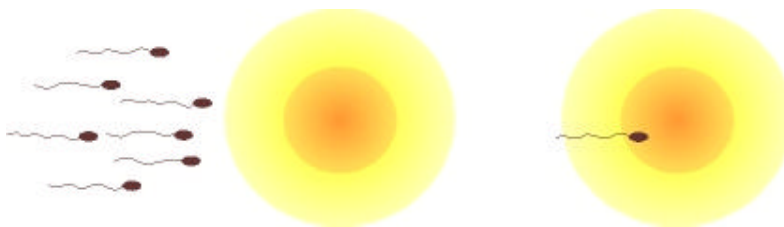
Los hechos ocurren de la siguiente manera: un cierto número de espermatozoides rodean el óvulo que ha salido de la superficie ovárica, y nadan

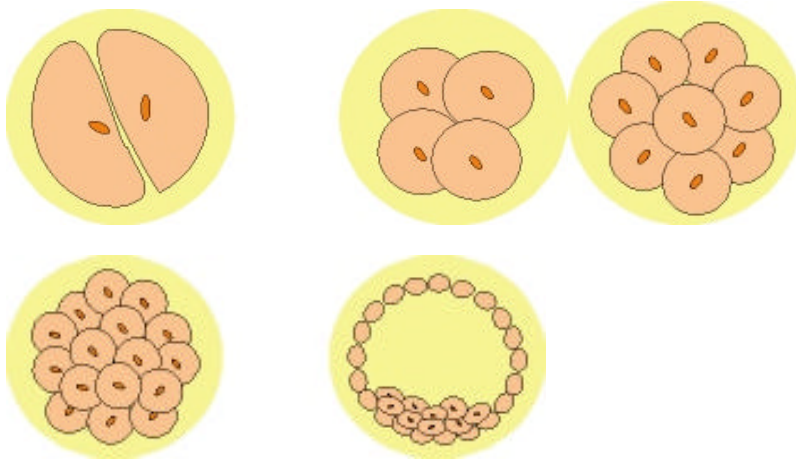
en el líquido perivitelino. El protoplasma (vitelo) del óvulo emite hacia fuera una elevación, cono de atracción o montículo de concepción, y la cabeza de un espermatozoide se adhiere a él, lo penetra y se separa de su cola, que queda en el líquido perivitelino, donde acaba por desaparecer. Inmediatamente aparece por fuera del vitelo una membrana que evita una nueva penetración de espermatozoides. El núcleo espermático, que ahora llamaremos pronúcleo masculino, con el centrosoma, se encamina hacia el núcleo ovular, o pronúcleo femenino, que ya ha soltado los glóbulos polares y se fusionan quedando la célula con un solo núcleo, el núcleo de segmentación, y cambiando el óvulo fecundado. A partir de esta fase, en el huevo se producen todos los fenómenos que acompañan una división mitótica; el núcleo del huevo se divide en dos y lo mismo el protoplasma, y quedan formadas dos células o blastómeros, los que originan, por divisiones mitóticas sucesivas, un nuevo individuo.

Para que se lleve a cabo este proceso la fimbria de la trompa uterina se une a la superficie del ovario sufriendo contracciones rítmicas, con esto, se crea una corriente de fibrina que se dirige hacia el interior de la trompa, ayudando a que el ovocito rodeado de células de la granulosa después de la ovulación, penetre a su luz. En el mecanismo de transporte del óvulo intervienen principalmente tres factores: las contracciones de la musculatura de la trompa, los movimientos de las ciliadas de las células del epitelio tubárico y la secreción de las células secretoras. (Botero, 1999). Las contracciones de la musculatura tubárica se inician en distintos niveles de la trompa, se propagan habitualmente hacia el útero en corto espacio, son más intensas y regulares en el istmo que en la ampolla. Las

contracciones tubáricas se estimulan por las contracciones de las fibras musculares lisas que están unidas a la fimbria, a la ampolla y al ovario; son mas intensas en el momento de la ovulación. Las células ciliadas del epitelio tubárico desempeñan un papel importante en el transporte del óvulo. Los cilios crean un movimiento rítmico en un solo sentido dirigido hacia el útero. (Speroff,1999). Las secreciones de las células secretoras del epitelio tubárico suspenden al óvulo y estimulan las contracciones peristálticas. Luego, el transporte del ovocito se retarda un tiempo prudencial en la unión ampolla-istmo permitiendo así la posible llegada de los espermatozoides y la preparación del endometrio para una futura implantación. Durante la migración el huevo experimenta un proceso de desarrollo y segmentación llegando a la cavidad uterina en estado de mórula (poco mas de 12 células), la velocidad de esta migración para que se produzca la implantación en el endometrio depende del diámetro de la luz de la trompa, espesor de la musculatura, numero de cilios, y abundancia de la secreción. La viabilidad del ovocito sólo retiene su capacidad de fertilización por un máximo de 24 horas luego de la ovulación; después se presentan cambios fisicoquímicos en el interior del citoplasma que causan envejecimiento y lo incapacitan para la fertilización. (Botero,1999).

Gráfica N° 3. Proceso de fecundación.





2.1.5 Interacción entre Gametos

El primer contacto entre los gametos ocurre cuando el espermatozoide se une a la zona pelúcida del ovocito. Para que esto ocurra es necesario que el espermatozoide capacitado tenga un acrosoma intacto. La unión inicial ocurre entre la glicoproteína ZP3 y la membrana celular espermática y es específica. La ZP3 induce entonces la reacción acrosómica, y la unión óvulo-espermatozoide es mantenida por interacciones entre la membrana acrosomal interna y la proteína ZP.

La penetración a través de la zona se acompaña de rápidas oscilaciones laterales del espermatozoide, y ocurre en 30 minutos aproximadamente.

Cuando entra al espacio perivitelino, se unen y fusionan las membranas plasmáticas del espermatozoide y del ovocito.

La fusión ovocito-espermatozoide es menos específica de especie, y está mediada por moléculas de adhesión como integrinas, presentes en la membrana plasmática del ovocito. La proteína de fusión o PH-30 que se localiza en el segmento postecuatorial del acrosoma es capaz de interactuar con estas moléculas de adhesión.

2.2 LA INFERTILIDAD

La infertilidad es la incapacidad de quedar embarazada y/o mantener un embarazo. Cerca del 35% de la infertilidad es el resultado de factores masculinos (incluyendo la ausencia de espermias, ó azoospermia, espermias anormales, ó teratozoospermia, o una cantidad insuficiente de espermias, u oligozoospermia). Otro 35% resulta de factores femeninos (incluyendo problemas de ovulación, trompas de Falopio obstruídas o adheridas, factores uterinos y la endometriosis). En otros casos, la infertilidad es producida por una combinación de factores masculinos y femeninos. A veces no hay explicación. Aunque sea posible que algunas parejas tomen más de 12 meses para lograr un embarazo, muchas personas buscan el tratamiento para infertilidad si no producen un embarazo después de 12 meses de tener relaciones sexuales bien programadas y sin anticoncepción.

2.2.1 Clasificación

INFERTILIDAD PRIMARIA:

Cuando nunca ha habido embarazo

INFERTILIDAD SECUNDARIA:

Cuando sí ha existido un embarazo, sin importar los resultados del mismo (aborto, ectópico , molar, prematuro o normal).

Se han determinado dos conceptos más:

- La infertilidad no explicada, es aquella que no se ha podido detectar con todos los métodos actuales, no presenta ninguna alteración ni el espermatozoide, liquido seminal, ni en el aparato reproductor masculino y femenino.
- La infertilidad idiopática, se encuentra una alteración a cualquier nivel, pero se desconoce su etiología.

2.2.2 Aspectos generales de la infertilidad

Básicamente la vida reproductiva de la mujer comienza en la menarquia y termina con la menopausia pero, demográficamente las tasas de fecundidad se miden habitualmente en términos de mujeres de 15 a 44 años, o a veces, hasta 49.

La fertilidad de la mujer varía considerablemente en los años que transcurren entre la menarquia y la menopausia. Es baja inmediatamente después de la primera y antes de la segunda, cuando los patrones hormonales suelen ser bastantes irregulares, pero estudios autorizados estiman que la vida reproductiva útil de la mujer es aproximadamente de 36 años en los países occidentales. (Belsey, 1990)

El potencial reproductivo en la mujer alcanza su pico máximo muy rápidamente después del desarrollo puberal y declina aceleradamente durante la tercera y cuarta década de la vida con una pérdida total de los ciclos ováricos alrededor de los cincuenta años. Los efectos de la edad materna en la fecundidad y la fertilidad son complejos y multifactoriales y conllevan una depleción de los depósitos de folículos ováricos, producción de oocitos defectuosos, reducción de la competencia de los órganos y sistemas requeridos para mantener una gestación exitosamente.

2.2.3 Epidemiología de la infertilidad

La importancia de la infertilidad como problema de salud puede ser analizada desde distintos puntos de vista. Las parejas infértiles con frecuencia requieren numerosos exámenes clínicos y de laboratorio, a veces sofisticados, durante un periodo de meses; la posibilidad de hallar una causa tratable es variable, pero raramente es alta. (Thonneau y Cols, 1991)

En algunos países, la infertilidad se considera un problema de pareja afectada y se piensa que es un fenómeno poco frecuente y por tanto, no sería necesario un

programa de intervención médica. Solamente cuando los niveles de infertilidad del país comienzan a declinar, es que surge algún interés en investigar si esto es voluntario o involuntario (Belsey, 1990). Por otra parte, en muchas culturas de los países en vías de desarrollo, la infertilidad se considera un problema que afecta a toda la sociedad. Esto ocurre en especial en algunas áreas de África y Oceanía, donde se está observando una despoblación progresiva como consecuencia de la alta prevalencia de la infertilidad.

La infertilidad afecta a hombres y mujeres en edad reproductiva en todo el mundo; aunque las estimaciones de su prevalencia no son muy exactas y varían de un país a otro, aproximadamente 25% de las parejas sufren de infertilidad durante su vida reproductiva (Thonneau y cols, 1991).

2.2.4 Prevalencia

Los datos sobre prevalencia de infertilidad no son muy exactos y varían de una región a otra. Se estima que la prevalencia de la infertilidad en la actualidad varía desde 3.6 hasta 14.3% y la prevalencia de infertilidad en todo el periodo reproductivo desde 12,5 hasta 32,6% (Schmidt y cols 1998). Las variaciones en los datos pueden obedecer tanto a diferencia reales en la ocurrencia de la infertilidad en una región determinada, como a definiciones distintas para medir la infertilidad. Es importante señalar que las causas mas comunes de infertilidad son evitables, entre ellas están las Enfermedades de Transmisión Sexual y las

infecciones que siguen a un parto o aborto, así como otros factores deletéreos ambientales y ocupacionales.

En 3 regiones de Francia, entre julio de 1995 y junio de 1996, se encuestó a 1686 parejas y se obtuvo una tasa de prevalencia de infertilidad de 14,1%, lo que indica que 1 de cada 7 mujeres en Francia consulta al médico por infertilidad durante su vida reproductiva (Thonneau y Cols, 1997). Según los resultados de las encuestas realizadas en Cuba, la prevalencia de la infertilidad oscila entre 12 y 14% (Gullén 1992).

Al estudiar las parejas infértiles se ha hallado que la infertilidad en 25-40% de las parejas obedece a una causa masculina, mientras que en 40-50% recae la responsabilidad en la mujer y aproximadamente en 15% se cataloga como infertilidad de causa no explicada (Templeton, 1995)

2.2.5 Incidencia

Su frecuencia es variable en diversos núcleos de población y latitudes pero se estima que de 10 a 12% de las parejas en poblaciones urbanas están afectadas por problemas de esta naturaleza.

Se habla de esterilidad o infertilidad primaria cuando nunca ha habido hijos viables, o secundaria cuando ya han existido. (Cols, 1997)

2.2.6 Factores de riesgo para la infertilidad

A nivel mundial, se puede atribuir el 38% de la infertilidad a una Enfermedad de Transmisión Sexual (ETS) anterior. Cuando se dejan sin tratamiento muchas ETS pueden presentarle al hombre y a la mujer un riesgo para la infertilidad. En la mujer, gonorrea y *Chlamydia* sin tratamiento pueden invadir el área pélvica, infectando el útero, las trompas de Falopio y los ovarios, y produciendo la Enfermedad Pélvica Inflamatoria (EPI, o PID en inglés). En el hombre, *Chlamydia* puede afectar los testículos, así produciendo problemas con la fertilidad.



Gráfica No 4. Incidencia global registrada de las infecciones de transmisión sexual, causadas por *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis*, *T. vaginalis*, según datos recientes de la Organización Mundial de la Salud

La Enfermedad Pélvica Inflamatoria (EPI) es una infección de los órganos internos de reproducción en la mujer. Por lo usual, afecta el útero, una o ambas trompas de Falopio, los ovarios, y los tejidos cercanos de la pelvis. Esos tejidos se encuentran inflamados, irritados e hinchados. EPI es causada por las ETS no

curadas, la tuberculosis, y otros tipos de bacteria y microorganismos. (Templetón, 1995)

La Enfermedad Pélvica Inflamatoria puede producir la infertilidad al formar tejido cicatrizal alrededor de los órganos pélvicos. Ese tejido cicatrizal puede causar la obstrucción y la distorsión de las trompas de Falopio, con el resultado de que el óvulo no puede pasar por el tubo y entrar en el útero. Después de un episodio de Enfermedad Pélvica Inflamatoria, la mujer tiene una probabilidad de infertilidad de 15% (estimación). Después de dos episodios, el riesgo sube a 35%. Después de tres episodios, el riesgo de infertilidad es casi 75% (Thonneau y Cols, 1997).

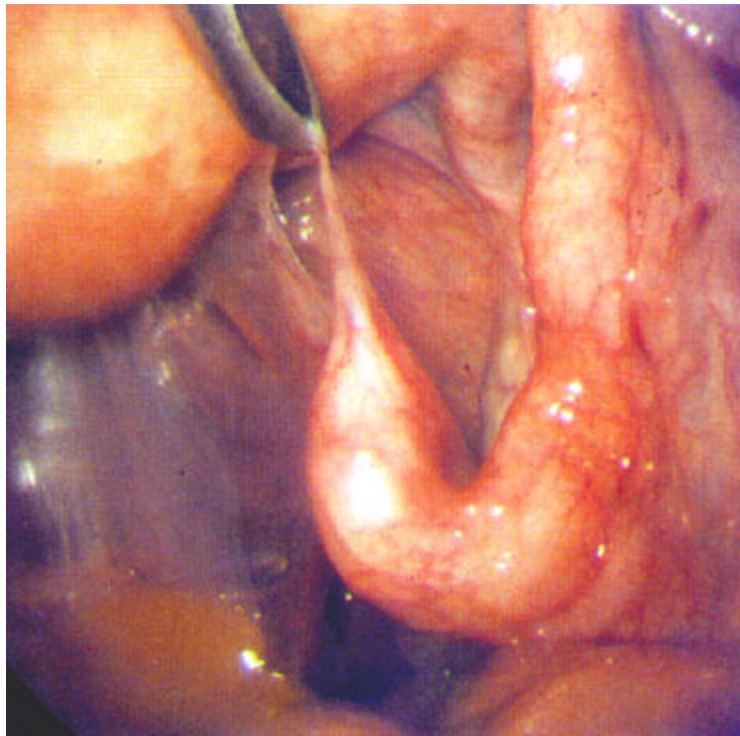


Figura 4: ADHERENCIAS EN LAS TROMPAS DE FALOPIO

Se debe sospechar de infertilidad si durante más de 12 meses la mujer ha tratado de concebir y:

- tiene más de 35 años de edad
- tiene ciclos de menstruación irregulares o una historia de infección pélvica
- su compañero tuvo un testículo no descendido al nacer, cirugía para una hernia, o una historia de infecciones del tracto genito-urinario.
- La mujer ha tenido dos o más abortos espontáneos.

2.2.7 Causas de infertilidad femenina

La ovulación generalmente tiene lugar aproximadamente en el día 14 de un ciclo de 28 días. El óvulo nada hasta el extremo final de la trompa de Falopio, la cual lo propulsa hacia el útero. En este momento el óvulo puede o no ser fertilizado e implantarse.

- Causas Generales:

Edad: Para las mujeres la década de los veinte es la más fértil. En los treinta va descendiendo paulatinamente y en los cuarenta es excepcional que logren por métodos naturales un bebe saludable a término. La tasa de embarazo por ciclo va decayendo de 30-25% , 20-15%, y 10-5% en las décadas de los 20, 30 y 40 años respectivamente.

La edad se relaciona con el envejecimiento ovárico por disminución del pool folicular, disminución de la Inhibina; disminución de los niveles basales de Estradiol (E2) y aumento de la FSH.

Métodos Anticonceptivos:

- a. DIU: Adyuvante de Enfermedad Pélvica Inflamatoria (20%) y de obstrucción tubárica proximal (5%).
- b. Las píldoras anticonceptivas y los anovulatorios de depósito pueden camuflar alteración hipotalámica, hipofisiaria y ovárica y en el 0,5% - 2% de los casos producen amenorrea-galactorrea posterior.
- c. Ligadura de trompas y vasectomía (ambos reversibles) son también motivo de consulta por deseos de más hijos en la misma o en nuevas uniones.

Enfermedades de transmisión sexual: *Gonococo*, *Chlamydia*, *Mycoplasma*, etc, producen inflamación, fibrosis, adherencias y obstrucciones en el sistema reproductor.

Estrés y malnutrición: Producen aumento de beta-endorfinas ocasionando disfunción hipotalámica.

Anemia grave

Emotivas ("hipotalámicas")

Frigidez

- Del desarrollo:

Ausencia o hipoplasia uterina

Malformaciones uterinas

Disgenesia gonadal

- Endocrinas:

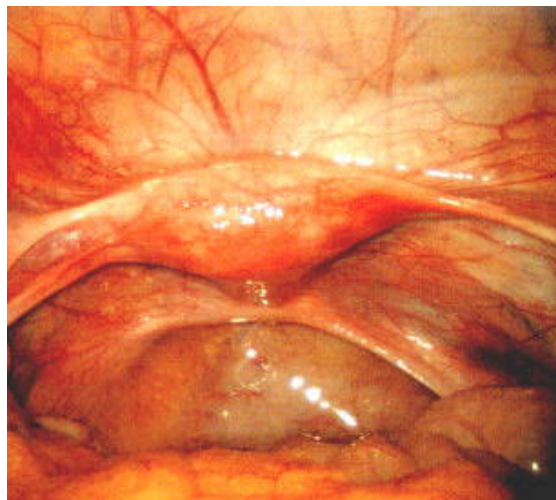


Figura 5: HIPOPLASIA

Hipopituitarismo

Hiperprolactinemia

Hiper o hipotiroidismo

Síndromes adrenogenitales

Ovario poliquístico

- Patología genital:

Inflamación pélvica. Tuberculosis

Obstrucción tubárica

Endometriosis

Miomas. Poliposis endometrial

Cervicitis. Vaginitis

- Causas mixtas:

Desajuste emocional

Errores en la sexualidad

Incompatibilidad inmunológica

Falla hipotalámica

Hiperprolactinemia

Síndrome de ovario poliquístico

Endometriosis

Daños en las trompas

Chlamydia trachomatis

Problemas emocionales.

ENDOMETRIOSIS:

Endometriosis es la presencia de implantes similares a tejido endometrial fuera de la cavidad uterina, relacionados con tres problemas clínicos: Infertilidad, dolor pélvico y metrorragias. Estos implantes ectópicos son diferentes al tejido tópico:

- a. En respuesta hormonal ya que solo tiene un 50% de receptores de estrógenos y progesterona.
- b. En apariencia visual
- c. En ultraestructura dadas las grandes diferencias por retardo en la maduración glandular ocasionadas su deficiente perfusión vascular.

Es una enfermedad con distribución sistémica pero con predilección por los órganos intrapélvicos: Común en los ligamentos uterosacros (60%), ovarios (52%), Douglas (28%), serosa uterina, vejiga, trompas, septum recto-vaginal, y sigmoide. Menos común: En la apéndice, íleo, cervix, peritoneo estrapelvico, cicatrices, periné, ombligo, pared abdominal y uréter. Rara: en la pleura, pulmón.

Se le continua llamando la enfermedad enigmática, porque aunque es un proceso proliferativo benigno, puede invadir y distorsionar o llega a destruir órganos por lo demás normales, sin que se pueda conocer la velocidad a la cual esto suceda, como tampoco el poder pronosticar la evolución natural de la enfermedad en cualquier paciente individual.

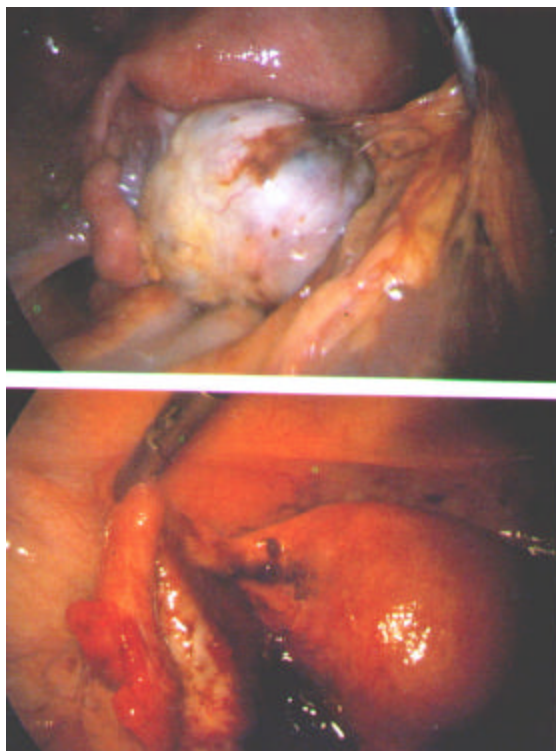


Figura 6: ENDOMETRIOSIS EN EL APARATO REPRODUCTOR FEMENINO

- Epidemiología:

La sufren el 15% (5 a 40%) de mujeres en edad reproductiva y 30% (20 a 50%) de las infértiles. Sin embargo la prevalencia cambia acorde al grupo de pacientes: se ha diagnosticado en el 5% sometidas a operaciones ginecológicas (no laparoscópicas); en el 21% de laparoscopias por infertilidad; en el 23% de laparoscopias por dolor pélvico; en el 25% de laparoscopias por hemorragia

uterina disfuncional; y hasta en el 80% de laparoscopias por infertilidad más dolor pélvico.

1. Edad: Mas frecuente entre los 25 y los 35 años.
2. Raza: Igual en todas.
3. Historia familiar: El riesgo familiar de sufrirla aumenta hasta 10 veces en familiares de primer orden, postulándose que se trata de herencia poligénica multifactorial.
4. Anomalías Anatómicas: Mas frecuente en pacientes con obstrucciones del tracto de salida del sistema reproductor.
5. Estrogenodependiente. Lo es y los estados hiperestrogénicos se han relacionado con mayor prevalencia.

Los síntomas incluyen menstruaciones muy profusas, relaciones sexuales dolorosas, dolor en la parte inferior de la espalda, diarrea, constipación y sangrado anal.

FACTOR UTERINO

La patología Orgánica Uterina que afecta los procesos reproductivos, representan básicamente un 5-10% de las causas de infertilidad; este porcentaje se ha aumentado discretamente con la necesidad práctica de estudiar rutinariamente este aspecto, lo cual se ha acrecentado con el desarrollo de las técnicas diagnósticas y quirúrgicas.

Las patologías uterinas que pueden producir alteración en la fertilidad son:

Congénitas: (malformaciones)

Adquiridas: Miomatosis Uterina, Pólipos Endometriales, Endometritis Crónica, Adherencias Intrauterinas.

Las anomalías anatómicas ginecológicas congénitas incluyen la ausencia congénita de la vagina, defectos en fusión lateral y vertical de los conductos mullerianos, y desórdenes del desarrollo sexual.

FACTOR CERVICAL

Es responsable del 5% de la infertilidad, por lo que se le da poca importancia dentro del estudio de la pareja infértil, su tratamiento es simple: Inseminación Intrauterina (IIU)

Causas del factor cervical:

- 1) Alteraciones anatómicas del cervix:
 - a. Congénitas: Estenosis cervicales, atresias y agenesias
 - b. Adquiridas: Conizaciones, traquelectomías, retracciones post-cauterizaciones, crioterapia, pólipos, miomas.
- 2) Infecciones: *Chlamydia Tracomatis*, *Mycoplasma Hominis*
- 3) Inmunológicas.
- 4) Iatrogénicas: Efecto antiestrogénico del Citrato de Clomifeno hasta en el 30% de las inducciones con esta droga.

2.2.8 Tipos de infertilidad

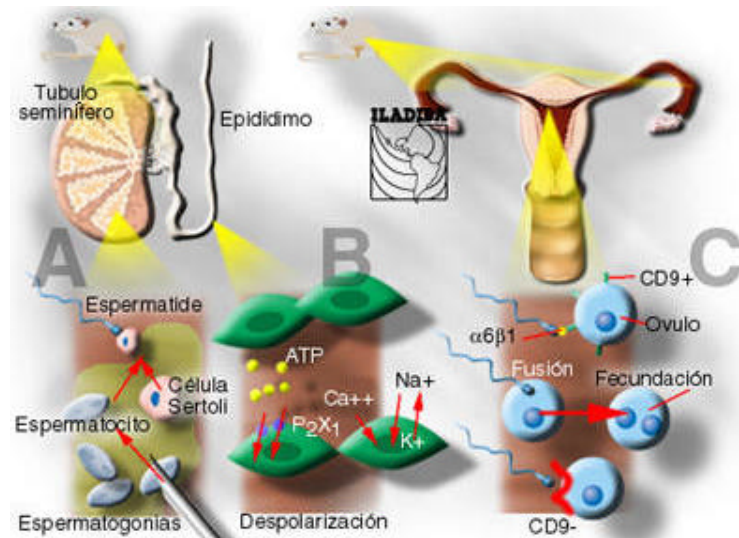
La infertilidad está definida en algunos textos especializados como la ausencia de embarazo luego de actividad sexual sin usar métodos anticonceptivos por más de

un año. Aunque al momento existen múltiples causas de infertilidad, estudios recientes al interior de las células del aparato reproductor en ratones machos y hembras aclaran o descubren mecanismos moleculares cuya falla está asociada directamente con infertilidad en unos u otras.

- Infertilidad debida a la falla de células germinales:

La gametogénesis es un proceso complejo, cuyas imperfecciones dan cuenta de 30% a 50% de todos los casos de infertilidad masculina, manifiesta por oligozoospermia o azoospermia. Por su parte, la espermatogénesis es el proceso en el cual una espermatogonia sufre mitosis y luego dos meiosis para formar espermátides. Estas últimas presentan metamorfosis hacia espermatozoides haploides, dentro de los túbulos seminíferos y sostenidas por las células de Sertoli, las cuales aportan nutrientes, soporte estructural y factores reguladores diversos.

Gráfica No 5 Infertilidad debido a las fallas de células Germinales



Muchos casos de infertilidad masculina han sido solucionados por medio de la extracción, almacenaje y posterior trasplante de espermátides en testículo. Sin embargo, Takehiko Ogawa, de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad de Pennsylvania (Estados Unidos), dirigió un trabajo de investigación para probar una nueva técnica, consistente en el trasplante de espermatogonias de un donante infértil usando como receptores testículos de dos cepas de ratones infértiles –denominadas Steel y Blanca manchada-. La cepa Steel no tiene factores celulares que controlen la proliferación de las espermatogonias; la cepa Blanca no desarrolla células germinales por ausencia del receptor para quinasa de tirosina.

Los científicos tuvieron éxito en lograr fertilidad indirecta al inyectar espermatogonias de ratón Steel en túbulos seminíferos de ratón Blanco. Los ratones Blancos tuvieron fertilidad normal.

- Infertilidad por alteración de las células del conducto deferente:

Los receptores P2X están ubicados en muchos tipos de células excitables; descubiertos originalmente en células de músculo liso de conducto deferente, son canales catiónicos que actúan como receptores de trifosfato de adenosina (ATP), siendo intermediarios en la despolarización de membrana y la contracción celular. Los receptores P2X tienen 7 subtipos, todos materia de estudio en la actualidad.

Mulryan y cols, de la Universidad de Leicester (Inglaterra) realizaron un experimento con ratones manipulados genéticamente, en los cuales era suprimido el exon 1 del gen codificador del receptor P2X₁ en miocitos del conducto deferente, lo cual llevó a su inactivación, anulando a su vez la expresión del receptor.

El estudio sugiere que la ausencia de receptor P2X₁ en las células de músculo liso del conducto deferente hace inefectiva la transmisión del impulso nervioso necesario para la eyaculación; los científicos estimaron que el receptor es mediador del 80% de la respuesta contráctil (el 20% restante estuvo relacionado con estímulo de receptores adrenérgicos α_1 dependientes de noradrenalina). Además encontraron que ratones machos que no tenían dicho receptor presentaban una proporción de infertilidad de 90% aproximadamente.

- Infertilidad a causa de oocitos defectuosos:

El receptor CD9 es una molécula de superficie celular, de la familia de las tetraspaninas (una superfamilia de proteínas), que tiene 4 dominios de transmembrana, dos porciones extracelulares y secciones cortas intracelulares de los tipos amino-terminal y carboxi-terminal. Entre sus funciones, las

tetraspaninas juegan papel en adhesión celular, motilidad y transducción de señales, entre otras.

Científicos del Instituto Nacional de Salud y de Investigación Médica en Villejuif (Francia), y del Instituto de Ciencias de la Vida de la Universidad de Kurume (Japón) obtuvieron, en el marco de trabajos experimentales diferentes, ratones modificados genéticamente para que no expresaran el receptor CD9.

Los investigadores franceses encontraron una reducción de la fertilidad en ratones hembras de 50%-60%, debido a la falta del receptor en oocitos, los cuales no pudieron fusionarse con espermatozoides. Al parecer, el proceso de fusión involucra las integrinas $\alpha3\beta1$ y $\alpha6\beta1$, que funcionarían como transductores para el receptor CD9.

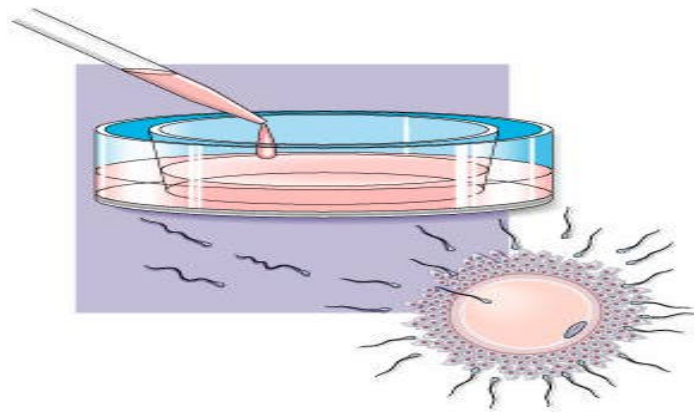
Los investigadores japoneses, por su parte, encontraron que el número de crías nacidas de ratones hembras que carecían del receptor CD9 era 2% del normal, y que la proporción de fusión espermatozoide-oocito pasó de 98% a 4% y de 100% a 21%, a los 60 y 360 minutos posteriores a inseminación, respectivamente.

En ambos estudios, la ausencia del receptor CD9 no afectó los ratones machos, al menos en su fenotipo, y tuvieron fertilidad normal al ser apareados con ratones hembras sanas.

2.2.9 Técnicas actuales de tratamiento

Los intentos de muchas parejas para tratar la fertilidad chocan con un fracaso que depende del diagnóstico previo (causas), del tratamiento a realizar y de las limitaciones propias de la técnica. Por ello deben conocerse bien las causas en cada caso y tener claro la expectativa de cada tratamiento, sabiendo que el porcentaje de éxitos disminuye con la edad de la mujer y con las veces a las que se ha sometido a las técnicas de fertilización.

- Fertilización In Vitro y Transferencia Embrionaria (FIV-TE)



Grafica No 6. Proceso de fertilización In Vitro

La fertilización In Vitro con Transferencia Embrionaria, también llamada “Bebé Probeta”, es una técnica que tiene aplicación clínica muy importante en el área del tratamiento de la infertilidad, para aquellas parejas en las cuales la ocurrencia de un embarazo en forma espontánea es poco probable o imposible. Con ésta técnica de FIV-TE se tiene un horizonte de nuevas posibilidades para lograr un embarazo.

El sitio natural para el encuentro del óvulo con el espermatozoide es la trompa de Falopio; si, por cualquier motivo, la trompa no puede cumplir con su labor, se

impide la fecundación y por consiguiente el logro del embarazo. La técnica de Fertilización In Vitro consiste básicamente en inseminar el óvulo en el laboratorio con un número reducido de espermatozoides para permitir que ocurra la fecundación en unas condiciones de temperatura, humedad y nutrientes semejantes a los de la trompa de Falopio y después de iniciado el desarrollo temprano del embrión, se transfiere directamente a la cavidad uterina para que continúe con el proceso de implantación embrionaria y dé inicio a un embarazo.

(Gráfica No 6)

El tratamiento de FIV está indicado especialmente en los siguientes casos:

- * Ausencia de trompas de Falopio
- * Obstrucción irreversible de las trompas.
- * Procesos adherenciales severos de la pelvis
- * Microcirugías anteriores fallidas
- * Endometriosis con respuesta desfavorable a tratamientos previos
- * Problemas de tipo inmunológico
- * Disminución marcada en el número y movilidad de los espermatozoides.
- * Infertilidad conyugal sin causa aparente, después de otros tratamientos sin resultados.

La FIV-TE consiste básicamente en los siguientes pasos:

1. Estimulación Ovárica
2. Aspiración de los Óvulos
3. Capacitación de la Muestra de Semen

4. La inseminación de los Óvulos
5. La fecundación del Óvulo
6. El Desarrollo Temprano del Embrión.
7. La Transferencia Embrionaria.



Figura7: EMBRIÓN RESULTANTE DE LA FERTILIZACION IN VITRO

- Transferencia Intra Tubaria de Gametos (GIFT)

La Transferencia Intratubaria de Gametos, es una técnica que tiene aplicación clínica muy importante en el área de la infertilidad.

El sitio natural para el encuentro del óvulo con el espermatozoide es la trompa de Falopio; si, por cualquier motivo la trompa no puede cumplir con su labor, se impide la fecundación y por consiguiente el embarazo. La técnica de GIFT consiste básicamente en recuperar los óvulos maduros directamente de los

folículos en el ovario, colocarlos en un medio de cultivo en el laboratorio y ponerlos en contacto con un número reducido de espermatozoides que previamente han sido preparados para lograr la fecundación y después transferir estos gametos (óvulos y espermatozoides) a la trompa de Falopio por Laparoscopia para que allí se forme el embrión que dará origen a un embarazo. El ginecólogo, utiliza un laparoscopio, (tubo rígido, delgado, hueco y con luz) para la transferencia.

El tratamiento de GIFT está indicado especialmente en los siguientes casos:

- *Dificultad de la trompa de Falopio para capturar el óvulo.
 - * No ruptura del folículo
 - * Producción de sustancias en la cavidad pélvica que afectan la capacidad del espermatozoide para interactuar con el óvulo.
 - * Disminución marcada en el número y movilidad de los espermatozoides.
 - * Endometriosis con respuesta desfavorable a tratamientos.
 - * Problemas de tipo inmunológico.
-
- Inseminación Intrauterina (IIU)

Es el procedimiento mas usual. Mediante un catéter (tubo) se envían espermatozoides del hombre al útero, a través de la vagina y del cuello del útero.

Existen dos tipos de inseminación intrauterina:

1. Inseminación Intrauterina Homóloga: La cual se realiza con el semen capacitado del compañero sexual y las indicaciones son las siguientes: Factor cervical, Factor masculino, Factor coital, Infertilidad inexplicable, Endometriosis.

2. Inseminación Intrauterina Heteróloga: La cual se realiza con semen de donante, al no obtener por ningún método espermatozoides al compañero sexual o porque existe alguna anomalía genética del compañero.

- Donación de Oocitos

Esencialmente la técnica incluye la transferencia de un oocito de una donante fértil dentro del útero de una receptora infértil. Lo que ha extendido las técnicas a pacientes con infertilidad debida a agenesia ovárica, depleción de oocitos, anomalías genéticas asociadas a gametos enfermos.

Como requisito se necesita que la receptora se encuentre en el mismo estado estrogénico del ciclo que la donante.

- Inyección Espermática Intracitoplasmática (ICSI):

Con el advenimiento de esta técnica se logró superar el problema de los pacientes con muy bajo número de espermatozoides, en quienes la IVF tenía resultados muy desalentadores.

Se realiza con una pipeta microscópica, mediante la inyección de un espermatozoide del hombre en un óvulo. El cigoto fecundado se introduce en el útero.

Se indica en oligozoospermia, Teratozoospermia, y Astenozoospermia severas.

2.2.10 Estudio de la pareja Infértil

La mayoría de las parejas que ejercitan la sexualidad en forma normal logran un embarazo dentro del primer año (80 %) y otras en el segundo año (5% adicional). Por este motivo, suele recomendarse no hacer estudios ni tratamientos específicos al respecto antes de 1 AÑO de relaciones sexuales estériles.

1º.- Historia clínica:

El médico se interesará por:

- Comprobación del estado de salud individual de cada uno de los miembros de la pareja (diabetes, cardiopatías, nefropatías, infecciones crónicas, toxicomanías)
- Antecedentes y hábitos actuales de la pareja en la realización de su actividad sexual.

2º.- Exploración física del aparato genital:

El médico intentará descubrir:

- Malformaciones congénitas o problemas anatómicos obvios en la mujer.

- Idem en el varón (varicocele, hidrocele, criptorquidia.)

3º. Citología del cuello uterino (exámen de Papanicolaou)

4º. Estudio del moco endocervical: Sus características macroscópicas y microscópicas indican si ha habido o no ovulación en un momento dado del ciclo menstrual.

5º. Espermograma: Informa sobre la capacidad fecundante del esperma.

6º. Espermatobioscopia poscoito (prueba de Sims-Huhner) a mitad del ciclo: informa sobre la capacidad fecundante del esperma, y también sobre la receptividad del cuello uterino. (Cuevas, 1998)

2.3 ENFERMEDAD PÉLVICA INFLAMATORIA

La Enfermedad Pélvica Inflamatoria aguda consiste en la infección del útero, trompas de Falopio y estructuras pélvicas adyacentes, no asociadas con cirugía o embarazo. También es conocida como **salpingitis**. El término Enfermedad Pélvica Inflamatoria (EPI) es impreciso, ya que la inflamación no necesariamente es consecuencia de infección. Debería reemplazarse por terminología más específica como salpingooforitis aguda, piosalpinx con peritonitis pélvica, y absceso tubo-ovárico agudo. (Villabona, 1998)

2.3.1 Epidemiología

En nuestro medio no contamos con cifras confiables sobre la incidencia de EPI ni a nivel nacional ni regional. En los Estados Unidos de Norte América se estima que cada año más de un millón de mujeres son tratadas por salpingitis aguda (SA). La incidencia es máxima en adolescentes y mujeres menores de 25 años. Esta afección y sus complicaciones son causa de más de 2.5 millones de consultas y más de 150.000 procedimientos quirúrgicos cada año. De 18 a 20 de cada 1000 mujeres entre 15 y 24 años de edad adquieren salpingitis cada año, siendo la SA la causa del 5 al 20% de hospitalizaciones en los servicios de ginecología en USA. Del 8 al 20% de las mujeres no tratadas con infección endocervical por *Neisseria gonorrhoeae* o *Chlamydia trachomatis* desarrollaron SA; más del 25% de las pacientes con SA tienen menos de 25 años y un 75% son nulíparas. La SA es responsable de aproximadamente el 20% de los casos de infertilidad. (Villabona, 1998)

2.3.2 Factores de Riesgo

Ya se tienen identificados con claridad factores que son determinantes importantes en el desarrollo de la SA; las adolescentes sexualmente activas tienen tres veces más riesgo de desarrollar EPI que las mujeres sexualmente activas entre 25 y 29 años de edad.

Las adolescentes son más susceptibles a desarrollar salpingitis aguda debido a que el epitelio columnar endocervical se extiende más allá del endocérvix (llamado ectopia cervical), la que produce una gran área cubierta por epitelio columnar y escamocolumnar que es más susceptible a las infecciones por *Chlamydia trachomatis*. La *C. trachomatis* parece no crecer en las células escamosas del exocérvix y la vagina. También se tiene identificado con claridad que mujeres que tengan numerosos compañeros sexuales exhiben mayor riesgo de sufrir SA. (Cuevas, 1998)

Otros factores de riesgo identificados para SA son el uso de duchas vaginales y el cigarrillo; también son condiciones de riesgo la historia de episodios previos de EPI, o Enfermedad de Transmisión Sexual (ETS), inserción reciente de DIU, menstruación reciente y pareja sexual con uretritis o enfermedad sexualmente transmitida asintomática.

Durante la menstruación las alteraciones en el moco cervical facilitan la migración ascendente de las bacterias hacia la cavidad endometrial. El uso de Anticonceptivos Orales (ACO) altera el moco cervical y el tejido endometrial, el cual ayuda a bloquear la infección ascendente al igual que los agentes anticonceptivos de barrera; así mismo, se ha determinado el efecto bactericida de los espermicidas. No es claro el papel de los ACO en el riesgo de la EPI, si bien su acción sobre el moco cervical es protectora, en algunos estudios se ha encontrado que los estrógenos y la progesterona facilitan el crecimiento, supervivencia y ascenso de la infección por *Chlamydia*. Además se sabe que los ACO pueden facilitar el desarrollo de ectopia cervical. (Cuevas, 1998)

Acerca del papel del dispositivo intrauterino (DIU) en la génesis de la EPI, continúa la controversia. La infección pélvica no ha probado ser una complicación significativa de la anticoncepción intrauterina. La recrudescencia

de una endometritis puerperal o una salpingitis puede ocurrir posteriormente a la inserción del DIU, pero las infecciones que se producen lejos de la inserción del DIU parecen no estar relacionadas con la presencia de éste. La inserción de DIU en mujeres con infecciones cervicales asintomáticas no diagnosticadas, especialmente por *C. trachomatis* y *Neisseria*, es una causa temprana del EPI. También se han identificado factores de bajo riesgo para EPI (Tabla No. 1).



Figura 8: DISPOSITIVO INTRAUTERINO

Tabla No. 1. Variables que afectan el riesgo de Enfermedad Pélvica Inflamatoria

| Variables que afectan el riesgo en EPI |
|--|
| Factores de alto riesgo para EPI |
| <ul style="list-style-type: none">• Adolescencia• Menstruación reciente• Múltiples parejas sexuales• Compañero sexual con uretritis o ETS asintomática• Episodio previo de EPI o ETS• Inserción reciente de DIU en pacientes con cervicitis |
| Factores de riesgo disminuido para EPI |
| <ul style="list-style-type: none">• Monogamia• Uso de anticonceptivos orales• Métodos de Barrera• Uso de espermicidas |

2.3.3 Etiología y Acción patógena

Microbiología: La mayoría de casos documentados de EPI son causados por *C. Trachomatis*. Otras especies bacterianas, incluyendo aerobios y anaerobios, han sido aisladas del endometrio y de las trompas de Falopio.

El canal endocervical y el moco cervical presentan la mejor barrera protectora para el endometrio y tracto genital superior contra infección por la flora vaginal. La infección por *C. Trachomatis* lesiona el canal endocervical alternando estas barreras protectoras, permitiendo así la infección ascendente. (Cuevas, 1998)

El ascenso de microorganismos ocurre también por pérdida del mecanismo de depuración de las células epiteliales ciliadas tubáricas y uterinas; el daño del epitelio endocervical permite la invasión por flora vaginal. Experimentalmente se ha comprobado transporte bacteriano entre el endocérvix, el endometrio y las trompas.

2.3.4 Factores Facilitadores del Ascenso de la Infección

La extensión del epitelio columnar fuera del endocérvix (ectopia) origina una gran área cubierta por epitelio columnar y escamoso susceptible a infección por *Chlamydia*.



Figura 9: ECTOPIA

Cambios hormonales que alteran el moco cervical durante el ciclo menstrual normal permiten el transporte de microorganismos en la mitad del ciclo. La calidad del moco se altera en la fase progestacional; éste se hace más viscoso y difícil de penetrar.

Los microorganismos ascienden a la cavidad uterina durante la menstruación, colonizan el endometrio y posteriormente comprometen las trompas.

La inflamación de la mucosa se manifiesta por un aumento de neutrófilos atraídos al sitio de la infección cervical, alterando la barrera del moco cervical, permitiendo el ascenso de la infección; otra causa que puede favorecer el ascenso bacteriano es la menstruación anteriormente designada.

En el endometrio, la *Chlamydia* estimula respuesta inflamatoria y se demuestra por la inflamación neutrofílica y la secreción de IgA por los plasmocitos. En la invasión la bacteria se adhiere al epitelio no ciliado de las trompas de Falopio,

son fagocitadas, transportadas hacia la base del epitelio y luego introducidas activamente a la capa subepitelial, las trompas se edematizan, se congestionan y se cubren de un exudado purulento; luego la mucosa se infiltra de leucocitos polimorfonucleares y la luz se llena de este exudado produciéndose un eritema tubárico y edema que puede alcanzar el peritoneo, la inflamación tubárica llega hasta las capas más externas y se generan adherencias peritoneales que transforman y obstruyen las trompas. (Restrepo, 1996)

Experimentalmente se ha comprobado que la lesión no siempre es causada por replicación bacteriana, sino por alteración de la inmunidad mediada por anticuerpos y complemento. Descubrimientos recientes han implicado un genoma específico, 57-KD, en esta respuesta. El papel de esta proteína en estimular la respuesta patogénica en el hombre está aún por determinarse. El cuello es el sitio más común de infección por *Chlamydia*, microorganismo que compromete la integridad del epitelio cilíndrico endocervical. (Villabona, 1998)

2.3.5 Diagnóstico

El dolor abdominal bajo es el síntoma más frecuente en pacientes con salpingitis aguda demostrada por laparoscopia. La mayoría de las pacientes con salpingitis aguda presenta sensibilidad anexial, fiebre y secreción vaginal

anormal acompañada de dolor abdominal; otras patologías pueden dar estos hallazgos. El dolor abdominal, con o sin rebote, se halla en el 99% de los casos de salpingitis aguda, pero este signo puede presentarse en un gran número de entidades diferentes a la SA. El dolor abdominal de la SA es usualmente bilateral

y bajo; hay dolor a la movilización del cérvix y del útero, y sensibilidad anexial; en ausencia de estos signos y síntomas debe pensarse en otro diagnóstico. El frotis de la secreción cervical coloreado con Gram es poco confiable por causa de la baja sensibilidad en pacientes con gonorrea asintomática. (Restrepo, 1996)

CRITERIOS CLINICOS PARA EL DIAGNOSTICO DE SALPINGITIS:

- Dolor abdominal con o sin rebote.
- Sensibilidad a la movilización del cérvix. : Sensibilidad anexial.

Los dos criterios anteriores son necesarios para establecer el diagnóstico, con uno o más de los siguientes:

- Temperatura mayor de 38°C
- Leucocitosis (mayor de 10.000 por c.c.)
- Material purulento (positivo para leucocitos) en la cavidad peritoneal obtenido por culdocentesis o laparoscopia.

Establecido el diagnóstico clínico de EPI, se debe hacer la definición del estado clínico y anatómico de la patología pélvica:

a) No complicada (limitada a trompas u ovarios)

1. Sin peritonitis pélvica
2. Con peritonitis pélvica

b) Complicada (masa inflamatoria o absceso que compromete trompa (s) u ovario (s))

1. Sin peritonitis pélvica

2. Con peritonitis pélvica

c) Diseminada a estructuras más allá de la pelvis y/o ruptura de absceso tubo-ovárico.

Diagnostico Diferencial:

No hay signos y síntomas patognomónicos que den seguridad completa al diagnóstico de una SA; tampoco existen exámenes paraclínicos que lo aseguren. Hay algunas patologías pélvicas con las que más frecuentemente debe hacerse el diagnóstico diferencial: embarazo tubarico, quiste ovárico con hemorragia o torsión, apendicitis aguda, endometrioma roto, cuerpo lúteo hemorrágico.

2.4 INFERTILIDAD POR FACTOR TUBARICO

La Infertilidad por Factor Tubárico es una de la causas más frecuentes de infertilidad .

Por su función, las trompas de Falopio son fundamentales para la reproducción humana. Debido a su estructura, son fácilmente afectadas por ciertas

enfermedades. Estas dos situaciones ubican a la patología tubárica como la causa más común de infertilidad.

La incidencia de Infertilidad por Factor Tubárico adquiere día a día una gran dimensión, ya que está estrechamente ligada a la problemática de las Enfermedades de Transmisión Sexual.

Las trompas de Falopio hacen parte del aparato reproductor femenino, junto con la vulva, la vagina, el útero y los ovarios. Formadas básicamente por músculo liso, recubierto por una capa peritoneal y tapizado en su interior por un delicado epitelio, especializado en el transporte del ovocito y del embrión

Las trompas de Falopio tienen entonces como funciones, capturar el ovocito cuando es liberado por el ovario en el momento de la ovulación, y transportarlo en su interior donde ocurre el eventual encuentro con los espermatozoides que ascienden desde la vagina, llevándose a cabo en la porción ampular el proceso de la fecundación. Los primeros estadios de desarrollo del embrión transcurren en las trompas de Falopio, durante los cuatro días que toma su transporte hasta la cavidad uterina, recubierta por el endometrio, donde finalmente se implanta.

Las trompas de Falopio pueden sufrir diversas alteraciones, la mayoría de ellas asociadas a infecciones bacterianas originadas en el aparato reproductor femenino. La luz tubárica es estrecha y su epitelio muy delicado, lo que la hace más susceptible al daño que otras estructuras del aparato reproductor femenino.

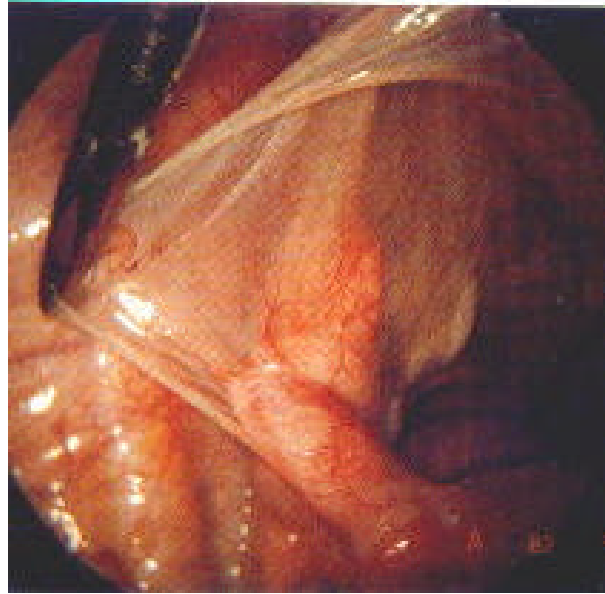


Figura 10: ALTERACIONES EN LA TROMPA DE FALOPIO

Otras infecciones localizadas en la pelvis pueden afectar las trompas de Falopio debido a su vecindad, como es el caso de la apendicitis. El peritoneo es la membrana que recubre todas las vísceras abdominales y es capaz de producir una respuesta intensa a todo proceso inflamatorio, incluyendo en sus mecanismos de protección la producción de puentes de tejido fibroso, con el fin de localizarlos para evitar su extensión a otras vísceras. Esto puede llevar a la distorsión de la anatomía en la zona afectada, y en éste caso en particular, alterar la relación necesaria entre las trompas de Falopio y los ovarios, o aún obstruirlas por acodamiento en algún segmento o por compromiso de la fimbria. La endometriosis es la principal causa de origen no infeccioso que puede causar daño definitivo de las trompas de Falopio, debido a ésta respuesta inflamatoria peritoneal.

Existe una comunicación directa entre el medio ambiente externo y la cavidad abdominal a través del aparato reproductor femenino, pero los mecanismos de defensa naturales impiden normalmente el paso de gérmenes a través del cérvix uterino. La vagina está expuesta al medio ambiente y mantiene una microflora normal muy abundante. El cérvix uterino sólo permite el paso de los espermatozoides uno o dos días cada mes, en el período ovulatorio; sin embargo, la barrera pierde eficiencia bajo ciertas condiciones: durante el período menstrual; ante la presencia permanente del Dispositivo Intrauterino, durante los procesos de parto y aborto y ante la presencia de Enfermedades de Transmisión Sexual. (Restrepo, 1996)

2.4.1 Causas de Patología Tubárica

Infecciosas :

- No originadas en el Aparato Reproductor Femenino :
 - Apendicitis
 - Tuberculosis
 - Otras

- Originadas en el Aparato Reproductor Femenino :
 - De origen obstétrico
 - De origen ginecológico
 - Enfermedades de Transmisión Sexual
 - Otras

No infecciosas :

-Endometriosis

- Miomatosis

Las infecciones bacterianas originadas en el aparato reproductor femenino son, por lejos, la principal causa de daño tubárico. Éstas pueden ser de causa obstétrica, es decir, asociadas al embarazo; o de causa ginecológica, no asociada al embarazo, usualmente secundaria a Enfermedades de Transmisión Sexual. El aborto realizado en condiciones inadecuadas, y el proceso de parto prolongado o traumático pueden facilitar el ataque de microorganismos que normalmente hacen parte de la flora vaginal. La infección es iniciada por gérmenes aerobios, es decir, que requieren oxígeno para su desarrollo. La inflamación y el consumo del oxígeno facilitan el ataque de microorganismos anaerobios, que son más agresivos. Estas infecciones polimicrobianas siempre son graves. Las infecciones de origen obstétrico responden, a pesar de todo, por un número reducido de casos de infertilidad tubárica posterior.

La infección de origen ginecológico es mucho más frecuente. Es producida casi siempre por gérmenes de transmisión sexual, que producen inicialmente infección cervical y posteriormente Enfermedad Pélvica Inflamatoria. La infección del endometrio y de las trompas de Falopio, esto es, endometritis y salpingitis, constituyen la base del compromiso en la Enfermedad Pélvica Inflamatoria, pudiendo ocurrir además infección pélvica generalizada, más o menos grave, de acuerdo al germen implicado y a las condiciones del huésped. Es poco probable

que se produzca infección ascendente por invasión primaria de gérmenes del colon y de la flora vaginal, como es el caso en las infecciones obstétricas. (Villabona, 1998)

La Enfermedad Pélvica Inflamatoria es una causa frecuente de esterilidad en el mundo: Alrededor de un millón de casos tratados en los Estados Unidos y de 100 a 200,000 casos tratados en Francia cada año. La incidencia es mayor en el grupo de mujeres jóvenes menores de 25 años y, probablemente, en el grupo de países en vía de desarrollo. El riesgo de secuelas que comprometen la fertilidad puede ser del 10 al 20% después del primer ataque y de 50% después de tres episodios de la Enfermedad Pélvica Inflamatoria. (Botero, 1999)

De los veinte o más microorganismos que se transmiten habitualmente por contacto sexual, sólo unos pocos tienen la capacidad para producir la Enfermedad Pélvica Inflamatoria. La infección es con frecuencia polimicrobiana, como en el caso de las infecciones de origen obstétrico, pero el compromiso primario es usualmente producido por dos o tres gérmenes transmitidos sexualmente. Ellos son *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, y posiblemente algunas especies del género *Mycoplasma*. (Speroff, 1999).

La infección por *Chlamydia* es más frecuentemente asintomática y prolongada, haciéndola más difícil de diagnosticar. Su incidencia ha ido en aumento en las últimas dos décadas. En los Estados Unidos, cerca de 4 millones de casos ocurren cada año, incluyendo ambos sexos. De acuerdo a diferentes aproximaciones, la incidencia de infección por *Chlamydia* es dos a tres veces mayor que la de enfermedad gonocócica y su prevalencia en el tracto genital

inferior puede ser del 15 %. Alrededor de un 8 % de éstas mujeres desarrollarán salpingitis.

La infección por *Chlamydia* es asintomática hasta en un 70 % de los casos. Pueden observarse síntomas moderados de flujo vaginal, sangrado anormal, dolor pélvico y disuria. Al contrario de *Neisseria*, *Chlamydia* puede permanecer en los tejidos durante largo tiempo, produciendo inflamación crónica que puede dañar las trompas de Falopio con más severidad que el daño producido por el microorganismo en sí mismo. (Templetón, 1995)

Las lesiones tubáricas se constituyen en la más frecuente causa de infertilidad. En 9 de cada diez casos la causa es una Enfermedad Pélvica Inflamatoria secundaria a una Enfermedad de Transmisión Sexual. Los individuos más susceptibles son aquellas mujeres jóvenes, solteras, con varios compañeros sexuales, sin métodos contraceptivos. La infección por *Chlamydia trachomatis* es la más importante causa de Enfermedad Pélvica Inflamatoria, no sólo por su prevalencia, sino por su potencial para producir daño en forma silenciosa.

2.4.2 Diagnóstico

Hoy en día existen cinco técnicas diagnósticas que se usan para explorar el factor tubárico en la paciente estéril. Una, es la histerosalpingografía, basada en la radiología, la otra, es la histerosalpingosonografía, la cual se basa en los ultrasonidos; las dos siguientes son la salpingoscopia y la laparoscopia, las cuales son endoscópicas y como última los tests de *Chlamydia*. La histerosalpingografía y la laparoscopia surgieron primero, son las más extendidas

y mayoritariamente se consideran las más útiles, ambas se complementan y permiten un estudio adecuado de las trompas. Las otras dos técnicas también aportan aspectos interesantes. Posteriormente vamos a considerar cada una de ellas.

Histerosalpingografía:

Descripción

Consiste en la inyección de un medio de contraste yodado (líquido opaco a los rayos X) a través de la vagina y del cuello del útero, consiguiéndose así la repleción de la cavidad uterina y de las trompas, lo cual permite estudiar radiológicamente de forma indirecta las características anatómicas de la luz de estos órganos.



Figura 11: HISTEROSALPINGOGRAFIA

Histerosalpingosonografía:

Descripción

Es la exploración ultrasónica del útero y de las trompas mientras se inyecta un líquido a través del cuello uterino con el fin de crear una ventana acústica de ecogeneidad diferente que permita observar mejor las paredes internas de estas estructuras. Material Se precisa un ecógrafo con transductor vaginal, sondas, jeringas y líquido de contraste que puede ser negativo (no ecogénico) como el suero fisiológico o positivo (hiperecogénico).



Figura 12: HISTEROSALPINGOSONOGRFIA

Salpingoscopia:

Es la técnica que explora directamente la trompa a través de un endoscopio. También se utilizan los términos tuboscopia y ampuloscopia y todos ellos hacen referencia a la inspección de la porción distal de la trompa, la ampolla tubárica. Más recientemente ha salido otra modalidad endoscópica llamada falloposcopia que permite la exploración de la totalidad de la trompa y que se puede considerar que aún está en fase de validación clínica.

Laparoscopia:

Descripción

Es la técnica que permite observar directamente el contenido de la cavidad peritoneal, y por tanto el exterior de las trompas y su entorno, mediante un endoscopio rígido introducido a través de la pared abdominal. Es el método que mejor puede establecer un pronóstico de la patología tubárica, decidir la terapéutica adecuada y muchas veces permitir la cirugía que es posible realizar con su ayuda.

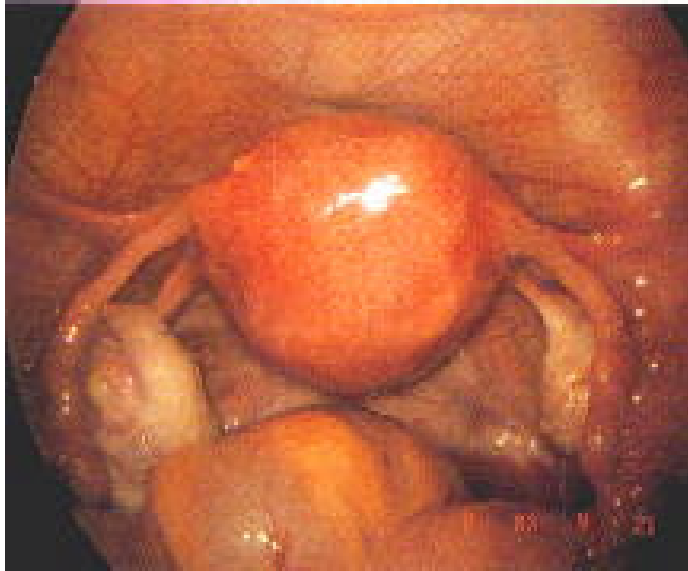


Figura 13: LAPAROSCOPIA

Tests de Chlamydia:

Es un análisis de sangre que tiene por finalidad estudiar la existencia de una infección por *Chlamydia* que como se ha dicho es el agente infeccioso que con más frecuencia afecta a las trompas. Son test serológicos que se basan en la detección de anticuerpos anti*Chlamydia*, los cuales persisten mucho tiempo después de ocurrida la infección. De hecho un solo análisis positivo no puede asegurar si la infección es actual o pasada. Su sensibilidad y especificidad varían entre 0,20 y 1 según el test que consideremos y existen muchos de ellos. Obviamente no es una prueba agresiva y es barata pero no permite un diagnóstico de los otros posibles agentes infecciosos y no informa del estado anatómico de la trompa debiendo pues complementarse con los otros métodos existentes.

2.5 CHLAMYDIA TRACHOMATIS

Las bacterias pertenecientes al género *Chlamydia* constituyen uno de los grupos de microorganismos más difundidos y prevalentes como causa de infecciones diversas, particularmente del tracto genital, respiratorio y ocular.

Las características de estos microorganismos, incapaces de sintetizar compuestos de alta energía, como trifosfato (GTP), esenciales para el metabolismo y la respiración, que los obliga a ser parásitos intracelulares y requerir células vivas para su desarrollo, dificultaron su estudio. El interés por las infecciones que provocan quedó limitado a veterinarios y oftalmólogos, hasta las últimas décadas, cuando *Chlamydia trachomatis* se reconoce como uno de los agentes principales de las infecciones sexualmente transmisibles.

Actualmente se reconocen infecciones sintomáticas y asintomáticas producidas por esta bacteria en el campo de la ginecología y obstetricia: uretritis, cervicitis, Enfermedad Pélvica Inflamatoria, e infecciones perinatales. La portación asintomática y las infecciones latentes constituyen un verdadero desafío para su pesquisa y prevención. (Bótero, 1999)

Recientemente se conocen datos sobre este carácter peculiar de ser asintomática. Se estima que hasta un 85% de las mujeres y un 40% de los hombres infectados son asintomáticos .

La aparición de métodos de diagnóstico, sensibles y al alcance de laboratorios de mediana complejidad, permitió no sólo reconocer los procesos patológicos, sino también evaluar racionalmente los esquemas terapéuticos que se estaban aplicando en forma empírica y determinar la efectividad de los nuevos antibióticos y quimioterápicos.

2.5.1 Reseña Histórica:

La *chlamydia trachomatis* fue identificada como la causa de ceguera más importante en el antiguo Egipto, en la China y en los tratados médicos greco-romanos. Sin embargo, no fué hasta 1907 en que Halberstaeter y von Provazek describen los cuerpos de inclusión, verdaderas colonias intracelulares en el raspado de la conjuntiva ocular de un orangután con conjuntivitis. (López, 2000)

El aislamiento del agente, denominado *Chlamydia trachomatis*, fue realizado por F. F. T'ang y sus colaboradores en 1957 a partir de conjuntiva ocular de un tracoma y luego por B. R. Jones, L. H. Collier y C. H. Smith, en 1959, también de tracoma y del tracto genital. A esos microorganismos se los denominó agentes "TRIC" (TR: tracoma; IC: conjuntivitis de inclusión).

Posteriormente microorganismos que se aislaron de infecciones transmisibles, como el linfogranuloma venéreo (LGV), demostraron ser similares a los agentes TRIC, pero con otra respuesta serológica. (Fernández, 2000)

Las técnicas de cultivos celulares para la recuperación de *Chlamydia trachomatis*, introducidas por Gordon y Quan en 1965 y los métodos para la detección de

anticuerpos y determinación de inmunotipos desarrollados por Wang y Grayston en 1970, permitieron confirmar el rol etiológico de *Chlamydia trachomatis* en infecciones sexualmente transmisibles.

2.5.2 Clasificación

El orden *Chlamydia* les comprende una familia *Chlamydiaceae* y un género: *Chlamydia*. Dentro del mismo, las tres especies reconocidas como patógenas en el hombre *C. trachomatis*, *C. psittaci*. y *C. pneumoniae* y actualmente una cuarta especie: *C. pecorum* cuya participación en patologías humanas aún se desconoce. (Farinati, 2000)

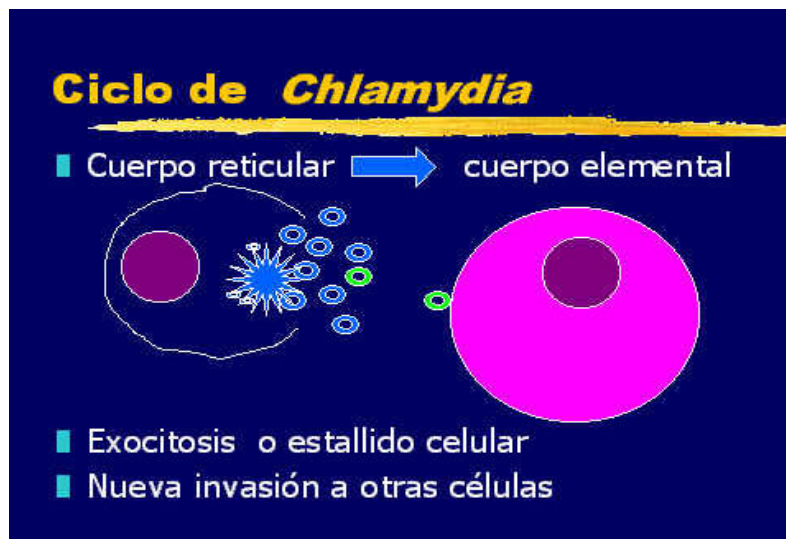
2.5.3 Interacción de *Chlamydia* con las células :

Las observaciones de Hodinka y colaboradores demostraron que *Chlamydia psittaci* (luego demostrado para *C. trachomatis*) puede ser internalizada en las células fagocíticas "no profesionales" mediante un proceso similar al de la endocitosis.

La infección por *Chlamydia trachomatis* implica la presencia de adhesinas en su membrana, las cuales expresa al momento del contagio, para que este proceso sea posible la célula a contagiar expresa unos receptores específicos que

permiten la unión con las adhesinas. Dicho fenómeno, denominado inicialmente tropismo, es lo que se conoce como adherencia. Se han efectuado numerosas descripciones del ciclo intracelular de *Chlamydia* y al que se denomina ciclo de desarrollo. Existe clásicamente un proceso de adherencia del cuerpo elemental (CE) o infectante, endocitosis, diferenciación del CE en cuerpo reticular (CR), replicación del CR, formación del cuerpo de inclusión (CI), diferenciación inversa del CR a CE, lisis de la membrana del CI, exocitosis de los CE o bien lisis de la membrana citoplasmática con liberación de los CE. Luego, cada uno de los mismos puede reiniciar el ciclo descrito en células sensibles. Todo este mecanismo es complejo y aún no está completamente dilucidado. pero de gran interés debido al futuro terapéutico que puede ofrecer el bloqueo del mismo.

Gráfica No 7. Interacción de *Chlamydia* con las Células



2.5.4 Propiedades moleculares y metabólicas

Las células de *Chlamydia* tienen una composición similar a la de otras bacterias. Poseen DNA y RNA. El contenido de DNA de una *Chlamydia* corresponde aproximadamente al doble del virus vaccinia y de una octava a una quinta parte del de *Escherichia coli*; el tamaño de su genoma oscila de unos 500 a 1000 kilopares de bases (0.5 a 1 Mb). Al menos una parte de su RNA está en forma de ribosomas y, como los de otros procariontes, los ribosomas son partículas 70S compuestas de una unidad 50S y otra 30S.

Las propiedades metabólicas de las *Chlamydias* purificadas a partir de células infectadas se han estudiado por métodos similares a los empleados con las rickettsias. La capacidad de biosíntesis de las *Chlamydias* es mucho más limitada. Aunque en las *Chlamydias* se produce síntesis de macromoléculas, no poseen ningún sistema generador de energía y las células, son por tanto, parásitos de sus hospedadoras en cuanto a la energía. De sus limitaciones biosintéticas y catabólicas se deduce que son parásitos estrictos.

2.5.5 Ciclo Biológico de la *Chlamydia*

En su desarrollo, la *Chlamydia* pasa por dos formas celulares diferenciadas. Corpúsculo elemental (CE) y corpúsculo reticulado o inicial (CR)

Cuerpo Elemental (CE):

El cuerpo elemental es una estructura esférica, de 200 a 300 nm de diámetro, metabólicamente inactivo, con una pared celular rudimentaria, semejante a la de las Gram negativas, comprendiendo el 15% del peso seco de la bacteria, compuesta por dos capas, una externa granulosa y una interna formada por macromoléculas que se disponen de forma hexagonal. Contiene aminoácidos azufrados con formación de puentes disulfuro, siendo estos los responsables de su rigidez y escasa permeabilidad. La membrana citoplasmática encierra los ribosomas y un pequeño nucleóide excéntrico sin membrana que representa parte del genoma de la bacteria. (Fernández, 2000)

Existen otros componentes en la membrana externa que incluye proteínas ricas en cisteína y en puentes disulfuro que contribuirían a su integridad estructural. También contiene un lipopolisacárido (LPS) que es estructuralmente similar al de las bacterias gramnegativas y portador del antígeno específico del género.

Una vez transcurridas 6-9 horas después de la ingestión, el CE se alarga, sintetiza ribosomas y la relación de ARN/ADN que era de 1:1 pasa a ser de 3:1, y queda constituido el cuerpo reticular. (Farinati, 2000)

Cuerpo reticular (CR):

Tiene una estructura muy similar a la de una bacteria gram negativa. Mide 1 μm de diámetro, es metabólicamente activo y se multiplica por división binaria.

La capa interna ha desaparecido dividida en subunidades, contiene menos fosfolípidos, sin la presencia de metionina y cisteína ni formación de enlaces

cruzados en el peptidoglicano. Por esto es menos rígido y permeable para el ATP, nutrientes y productos finales del metabolismo. Contiene ribosomas y el ADN se encuentra difuso en el citoplasma. Es una forma sensible y frágil, incapaz de sobrevivir en el medio externo. (López, 2000)

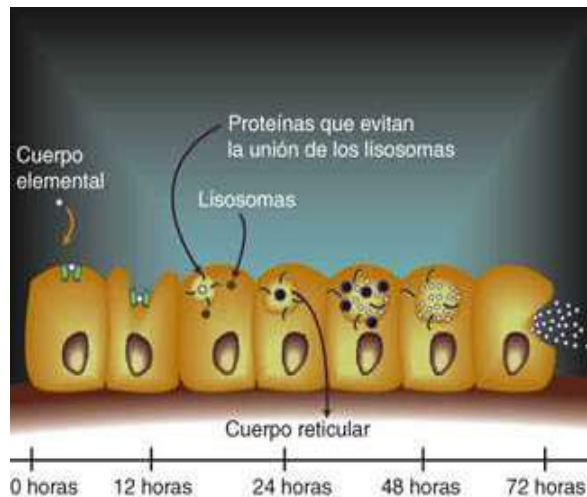
Una vez producida la transformación del CE en CR, *Chlamydia* utiliza los sustratos celulares para sintetizar su propio ARN, ADN y proteínas. El glucógeno se acumula dentro de la inclusión de *Chlamydia trachomatis* alcanzando niveles detectables por la tinción con yodo a las 30-48 horas después de la infección, debido a la presencia de una glucógeno sintetasa.

2.5.6 Ciclo de desarrollo intracelular

Chlamydia trachomatis es un microorganismo intracelular estricto y tiene una alta capacidad para invadir los tejidos, dependiente de la presencia en su membrana exterior de glicosaminoglicanos que interactúan con componentes de la membrana celular. Una vez que ingresa a la célula por un proceso de endocitosis, el cuerpo que produce la infección, rodeado por una vacuola citoplasmática, comienza a producir numerosas proteínas, algunas de las cuales impiden la unión de los lisosomas, en tanto que otras van a formar canales en la superficie de la vesícula de inclusión, a través de los cuales ingresan nutrientes y sustancias energéticas (ATP).(Fernandez, 2000)

Durante esta fase, se sucede una transformación estructural que da origen a los cuerpos reticulares, los cuales no son infectantes ni pueden sobrevivir por fuera de la célula y después de una rápida fase de replicación, se diferencian a cuerpos

elementales, que son liberados e invaden las células vecinas. Ahora bien, las células humanas pueden defenderse de las patógenos intracelulares mediante la activación de sus sistemas de apoptosis, pero este mecanismo de defensa es bloqueado por *C. trachomatis*. Experimentos recientes han demostrado que este microorganismo inhibe la activación de la enzima caspasa-3, péptido que desempeña un papel crucial en la secuencia de muerte celular programada y es posible que dicho fenómeno dependa de la producción de factores anti apoptóticos, aún no identificados, por parte de la bacteria.



Gráfica No 8 Esquema que ilustra el ciclo biológico de *C. trachomatis*. Los cuerpos reticulares son bastante frágiles, de modo que no pueden sobrevivir fuera de la célula y dan origen a los cuerpos elementales, con capacidad infectante; todo el ciclo dura entre 48 a 72 horas.

2.5.7 Genética

Todas las especies de *Chlamydia trachomatis* contienen plásmidos de 4.4 megadalton y serían del tipo multimérico (plásmidos crípticos). Los polipéptidos codificados por los mismos no son reactivos y no se ha visto que confieran resistencia antibiótica. Actualmente se utiliza parte de la secuencia de ADN de estos plásmidos como iniciadora o "primer" para la detección de *C. trachomatis* mediante la reacción de polimerasa en cadena (PCR). (furinati, 2000)

2.5.8 Estructura antigénica :

Hasta el momento se conoce la existencia de:

1. Antígeno de grupo, es termoestable y se ha identificado como un polisacárido ácido, cuyo antígeno inmonodominante es el ácido 2-Keto-3-desoxiotónico.
2. Antígenos específicos de especie, permiten diferenciar las tres especies de *Chlamydia*, son proteicos y termolábiles y están asociados a la membrana externa; se han encontrado 18 fracciones antigénicas hasta el momento. En la tabla se describen antígenos de grupo o género, especies y tipo. (López, 2000)

| Clase | Observaciones | Naturaleza |
|----------------|--|---|
| Género o grupo | Comunes a las tres especies. | LPS |
| Especie | Diferencia <i>C. trachomatis</i> , <i>C. psittaci</i> y <i>C. pneumoniae</i> . | PME (proteínas de la membrana externa). |
| Tipo | Diferencia serovares de <i>C. trachomatis</i> . | PME (proteínas de la membrana externa). |

Tabla 2: Antígenos de *C. trachomatis*

3. Antígenos específicos de tipo, se encuentran localizados en la membrana externa y son de naturaleza proteica, permitiendo diferenciar las especies en serotipos; inducen la aparición de anticuerpos neutralizantes de la infectividad y toxicidad, relacionados con la inmunidad.

Tabla 3: Serovares de *C. trachomatis* y patologías asociadas.

| Serotipos o serovares de <i>C. Trachomatis</i> | Patologías asociadas |
|--|--|
| A - B - B ₁ - C | Tracoma |
| L ₁ - L ₂ - L ₃ | Linfogranuloma venéreo |
| D-E-F-G-H-I-K | Conjuntivitis Uretritis Cervicitis Complicaciones de uretritis y cervicitis: prostatitis, epididimitis. Enfermedad Pélvica Inflamatoria |

2.5.9 Factores de virulencia *Chlamydia trachomatis*

- CE ingresa por endocitosis mediada por el receptor (principal), fagocitosis microfilamentos -dependiente
- Puente de unión CE-receptor: heparan
- Integridad de la ME :evitaría la fusión con el lisosoma
- Conversión CE-CR y CR-CE :¿concentración de AMPc y GMPc ?

2.5.10 Eventos inmunológicos de la *Chlamydia trachomatis*

El daño en las trompas es mediado inmunológicamente ya que la proteína de shock térmico (hsp) de 60-kDa de la *Chlamydia* puede ser un antígeno asociado con la respuesta patogénica. Esta proteína según estudios recientes se homologa en un 50% con la proteína hsp humana; así la respuesta inmune inicial dirigida a la infección de *Chlamydia trachomatis* puede resultar en una reacción cruzada en células humanas y tejidos (mimetismo molecular), siendo un posible mecanismo por el cual se induce respuesta inmune (Stamm, 1999). Se ha descrito que los anticuerpos hsp de 60kDa y el factor tubárico se encuentran fuertemente asociados.

Las proteínas de shock térmico como la hsp60, son familias de proteínas altamente conservadas que están constituidas de componentes inducibles y constitutivos que preservan la viabilidad celular durante periodos de stress. La hsp60 kDa es expresada sobre macrófagos activados durante la respuesta inflamatoria. Los linfocitos T son activados por hsp60 y liberan interferón gamma el cual estimula fuertemente la activación de macrófagos y la liberación de citoquinas proinflamatorias como interluquina 1 y factor de necrosis tumoral alfa durante la infección. La expresión temprana de hsp60 por células infectadas promueve la movilización de los mecanismos de defensa inmunológicos antes del desarrollo de la inmunidad específica hacia antígenos microbianos. Más aún, la activación de la expresión de hsp60 en la ausencia de infección puede promover la inflamación ante daño autoinmune. La expresión y liberación de hsp60 en el endometrio ectópico media el disparo de la respuesta inmune inflamatoria e interfiere con el desarrollo del embrión o con la implantación.

Un importante determinante de la inmunidad parece ser la proteína de 40kDa denominada proteína de la membrana externa mayor (MOMP) de la *Chlamydia*, la cual induce anticuerpos neutralizantes y la respuesta inmunitaria mediada por células T. Los anticuerpos de la MOMP son neutralizantes de la infectividad de la *Chlamydia* tanto en cultivos celulares como en modelos animales; sin embargo el polimorfismo alélico de los genes de la MOMP ocurren con relativa frecuencia por las mutaciones o en algunos casos por eventos recombinantes; polimorfismo de este tipo puede representar un tipo de evasión inmunológica ya que por cada cambio de aminoácidos en la MOMP puede haber un cambio de los anticuerpos neutralizantes (Stamm, 1999).

Recientes estudios han identificado la proteína de shock térmico hsp10 de la *Chlamydia* relacionada con los procesos inmunopatológicos en mujeres con Factor Tubárico de Infertilidad (FTI); la respuesta serológica humana de la hsp10, hsp60 y la proteína de membrana externa mayor MOMP de *Chlamydia* fue medida en un estudio por medio del ensayo enzimático inmunoabsorbente, tomando tres poblaciones de mujeres así: la población uno o población control fueron mujeres no infectadas; la población dos fueron mujeres con infección aguda y la población tres mujeres con factor tubárico de infertilidad y se encontró que; las mujeres de los grupos 2 y 3 presentan mas frecuentemente la hsp10 en niveles altos que el grupo control. Además las mujeres del grupo 3 presentaron mayor sero-reactividad que en las del grupo 2 indicando un incremento de sus niveles en poblaciones con mayor severidad de la enfermedad. La reactividad de la hsp60 mostró una correlación similar en estas poblaciones. El pico de

reactividad de la MOMP fue similar en ambos grupos (2 y 3) pero no se incrementó con la severidad de la enfermedad (La Verda, 2000).

La persistencia natural de la infección por *Chlamydia* proporciona una oportunidad para la estimulación crónica del sistema inmune del huésped con antígenos de la *Chlamydia*. La proteína del shock térmico (hsp60) de 60 kDa ha sido particularmente implicada en la inducción de daño inmunológico relacionado con la *Chlamydia*. La hsp60 de *Chlamydia* es parcialmente homóloga con el duplicado GroEl en *Escherichia coli* y con la hsp60 humana. Estudios realizados han demostrado la implicación de la hsp60 de *Chlamydia* en la patogénesis de *Chlamydia trachomatis* asociada con Embarazo Ectópico e Infertilidad Tubal. (Domeika, 1998). Extensas secuencias de aminoácidos homólogos entre hsp60 de *Chlamydia* y humana sugieren que una infección crónica por *Chlamydia trachomatis* en las trompas de Falopio pueden conducir una respuesta autoinmune directa contra epítopes expresados que se conservan en la hsp60 humana. (Fdomeika,1998).

2.5.11 Prevalencia y Acción Patógena

La prevalencia de las infecciones por *Chlamydia trachomatis* en la mujer fue estudiada en embarazadas, en mujeres que acuden a consultorios de ginecología o planificación familiar, en mujeres que asisten a clínicas o consultorios de Enfermedades de Transmisión Sexual (ETS) y en grupos de estudiantes. Los rangos varían notablemente desde 3-5% en mujeres asintomáticas, hasta 20% en las mujeres vistas en el servicio de ETS. Hay factores asociados, principalmente

los demográficos, que incrementan el riesgo de la adquisición de *C. trachomatis*: adolescencia y mujeres jóvenes (ectopías), múltiples parejas, uso de anticonceptivos orales.

La infección genital por *C. trachomatis* da origen a cuadros de cervicitis, salpingitis, endometritis y uretritis en la mujer, en tanto que en el hombre ocasiona uretritis, epididimitis y prostatitis. Las estadísticas indican que apenas cerca de 30% de las infecciones son sintomáticas y este porcentaje es aún menor en la mujer. De acuerdo con las estructuras comprometidas, las manifestaciones clínicas comprenden fiebre, malestar general, disuria, secreción purulenta por la uretra, dolor inespecífico en el hipogastrio, descarga mucopurulenta por el orificio del cérvix uterino o flujo vaginal leve. Cuando la infección se hace crónica y compromete los genitales internos femeninos, es frecuente la aparición de dispareunia, acompañada de dolor a la palpación y a la movilización del cérvix y los anexos durante el examen ginecológico.

La *C. trachomatis* infecta primariamente las mucosas ocular y genital. Las infecciones oculares conducen al tracoma, la más importante causa de ceguera prevenible en el mundo. Las infecciones genitales generalmente se resuelven sin secuelas adversas pero en ocasiones progresan hasta una inflamación severa que resulta en infertilidad. La patogénesis de las consecuencias probablemente no se comprende bien, aunque estudios previos sugieren que hay mecanismos inmunológicos comprometidos. Estos estudios proponen que la repetida exposición a los antígenos clamidiales provoca respuestas de hipersensibilidad que llevan a un daño tisular irreversible; las secuelas son particularmente graves debido a que la infección del tracto genital femenino puede a menudo conducir a

Enfermedad Pélvica Inflamatoria (EPI), embarazo ectópico o infertilidad de origen tubárico.

2.5.12 Diagnóstico y Tratamiento

El diagnóstico diferencial está basado en el cuadro clínico, en el análisis del frotis y extendido de flujo vaginal y en el cultivo en medios especializados para el principal microorganismo implicado (*C. trachomatis*), o mediante la utilización de pruebas serológicas:

1. Elisa: Detección de inmunoglobulinas A y G (sensibilidad 95,7%, especificidad 93,1%), se detectan dos antígenos de *Chlamydia trachomatis*: La proteína de Membrana Mayor (MOMP) y un fragmento lipopolisacárido recombinante (rLPS).
2. Inmunofluorescencia Directa: Detección de antígeno (sensibilidad 69,6%, especificidad 97,2%).
3. Amplificación de ADN: Por PCR . Para muestras endocervicales y de orina.
4. Cultivo de células McCoy: Formación de inclusiones de *C. trachomatis*.

Para el manejo de las infecciones no complicadas, existen diversas alternativas disponibles, de comprobada eficacia, que incluyen Doxiciclina, Eritromicina ,

Amoxicilina, Quinolonas (como Ofloxacina) y compuestos Azólidos como azitromicina. Esta última se administra en esquemas ultracortos (dosis única de 1 gramo por vía oral), que ofrecen una eficacia clínica equiparable a la de los regímenes convencionales de 7 a 10 días. Siempre que sea posible, debe hacerse el tratamiento simultáneo de la pareja sexual.

3. FORMULACION DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACION

En la actualidad la infección por *Chlamydia trachomatis* tienen una incidencia mundial anual estimada en 50 millones de casos femeninos. A pesar de que esta infección ha cobrado cada vez más importancia en nuestro país, aun se desconoce la incidencia y prevalencia en nuestro medio, así como las múltiples consecuencias y secuelas que puede originar, desconociéndose el impacto que tiene la *Chlamydia trachomatis* en países subdesarrollados como el nuestro. Pese a ello, las políticas institucionales en las áreas de salud pública y servicios de ginecología han encaminado todos sus esfuerzos en investigación, promoción y prevención de otras enfermedades de transmisión sexual de mayor conocimiento en nuestro medio como lo son, la Sífilis, la Blenorragia, la Condilomatosis, entre otros.

En la última década el SIDA ha cobrado una mayor importancia por considerarse una enfermedad de grave afectación pública, ocupando un alto porcentaje de prevalencia y dejando a un lado entidades como la infección por *Chlamydia trachomatis* la cual tiene como consecuencia grave, la infertilidad.

La frecuencia de la infertilidad en la población femenina es de un 10% a un 30% en el ámbito mundial.

Solo en Europa se obtuvo una tasa de prevalencia de infertilidad de 14.1%, lo que indica que 1 de cada 7 mujeres consulta al medico por infertilidad. (Padrón, 1998)

Una de las causas más comunes de infertilidad, que se puede evitar, son las enfermedades de transmisión sexual, las cuales juegan un papel muy importante en el origen de la esterilidad. Esto es debido a que día a día un mayor número de personas inician desde edades muy tempranas las relaciones sexuales, lo que trae como consecuencia el hecho de que tengan gran cantidad de experiencias sexuales y favorezca la exposición a enfermedades venéreas. (Infomundi, 1996)

La infección por *Chlamydia trachomatis*, es una enfermedad de transmisión sexual, que tiene una trayectoria relativamente asintomática, siendo difícil su diagnóstico y siguiendo su curso, convirtiéndose, su portador en un transmisor de la enfermedad y aumentando así la incidencia en la población general. Debido a esto, lo antes posible debe identificarse esta infección como un problema de salud pública, el cual debe ser incluido dentro de las políticas de control estatales.

Por otro lado, la enfermedad es causa de múltiples afectaciones ginecológicas dentro de las cuales son relevantes la Enfermedad Pélvica Inflamatoria, el embarazo ectópico y la infertilidad de origen tubárico, con sus consecuentes riesgos y costos. (Echaniz, 1992)

Lo que se pretende realizar en este trabajo es un estudio serológico en mujeres infértiles, en las cuales por técnicas inmunoenzimáticas se puede detectar una inmunidad adquirida específica a *Chlamydia*, identificando la inmunoglobulina G (IgG) contra antígenos de *Chlamydia* inactivos.

Al realizar este estudio se plantearon interrogantes importantes, siendo estos puntos de apoyo para sacar conclusiones y para guiarnos en el desarrollo de este proyecto, además serán un punto de partida para los próximos estudios, en cuanto a:

- ¿ En mujeres que han sufrido de infertilidad hay una fuerte asociación con infección ya sea sintomática o asintomática por *Chlamydia trachomatis* ?
- ¿ Es la *Chlamydia trachomatis* un agente causal de Enfermedad Pélvica Inflamatoria en nuestro país?
- ¿ La Enfermedad Pélvica Inflamatoria ha sido un factor causante de infertilidad en la población de Santa fe de Bogotá?

De poderse valorar estos interrogantes y de poderse comprobar con un sustento válido y científico, se estaría proporcionando una gran herramienta en la prevención de enfermedades de transmisión sexual, sobre todo, en las causadas por *Chlamydia trachomatis*; contribuyendo a la disminución de las graves consecuencias que ocasiona, como lo es la infertilidad. También al identificar la enfermedad por *Chlamydia trachomatis* y su asociación con varias patologías se podrían obtener datos epidemiológicos que nos sirvan para la creación de folletos de prevención y que nos guíen para el manejo de estos pacientes en los servicios

de Ginecología y Urología, y de este modo disminuir la incidencia y prevalencia de esta enfermedad, así como sus consecuencias.

En la actualidad esta enfermedad no se considera como un problema de salud pública y por lo tanto no se incurre en los altos costos que tienen las pruebas serológicas. Al demostrar que su valor predictivo evitaría mayores complicaciones, mediante un análisis de costo / beneficio se podrían establecer protocolos que busquen evitar y controlar la infección por *Chlamydia trachomatis*, a los cuales tengan acceso todas las personas, disminuyéndose los costos en atenciones curativas e invirtiendo en prevención de la enfermedad.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la asociación entre la presencia de anticuerpos isotipo IgG contra *Chlamydia trachomatis*, con la ocurrencia de infertilidad en mujeres entre 22 y 40 años de edad, mediante el método inmunoensayo enzimático, utilizando muestras de pacientes atendidas entre mayo y agosto del 2.001 en el servicio de ginecología en dos instituciones de salud en Santafé de Bogotá.

4.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar la frecuencia de anticuerpos isotipo IgG contra *Chlamydia trachomatis* en un grupo de mujeres entre 22 y 40 años, con diagnóstico de infertilidad, que no hayan concebido después de 12 meses sin utilizar ningún método anticonceptivo y compararla con un grupo de mujeres entre 22 y 40 años, que hayan tenido uno o más embarazos espontáneos a término o que estén embarazadas actualmente y que no tengan antecedentes de patología relacionada con *Chlamydia trachomatis*.
- Estimar la fuerza de asociación entre la presencia de anticuerpos isotipo IgG contra *Chlamydia trachomatis* evaluada mediante el método de inmunoensayo enzimático, con la ocurrencia de infertilidad en mujeres atendidas en el servicio de ginecología de la clínica Gestar y del Hospital San Ignacio de Bogotá entre mayo y agosto del 2.001.

- Evaluar las diferencias en los niveles de IgG entre mujeres con antecedentes de infertilidad y mujeres fértiles que hayan tenido uno o más embarazos espontáneos a término, o que actualmente se encuentren embarazadas.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 DISEÑO

El proyecto está basado en un estudio observacional analítico de tipo casos y controles que permite evaluar la frecuencia de asociación entre mujeres que presentan Infertilidad y la presencia de anticuerpos isotipo IgG contra *Chlamydia trachomatis*.

5.2 VARIABLES

- Variable No 1. Diagnóstico de infertilidad; entendida como la incapacidad de concebir después de 12 meses sin utilizar ningún método anticonceptivo.

Se toman 2 categorías:

1. SI: Casos: pacientes que presentaron infertilidad según diagnóstico

2. NO: Controles: Mujeres (fértiles) que hayan tenido uno o más embarazos espontáneos a término o que se encuentren embarazadas y que no tengan antecedentes relacionados a patología por *Chlamydia trachomatis*.

- Variable No 2. Nivel de anticuerpos isotipo IgG contra *Chlamydia trachomatis*.

Se toman 2(dos) valores:

1.El valor exacto del resultado obtenido tanto en pacientes como en controles.

2. La categorización dada como:

| TITULOS INMUNOCOMB | INTERPRETACIÓN |
|--------------------|-----------------|
| <1:16 | NEGATIVO |
| 1:16 | POSITIVO LEVE |
| >1:32 | POSITIVO |
| 1:64 | POSITIVO FUERTE |

Otras variables de interés son:

Edad: Grupo etéreo de la población a estudio.

Gestaciones: Número de embarazos

Partos: Número de hijos nacidos.

5.3 FORMULACION DE HIPÓTESIS

- Se encontrarán diferencias significativas en los promedios de anticuerpos *antichlamydia trachomatis* isotipo IgG entre las pacientes con Infertilidad y mujeres fértiles que no presentaron dicha patología.
- Se encontrará asociación significativa entre los niveles categóricos de IgG y la ocurrencia de infertilidad.

5.4 POBLACION

5.4.1 Población de Referencia

Mujeres con edades comprendidas entre los 22 y 40 años.

5.4.2 Población Blanco

Mujeres fértiles e infértiles de Bogotá entre los 22 y 40 años

5.4.3 Población de Estudio

Mujeres infértiles y fértiles de Bogotá, entre los 22 y 40 años de edad que asisten a control ginecológico de la clínica Gestar y el Hospital San Ignacio de Bogotá.

Estas mujeres llenaron los siguientes requisitos:

Criterios de inclusión para pacientes que ingresan al estudio:

a. Que tengan antecedentes de infertilidad

- Que estén entre 22 y 40 años de edad
- Que pertenezcan a la consulta de infertilidad de la clínica Gestar y el Hospital San Ignacio.
- Que tengan un compañero sexual estable.
- Que no tengan antecedentes quirúrgicos en órganos pélvicos.
- Para las pacientes de infertilidad secundaria que el último parto o aborto de causa conocida, tenga más de dos años.

b. Grupo control: Que tenga fertilidad comprobada reciente.

- Que tengan entre 22 y 40 años de edad-
- Que cursen un embarazo en la actualidad.
- Que hayan tenido embarazo a término hace menos de un año y que no tengan DIU.
- Que tengan un compañero sexual estable.
- Que no tengan antecedentes de Enfermedad Pélvica Inflamatoria reciente.

Criterios de Exclusión para Pacientes Infértiles

- Que no estén en el rango de edad
- Que hayan recibido tratamiento para infección pélvica los últimos seis meses.
- Que no cumplan los criterios de inclusión.

Criterios de exclusión para las pacientes fértiles:

- Que no estén en el rango de edad.
- Que tengan antecedentes recientes de Enfermedad Pélvica Inflamatoria
- Que no cumplan los criterios de inclusión.

Las muestras fueron recolectadas entre enero y agosto del 2001 en dos instituciones de salud ubicadas en Santafé de Bogotá, obteniendo 40 muestras de mujeres infértiles en la clínica Gestar como casos y como controles se tomaron en el Hospital San Ignacio 40 muestras de mujeres (fértiles) que hayan tenido uno o más embarazos a término o que estén embarazadas.

En total se recogieron 80 muestras; los dos grupos (casos y controles) decidieron participar en el estudio mediante la firma del consentimiento informado en el cual se les dio a conocer la investigación. Las muestras se les fueron congeladas tanto a pacientes como a controles a -20°C para posteriormente procesarlas y analizar los resultados.

5.5 RECLUTAMIENTO DE SUJETOS

De las mujeres de la población de estudio, se adquirió su consentimiento por escrito para participar (ver anexo) y se obtuvieron los datos necesarios a través de un formulario entregado y diligenciado personalmente. (Anexo)

5.6 METODOLOGIA

El kit inmunocomb *Chlamydia trachomatis* IgG, se basa en el principio del ensayo inmunoenzimático de fase sólida para la detección de anticuerpos IgG antichlamydia *trachomatis* en suero humano, para uso in Vitro, de la casa comercial israelí ORGENICS LTD.

5.6.1 Principios del test

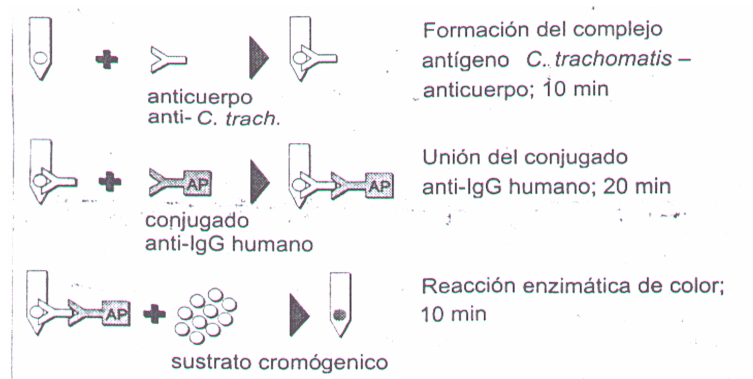
La detección serológica de los anticuerpos contra *Chlamydia* constituye un método más conveniente e incluso altamente sensible para el diagnóstico de infecciones clamidiales, facilitando también el diagnóstico en los casos en que el acceso físico es problemático.

En la mayoría de las pruebas, sin embargo, la reactividad entre las especies impide la interpretación clínicamente significativa de los resultados. La prueba micro-inmunofluorescencia (MIF), permite la discriminación entre las especies.

El peine ImmunoComb funciona como la fase sólida y consta de 12 proyecciones (dientes) sensibilizadas con antígenos inactivados de *C. trachomatis* (punto inferior) e inmunoglobulina humana (punto superior, sirviendo de control interno para verificar el funcionamiento apropiado de los reactivos del kit. Todas las soluciones reactivas necesarias para la realización de la prueba están contenidas en los pocillos de las bandejas de desarrollo, que tiene 6 filas (A-F) de 12

pocillos. La prueba es realizada pasando el peine sucesivamente de fila en fila de la bandeja en desarrollo.

Las muestras de suero o plasma son depositadas en la fila A de la bandeja de desarrollo. La reacción antígeno-anticuerpos se produce cuando se inserta el peine ImmunoComb en los pocillos, donde los anticuerpos contra *C.trachomatis* se unen al punto receptor inferior en la fase sólida. Luego de una etapa de lavado para remover los materiales no unidos (fila B), el peine es transferido a la fila C, que contiene un conjugado fosfatasa alcalina-IgG anti-humano, que se une con el complejo antígeno-anticuerpo. El peine luego pasa por dos etapas sucesivas de lavado (filas D y E), y es llevado a la fila F del sustrato cromogénico (que contiene BCIP y NBT) para la visualización de los anticuerpos unidos en forma de puntos grises.



Gráfica No 9: PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El kit incluye un control positivo (IgA anti *C. trachomatis*) y un control negativo, que deben incluirse cada vez que se realiza la prueba. Al término de esta, el

diente usado con el control positivo debe mostrar dos puntos de color azul grisáceo y el diente usado con el control negativo debe mostrar solamente el punto superior. Este punto también debe aparecer en los demás dientes para confirmar que el kit funciona apropiadamente y que la prueba fue realizada correctamente.

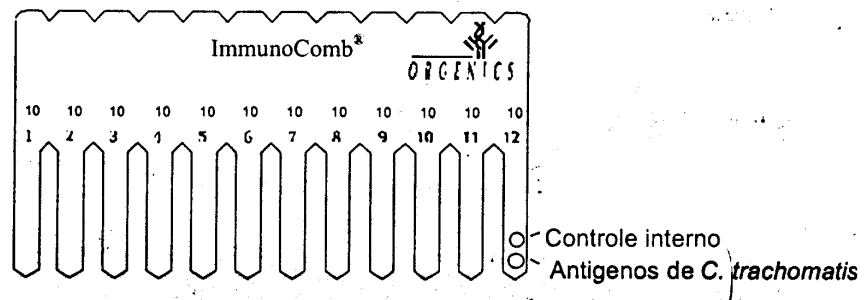
5.6. 2 Contenido del Kit

Peines:

El kit contiene 3 peines de plástico. Cada peine tiene 12 dientes, un diente para cada prueba. Cada diente está sensibilizado con dos áreas reactivas:

Punto superior- anticuerpos de cabra contra inmunoglobulina humana

Punto inferior - antígenos de *C. trachomatis*.



Gráfica No 10: PEINE

Los peines son suministrados en empaques de aluminio conteniendo una bolsa desecante.

Bandejas de Desarrollo:

El kit contiene 3 bandejas de desarrollo cubiertas con papel de aluminio. Cada bandeja de desarrollo contiene todos los reactivos necesarios para la prueba. La bandeja de desarrollo consiste en 6 filas (A-F) de 12 pocillos cada una.

Los contenidos de cada fila son los siguientes:

Fila A Diluyente de las muestras

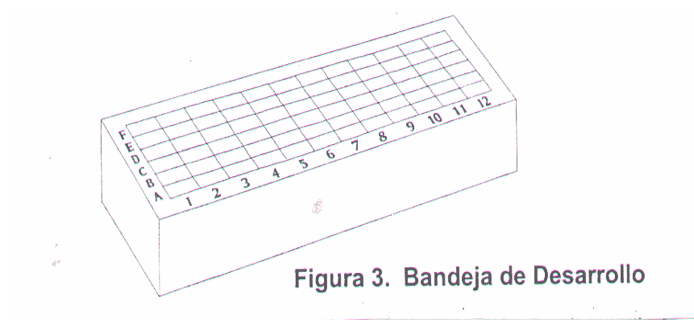
Fila B Solución de lavado

Fila C Anticuerpos de cabra IgG anti-humana conjugados con fosfatasa alcalina.

Fila D Solución de lavado

Fila E Solución de lavado

Fila F Solución de sustrato cromogénico conteniendo 5bromo-4-cloro-3-indolil fosfato (BCIP) y nitro azul tetrazolio (NBT)



Gráfica No 11. BANDEJAS DE DESARROLLO

Control Positivo: 1 frasco (tapa roja) de plasma humano (inactivado con calor), diluido a un título de ImmunoComb de 1:32 anti-*C.trachomatis* IgG.

Control Negativo: 1 frasco (tapa verde) de plasma humano (inactivado con calor) negativo para anticuerpos contra *C.trachomatis*.

Perforador Desechable: Para perforar la cubierta de aluminio de los pocillos de la Bandeja de Desarrollo.

CombScale: Una escala de color que permite la cuantificación visual de los resultados de la prueba.

5.6.3 Seguridad y Precauciones

- a. Para uso diagnóstico "in Vitro" únicamente.
- b. Todos los materiales de origen humano usados en la preparación del kit pasaron pruebas que demostraron que no son reactivos al antígeno de superficie de la hepatitis B, así como a anticuerpos de HIV o el virus de la hepatitis C. Ya que ningún método puede garantizar por completo la ausencia de contaminación viral, todas las soluciones de referencia y todas las muestras humanas deben ser manejadas como si fueran potencialmente infecciosas.
- c. Usar guantes quirúrgicos y ropas de laboratorio adecuadas. Seguir los procedimientos de laboratorio aceptados para el trabajo con suero o plasma humano.
- d. No usar la pipeta aspirando con la boca.

- e. Desechar todas las muestras peines usados, bandejas de desarrollo y otros materiales usados con el kit como desechos biocontaminantes.
- f. No utilice reactivos de lotes diferentes.
- g. No usar el kit después de la fecha de caducidad.

5.6.4 Almacenamiento de los reactivos

Los reactivos se almacenaron en el kit en su caja original a temperatura de 2°C a 8°C.

Bajo estas condiciones el kit permanece estable hasta la fecha de caducidad indicada en el kit.

Las pruebas fueron realizadas en suero, las muestras altamente lipémicas o hemolizadas que pudieran dar falsos resultados fueron descartadas y tomadas posteriormente.

Las muestras fueron almacenadas a temperaturas de 2°C a 8°C, por 24 horas antes de la prueba. Las muestras que no fueron procesadas dentro de este intervalo fueron congeladas por siete días a -20°C, mientras su proceso. Después de descongelar las muestras de suero, fueron centrifugadas.

5.6.5 Procedimiento de la prueba

Se colocaron todos los reactivos a temperatura ambiente y la prueba se realiza a la misma temperatura (22° - 26 °C)

Posteriormente preparamos la bandeja de desarrollo:

1. Preincubamos la bandeja de desarrollo en un incubador a 37°C por 30 minutos.
2. Cubrimos la mesa de trabajo con papel absorbente, para luego ser desechado como desecho biocontaminante cuando concluimos la prueba-
3. Mezclamos los reactivos sacudiendo la bandeja de desarrollo.

A continuación preparamos el peine:

Para asegurar el procedimiento de la prueba los dientes del peine no fueron tocados.

1. Abrimos el empaque de aluminio por el borde perforado. Retiramos el peine.

5.6.6 Instrucciones para la prueba

Reacción antígeno-anticuerpo:

1. Pipeteamos 10 µl de la muestra. Perforamos la cubierta de aluminio de un pocillo de la fila A de la Bandeja de Desarrollo con el perforador, luego agregamos la muestra en el fondo del pocillo. Mezclamos rellenando y vaciando la solución en el pocillo varias veces con la pipeta. Descartamos la punta de la pipeta.

2. Repetimos el paso No 1 para las otras muestras prediluidas y los dos controles. Utilizando un nuevo pocillo en la fila A y cambiando la punta de la pipeta para cada muestra y control.
3. a) Insertamos el peine (con el lado impreso hacia nosotros) en los pocillos de la fila A. Mezclamos, retiramos e insertamos el peine en los pocillos varias veces para eliminar las burbujas de aire.
b) Incubamos por 10 minutos a temperatura ambiente. Hacia el fin de la incubación se perforó la cubierta de aluminio de los pocillos de la fila.

B con el perforador.

- c) Al cabo de los 10 minutos, se retiró el peine de la fila A, lo apoyamos sobre un papel absorbente limpio sin tocar la superficie del peine.

Primer lavado (fila B):

4. Insertamos el peine en los pocillos en la fila B. Incubamos por 2 minutos. Agitamos, retiramos e insertamos vigorosamente el peine en los pocillos periódicamente para que quedara bien lavado. Perforamos el papel aluminio de la fila C. Retiramos el peine y se absorbió el líquido adherido como en el paso 3c.

Unión del Conjugado (fila C):

5. Insertamos el peine en los pocillos de la fila C. Mezclamos como en el paso 3. Incubamos la Bandeja de Desarrollo con el peine por 20 minutos a temperatura ambiente. Perforamos el papel aluminio de la fila D. Luego de 20 minutos, retiramos el peine y absorbimos el líquido adherido.

Segundo Lavado (fila D):

6. insertamos el peine en los pocillos de la fila D. Incubamos por 2 minutos. Agitamos como en el paso 4. Mientras tanto, perforamos el papel aluminio de la fila E. Al cabo de los 2 minutos, retiramos el peine y se absorbió el líquido adherido.

Tercer Lavado (fila E):

7. Insertamos el peine en los pocillos de la fila E. Incubamos por 2 minutos. Agitamos como en el paso 4. Mientras tanto, perforamos el papel aluminio de la fila F. Al cabo de los 2 minutos, retiramos el peine y se absorbió el líquido adherido.

Reacción de color (fila F):

8. Insertamos el peine en los pocillos de la fila F. Mezclamos. Incubamos la Bandeja de Desarrollo con el peine por 10 minutos a temperatura ambiente. Luego de 10 minutos retiramos el peine.

Detención de la reacción (fila E):

9. Insertamos el peine de nuevo en la fila E. Luego de 1 minuto, retiramos el peine y secamos al aire.

5.6.7 Resultados de la Prueba

Validación:

Al fin de confirmar el funcionamiento correcto de la prueba y demostrar que los resultados son válidos, deben cumplirse las siguientes tres condiciones:

- El control positivo debe producir dos puntos en el diente del peine indicado el funcionamiento apropiado de los reactivos del kit.
- La señal del punto inferior del control positivo debe ser mínimo “30” cuando es medida usando el programa 91 del reflectómetro CombScan (aproximadamente igual al segundo rectángulo coloreado contando desde la izquierda, cuando es medida con el CombScale.
- El control negativo debe producir un punto superior (control interno) El punto inferior debe no aparecer o aparecer tenuemente, sin afectar la interpretación de los resultados.
- Cada muestra probada debe producir un punto superior confirmando el funcionamiento apropiado de los reactivos del kit. Si ninguna de las tres condiciones se cumple, los resultados son inválidos y las muestras y controles deben ser reevaluados.



Gráfica No 12: VALIDACIÓN DE LA PRUEBA.

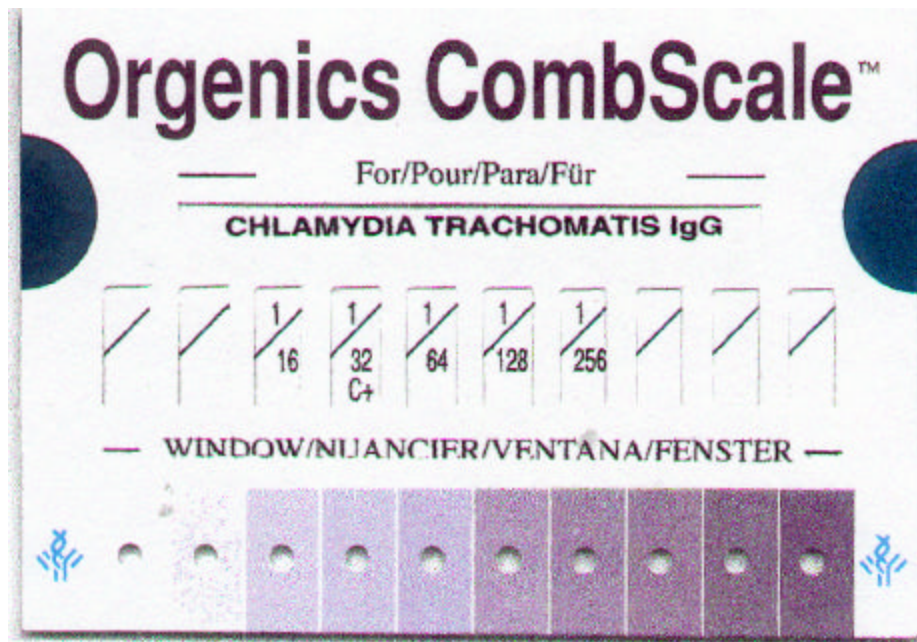
5.6.8. Interpretación cuantitativa de los resultados.

Interpretación Visual:

El título de anti-*C.trachomatis* presente en cada muestra es determinado comparando la intensidad de color del punto inferior de cada diente de la muestra con la escala de color del CombScale proporcionada en el kit. Este procedimiento se lleva a cabo de la siguiente manera:

1. Calibración del CombScale: Colocamos el punto inferior del diente usado con el control positivo bajo la escala de color en la posición con la intensidad del color más similar. Ajustamos la regla hasta que aparezca la marca de “1-32 C+” en la ventanilla sobre la posición del color seleccionada.

2. Leímos los resultados sin cambiar de posición de la regla. Comparamos la intensidad de color de cada punto inferior con la intensidad de color más similar a la escala de color. Registramos la lectura del título que aparece sobre la ventanilla como el nivel aproximado de anti-*C.trachomatis* IgG para la muestra.



Gráfica No 13: COMBSCALE.

Lectura Instrumental de los resultados.

El reflectómetro CombScan permite la medición rápida y objetiva de la intensidad del color de los puntos del ImmunoComb. Usamos el programa #92 del CombScan (absorbancia relativa), y especificamos la lectura del punto inferior únicamente. Las unidades de absorbancia relativa obtenidas luego son convertidas a niveles de título de ImmunoComb de acuerdo a la tabla 6.

| ABSORVANCIA RELATIVA, PROGRMA #92 | NIVEL DE TITULO IgG ANTI- CHLAMYDIA |
|--------------------------------------|--|
| 0-650 | Negativo |
| 651-848 | 1:16 |
| 849-1203 | 1:32 |
| 1204-1615 | 1:64 |
| 1616-2027 | 1:128 |
| 20-28-2999 | 1:256 |
| 3000 | 512 |

Tabla 4: LECTURA INSTRUMENTAL DE LOS RESULTADOS

- Los títulos ImmunoComb generalmente son comparables a los títulos de microinmunofluorescencia.

| TITULOS IMMUNOCOMB | INTERPRETACION |
|---|---|
| <1:16 | Negativo |
| 1:16 | Positivo Leve |
| >1:32 | Positivo |
| 1:64 o un incremento de 4 veces en el título de la muestra. | Positivo Fuerte, que indica una infección activa de <i>chlamydia tachomatis</i> |

Tabla No 5: ESPECIFICIDAD DE LOS ANTICUERPOS Y NIVEL DE TÍTULOS

5.6.9 Limitaciones

Al igual que otras pruebas ideadas para ser usadas en diagnóstico in Vitro, los resultados de esta prueba deben ser evaluados con relación a la sintomatología, el historial clínico y otros parámetros del paciente.

5.6.10 Sistema Analítico

Según la casa comercial irlandesa Orgenics, el reactivo utilizado para la detección de anticuerpos antichlamydia trachomatis isotipo IgG presenta una sensibilidad del 100% y una especificidad del 96%.

5.7 RECOLECCION DE DATOS

Análisis Estadístico: Para cada paciente fue elaborado un formato de registro, orientado hacia los antecedentes que nos dieran pauta para dar criterio de inclusión o exclusión del estudio, de igual manera se solicitó permiso para la manipulación de las muestras mediante la firma de un consentimiento informado que fue repartido tanto a pacientes como a controles.

5.7.1 Objetivos de la Encuesta

- Obtener información general sobre identificación, edad e historia ginecológica para la correcta clasificación de las pacientes.
- Conocer antecedentes que tengan que ver con Infertilidad (por ejemplo antecedentes de enfermedades de transmisión sexual, utilización de métodos anticonceptivos, etc)
- Estandarizar los datos que se van a obtener de cada una de las pacientes encuestadas.
- Obtener información sobre enfermedades infecciosas que hayan tenido las pacientes, diferentes a *Chlamydia* y que puedan sesgar el estudio.

6. RESULTADOS

La muestra total estudiada fue de 80 mujeres, 40 casos con diagnóstico de infertilidad tomadas de la clínica Gestar y 40 controles fértiles tomadas del Hospital San Ignacio entre mayo y agosto del 2001. El promedio de edad en el grupo de casos fue de 33.6 años y el promedio de edad del grupo control de 30.1 años encontrándose diferencias estadísticas significativas. $P < 0.05$

En relación con el diagnóstico de infertilidad o fertilidad en las participantes del estudio se observó similitud en las edades de la menarca de los casos (media 13.3 años) y los controles (13.1 años) $p > 0.05$. (Tabla No 8) La media para el número de abortos en los casos fue mayor que en los controles más de un aborto por mujer en los casos (1.41 y 1 respectivamente) $p < 0.05$. La media en el número de gestaciones para los casos y los controles fue de (0.6 y 1.8 respectivamente) siendo mayor para los controles $p < 0.05$.

En cuanto a los resultados obtenidos al aplicar el test *Chlamydia trachomatis* IgG en el grupo de los casos el 52.5% (21/40) presento anticuerpos Anti-*Chlamydia trachomatis* isotipo IgG y en el grupo de los controles el 37.5% 15/40. Se encontró resultados negativos en el 47,5% (19/40) de los casos y en el 60% (24/40) de los controles.

El kit nos otorgaba la posibilidad de mostrar los resultados de forma más específica según el título de anticuerpos, de forma tal que diferenciamos el factor

positivo en: positivo leve, positivo y positivo fuerte. En nuestro estudio asumimos los positivos leves, positivos y positivos fuertes como la categorización positiva para *Chlamydia*.

| EDAD | NEGATIVO | POS. LEVE | POSITIVO | POS.FUERTE |
|---------|----------|-----------|----------|------------|
| 22 – 26 | 1 | 0 | 0 | 2 |
| 27 – 31 | 4 | 1 | 0 | 4 |
| 32 – 36 | 10 | 1 | 2 | 3 |
| 37 – 41 | 4 | 2 | 0 | 6 |
| TOTAL | 19 | 4 | 2 | 15 |

Tabla No 6 DIFERENCIACIÓN DEL FACTOR POSITIVO EN: POSITIVO LEVE, POSITIVO Y POSITIVO FUERTE EN EL GRUPO DE CASOS.

| EDAD (años) | NEGATIVO | POS. LEVE | POSITIVO | POS.FUERTE |
|-------------|----------|-----------|----------|------------|
| 22 – 26 | 7 | 1 | 1 | 5 |
| 27 – 31 | 7 | 1 | 2 | 2 |

| | | | | |
|---------|----|---|---|----|
| 32 – 36 | 5 | 0 | 0 | 0 |
| 37 – 41 | 5 | 0 | 1 | 3 |
| TOTAL | 24 | 2 | 4 | 10 |

Tabla No 7: DIFERENCIACIÓN DEL FACTOR POSITIVO EN: POSITIVO LEVE, POSITIVO Y POSITIVO FUERTE EN EL GRUPO DE CONTROLES.

La mayor proporción de casos positivos para anticuerpos *Anti-Chlamydia trachomatis* en el grupo de casos (mujeres infértiles) se encontró en el rango de edad de 37 a 40 años; con un 38,1%. Mientras que para el grupo control (mujeres fértiles) el rango de edad para la mayor proporción de casos positivos estuvo entre los 22 a 26 años, con un 43.75%.

Del grupo en estudio, 22 mujeres no habían tenido gestaciones, 31 habían tenido una gestación, 18 dos gestaciones, 6 tres gestaciones y tres cuatro gestaciones. De las 31 mujeres que habían presentado una gestación, el 64.52% estaba negativo para anticuerpos *Antichlamydia* y el 35.48% positivo.

En cuanto al historial de abortos, 19 mujeres presentaron mínimo un aborto, de estas el 57.9% fueron positivas para anticuerpos anti-*Chlamydia trachomatis*.

Del total de mujeres encuestadas a 15 se les había practicado al menos una cesárea y de estas el 60% estaban negativas para anticuerpos anti-*Chlamydia trachomatis* y el 40% positivas.

De las mujeres que tenían ciclos normales de (30 y 28 días) el 46.13% presentaron resultado positivo para anticuerpos anti-*Chlamydia* y de las mujeres que tenían ciclos irregulares el 57.89% .

Del grupo control, 39 mujeres no habían tenido antecedentes quirúrgicos, y una fue operada de quiste ovárico. De los casos, 29 mujeres no han tenido antecedentes quirúrgicos, 1 fue operada de quiste ovárico, 9 con laparoscopia y 1 fue operada de hernia.

De las 12 mujeres en total que tienen antecedentes quirúrgicos, 58.33% estaban positivas para *Chlamydia* y el 41.67% negativas.

El 100% de las mujeres que estaban positivas para anticuerpos Anti-*Chlamydia trachomatis*, presentaban un curso asintomático de la enfermedad.

TABLA No 8**FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A INFERTILIDAD
BOGOTA, 2001**

| | Minima | Máxima | Media | Ds | P |
|--------------------|---------------|---------------|--------------|--------------|------------------------------|
| Edad de la menarca | | | | | |
| Casos | 11 | 16 | 13.3 | 1.159 | 0.456 |
| <hr/> | | | | | |
| Controles | 11 | 17 | 13.1 | 1.244 | |
| Número de Partos | | | | | |
| Casos | 0 | 1 | 0.17 | 0.38 | 1.17x10⁻¹² |
| <hr/> | | | | | |
| Controles | 0 | 4 | 1.5 | 0.93 | |

Número de Abortos

| | | | | | |
|--------------|----------|----------|-------------|-------------|---------------|
| Casos | 0 | 4 | 1.41 | 0.90 | 0.0051 |
| Controles | 0 | 1 | 1 | 0 | |

Número de Cesáreas

| | | | | | |
|--------------|----------|----------|----------|----------|---------------|
| Casos | 0 | 1 | 1 | 0 | 0.0002 |
| Controles | 0 | 2 | 1.3 | 0.49 | |

Número de Gestaciones

| | | | | | |
|--------------|----------|----------|------------|--------------|----------------------------|
| Casos | 0 | 1 | 0.6 | 0.837 | 2.9x10⁻⁸ |
| Controles | 1 | 4 | 1.8 | 0.91 | |

En la (tabla No 9) se presentan los resultados del análisis bivariado de los factores de riesgo mencionados, el riesgo de infertilidad es menor en las mujeres que han tenido ciclos regulares (OR 0.12 IC95% 0,02-0,52), en cuanto a número de abortos e infección previa por *Chlamydia trachomatis* se encontró asociación con el desarrollo de infertilidad.

TABLA No 9
**MODELO BIVARIADO DE FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A INFERTILIDAD
 BOGOTÁ, 2001**

| | Casos | Controles | OR | IC 95% |
|---|--------------|------------------|--------------|-------------------|
| Antecedentes quirúrgicos en órganos pélvicos | | | | |
| SI | | | 10 | 1 |
| | | | 13.00 | 1.55-286.4 |
| <hr/> | | | | |
| NO | | | 30 | 39 |
| Abortos | | | | |
| SI | | | 12 | 7 |
| | | | 2.,02 | 0,63-6,66 |
| <hr/> | | | | |
| NO | | | 28 | 33 |
| Ciclos | | | | |
| Normales cada 28 o 30 días | | | 24 | 37 |
| | | | 0.12 | 0.02-0.52 |
| <hr/> | | | | |
| Irregulares | | | 16 | 3 |
| <i>Chlamydia trachomatis</i> | | | | |
| Positivo | | | 21 | 15 |
| | | | 1.84 | 0.69-4.97 |
| <hr/> | | | | |
| Negativo | | | 19 | 25 |

Después de la investigación realizada y de haber efectuado las operaciones estadísticas pertinentes se obtuvo finalmente un OR de **1.84** ($0.69 < OR < 4.97$), con un intervalo mínimo de 0,64 y un intervalo máximo de 4.97 para la presencia del anticuerpo anti-*Chlamydia trachomatis* y la infertilidad.

7. DISCUSION

La infección por *Chlamydia trachomatis* es frecuentemente asintomática y por lo tanto puede pasar sin tratamiento, lo cual trae por consecuencia infecciones persistentes y recurrentes, las cuales permiten una estimulación crónica del sistema inmune del huésped. En nuestro estudio se encontró que el 100% de las mujeres positivas para anticuerpos antichlamydia tenían un curso asintomático de la enfermedad, lo cual se correlaciona con los datos reportados por Echaniz, 1996 en un estudio hecho en México en donde encontraron que (51,5%) de las mujeres colonizadas con *C. trachomatis* se encontraban totalmente asintomáticas.

En nuestro estudio no se pudo demostrar que existía alguna asociación entre el número de casos positivos de *Chlamydia* con la infertilidad (OR 1.84) lo cual no tiene significado estadísticamente, sin embargo no dejamos a un lado la posibilidad de que haya una relación entre la *Chlamydia trachomatis* como causante de la infertilidad, ya que las mujeres infértiles están con mayor positividad que las mujeres fértiles, lo cual se relaciona con un estudio hecho por (Velásquez, 1998) en el que se encontró que los continuos inóculos con *Chlamydia trachomatis*, generan una respuesta inmune que termina dañando el tejido y conduce a la infertilidad.

Es importante anotar que los resultados negativos de las pacientes no siempre indican ausencia de la enfermedad por *Chlamydia trachomatis*, pues la toma de muestra puede haber sido realizada al inicio de la seroconversión; y además la detección de IgG anti*chlamydia trachomatis* debe ser asociada con los datos clínicos y biológicos de la paciente. Además existen métodos más específicos como PCR, cultivos de células Mc Koy (Ault, 1998) que se pueden utilizar en caso dado para comprobar un resultado.

Sin embargo cabe anotar que los estudios serológicos son de más fácil acceso, no tan costosos y nos ayudan a subclasificar las pacientes.

La continua exposición a la Enfermedad Pélvica Inflamatoria y su tratamiento tardío aumentan el riesgo de infertilidad. Westrom y Mardh monitorearon una cohorte de mujeres a quienes se les comprobó EPI por laparoscopia y encontraron que las mujeres que habían padecido un solo episodio de EPI mostraban 6,1% como tasa de infertilidad, mientras que en las que habían tenido tres o más episodios la tasa de infertilidad llegó a un 54%. (Velásquez, 1998)

Al analizar los datos de las pacientes el rango de edad para las positivas del grupo control (mujeres fértiles) es de 22-26 años lo que se relaciona con el estudio realizado por (Calderón, 1992), en donde el promedio de edad de las mujeres positivas fue de 25 años, lo que nos afirma que una mujer que ha

iniciado tempranamente su vida sexual, tiene un riesgo importante de estar colonizada por *C. trachomatis*.

Estudios realizados anteriormente encontraron que la infección persistente por *Chlamydia* tiene un porcentaje significativo en infertilidad masculina y femenina (Minassian, 1998), corroborando lo descrito por Minassian, nosotros encontramos que el 52.5% (21/40) de los casos (mujeres infértiles) presentaban títulos positivos para anticuerpos anti-*Chlamydia trachomatis* isotipo IgG, lo que al compararlo con los controles 37.5% (15/40), muestra que hay un aumento significativo de un 12.5 %. Demostrando la relación existente entre la bacteria causante de la patología y su complicación la infertilidad.

La importancia de este estudio se basa no sólo en los resultados sino también en la posibilidad de ser un fundamento para la creación de nuevos estudios, con una muestra mayor y en los que se pueda hallar un dato estadístico significativo que muestre claramente la gran relación de la *C. trachomatis* como causante de infertilidad.

8.CONCLUSIONES

Aunque los resultados obtenidos mostraron que las mujeres Infértiles tenían un porcentaje mayor de positividad para anticuerpos antiChlamydia trachomatis isotipo IgG con relación a las mujeres fértiles, no se halló una asociación estadísticamente significativa para corroborar la relación existente entre la *Chlamydia* y la Infertilidad. La relación existente se puede verificar realizando un estudio similar pero con una muestra mayor, para que confirme la hipótesis que existe una asociación entre *Chlamydia trachomatis* e infertilidad.

Con los datos obtenidos por medio de la investigación se llegó a la conclusión que debido al transcurso asintomático que tiene la enfermedad esta se encuentra activa por largo tiempo en mujeres que consultan por infertilidad por encima de los 36 años, ocasionándoles daños en su sistema reproductor. Esto se podría prevenir realizando una detección precoz de valores positivos para IgG de *Chlamydia trachomatis*, suministrando a tiempo un tratamiento con antibióticos específicos que disminuyan la prevalencia de esta bacteria en la población femenina

Las mujeres que inician muy temprana su vida sexual, tiene más riesgo de estar colonizada por *Chlamydia trachomatis*.

Las mujeres fértiles positivas para anticuerpos anti-*Chlamydia trachomatis*, muy probablemente adquirieron la infección después del parto y están asintomáticas.

Las mujeres fértiles posiblemente tuvieron en el pasado una EPI asintomática que no dejó secuelas.

La detección de anticuerpos anti-*chlamydia trachomatis* facilita los resultados al ser un método rápido que nos guía en la documentación de resultados en las mujeres infértiles, ya que un porcentaje alto de la infertilidad se debe a la presencia de anticuerpos (autoinmunidad).

La detección de anticuerpos facilita el diagnóstico en los casos en que el acceso físico es problemático .

9. RECOMENDACIONES

- El presente estudio sirve como base para futuras investigaciones, que permitan encontrar una mayor asociación entre la infección por *Chlamydia trachomatis* y la infertilidad, tomando una muestra mayor en varias instituciones de salud.
- Este estudio debe ser la base para la obtención de datos epidemiológicos que sirvan para la creación de programas de manejo de la infección por *Chlamydia trachomatis*, en los servicios de Ginecología y Urología, y de este modo disminuir la incidencia y prevalencia de esta infección, sus complicaciones y secuelas.
- Con este estudio esperamos incentivar la realización de otras investigaciones no sólo en Bogotá sino en Colombia entera.
- Hacer un seguimiento a las mujeres fértiles positivas (IgM).
- Un nuevo estudio pero con pacientes que tengan infertilidad por Factor Tubárico para evidenciar la infección por *Chlamydia trachomatis*.

BIBLIOGRAFÍA

- Aschwanden C. *Chlamydia's Secrets laid bare*. American Association for the Advancement of Science, 1998; Octubre 22.
- Ault K, Statland B, King M, Joachims M, Gunter J. *Antibodies to the Chlamydial 60kDa Heat Shock Protein in Women with Tubal Factor Infertility Dept of Obstetrics and Gynecology*. University of Iowa. *Infect Dis Obstet Gynecol*, 1998, 6/4 (163-167).
- Belsey, M.A. ADD H WARE: *Epidemiological, social and psychosocial aspects of infertility in insler, v. and B. Lunanfeld (eds) infertility: Male and female*. Editorial Churchill Livingstone, Singapur, 1986. 631-645.
- Botero J, Jubiz A, Henao G. *Obstetricia y ginecología: texto integrado*. Medellín: Universidad de Antioquia. Carvajal S.A. Sexta Edición. 1999.
- Brinsden P. *In vitro fertilization and assisted reproduction*. Londres: Parthenon Publishing. 2da Edition. 1999.
- Brooks G, Morse S, Butel J. *Microbiología Médica de Jawetz*. México: Editorial El Manual Moderno, S.A. 16va Edición. 1999.
- Calatroni C, Ruíz V, Tozzini R. *Ginecología*. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana. 3ra Edición. 1994.
- Carmona, Fabio. *Modelo animal con la biovariedad murina de Chlamydia Trachomatis*. Cali: Universidad del Valle.
- Chrysostomou M, Karafyllid P, Papadimitriov, Bassiotou V, Mayakos G. *Serum Antibodies to Chlamydia Trachomatis in Women with Ectopic Pregnancy, Normal Pregnancy or Salpingitis*. Department of Gynecology, General Hospital Athens, Greece. *Eur j Obstet Gynecol Reprod Biol*, 1992,44/2 (101-105).
- Copeland L, Jarrell J, McGregor J. *Ginecología*. Buenos Aires Editorial Médica Panamericana. 1994.
- Dieterle S, Rummel C, Bader LW, Petersen H, Fenner T. *Presence of the major outer membrane protein of Chlamydia Trachomatis in patients with chronic salpingitis and salpingitis isthmica with tubal occlusion*.

- Domeika M, Domeika K, Paavonen J, Mardh PA, Witkin SS. *Humoral Immune Response to Conserved Epitopes of Chlamydia Trachomatis and human 60-kDa Heat-Shock protein in Women with Pelvic Inflammatory Disease*. Institute of Clinical Bacteriology, Uppsala University and Division of Immunology. The Journal of Infectious Diseases. 1998;177:
- Duran, Rubens. *Infertilidad Femenina*. La Habana: Editorial Científico-Técnica, 1998.
- Echaniz GA, Calderón ER, Carnalla NO, Soto AR. *Prevalencia de infección cervicovaginal por Chlamydia Trachomatis en población femenina*. Salud Pública de México. Vol 34. 1992. Mayo.
- Gérard HC, Branigan PJ, Balsara GR, Heath C, Minassian SS, Hudson AP. *Viability of Chlamydia Trachomatis in fallopian tubes of patients with ectopic pregnancy*. Fertility and Sterility, 1998.
- Gómez, Gustavo. *Endocrinología reproductiva e infertilidad*. Cali: Editorial Artes Gráficas Univalle. 1999.
- Ham A. *Tratado de Histología*. México: Editorial Interamericana. Séptima Edición. 1980.
- Hammerschlag, MD, Traductora: Perazic, Andjelka. *Nuevos diagnósticos para la infección por Chlamydias en la mujer*.
- Hilles SD, Owens LM, Marchbanks PA, Amsterdam LE, Mackenzie WR. *Recurrent Chlamydial infections increase the risk of hospitalization for ectopic pregnancy and pelvic inflammatory disease*. Am J Obstet Gynecol, 1997; 176(1):
- Hillis SD, Wasserheit JN, *Screening for Chlamydia- A key to the prevention of pelvic inflammatory disease*. The New England Journal of Medicine, 1996.
- Koneman E. *Diagnóstico Microbiológico, Texto y Atlas a Color*. Argentina: Editorial Médica Panamericana. 15va Edición 1999.
- La verda D, Albanese LN, Ruther PE, et al. *Seroreactivity to Chlamydia Trachomatis Hsp 10 correlates with severity of human genital tract disease*, Department of Medical Microbiology and Immunology, University of Wisconsin. Madison, Madison, Wisconsin. Infect Immun. 2000, Enero, 68(1):
- Madrid: Mc Graw-Hill. Interamericana. Vol II. 1998.

- *Manual de la OMS para el estudio estandarizado y el diagnóstico de la pareja infértil.* Bogotá; Caracas: Editorial Médica Panamericana, 1995. 37-53.
- Mardh PA, Oriel D. *Genital Chlamydial Infections.* Institute of Clinical Bacteriology, University of Uppsala, Sweden, 1990.
- Ministerio de Salud. *Reporte de morbilidad en pacientes atendidas por consulta externa y hospitalizadas durante 1997 en Colombia.* Archivo Maestro SIS 103.
- ONG Medicus Mundi. *Enfermedades de transmisión sexual.* 1997. Febrero.
- Otero, Rodrigo. *Frecuencia por Factores como causa de esterilidad.* Tesis de Postgrado. México D.F, 1990. 1 -3, 4-14.
- Padron, R.S. *Causas de discontinuación del seguimiento de las parejas infértiles y su relación con el diagnóstico y el estado de la infertilidad,* resúmenes III congreso Nacional de Endocrinología, La Habana, 1992.
- Pumarola A. Torres A. García J, Piédrola G. *Microbiología y Paracitología Médica.* Barcelona: Salvat Editores. 2da edición. 1994.
- Queenan JT, Sharara FI, Springer RS, Scoccia H, Scommegna A. *Elevated serum Chlamydia Trachomatis IgG antibodies are associates with decreased implantation rate in gamete intrafallopian transfer.* Division of Reproductive Endocrinology and Infertility, University of Illinois, 1995.
- Restrepo J, Rojas W, Botero J, Vélez H. *Fundamentos de Medicina – Enfermedades Infecciosas.* Medellín, Colombia: Corporación para Investigaciones Biológicas. 5ta Edición. 1996.
- Rueda, Ricardo. *Guías diagnóstico en infertilidad.* Bogotá: Asociación Colombiana para el estudio de la población, 1987. 57-148.
- Speroff L, Glass R, Kase N. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility.* Baltimore, Maryland: Lippincott Williams & Wilkins. 6ta Edition. 1999.
- Stamm WE, Stevens CE, Suchland R, et al. *Association of infecting serovar with clinical manifestations in Chlamydia Trachomatis genital infections in women.* University of Washington, Seattle, 1990:

- Stamm WE. *Chlamydia Trachomatis Infections: Progress and Problems*. Division of Allergy and Infectious Diseases, University of Washington, Seattle, *Journal of Infectious Diseases*. 1999; 179(suppl 2):S380-3.
- Tan, Seang. *Esterilidad: La respuesta a sus preguntas*. México: Interamericana, McGraw-Hill, 1994.
- Templeton, MB ,PENNY, G.C, Penny: "*The Incidence, characteristics, and prognosis of patients whose infertility is unexplained*". 1995: 37 -175.
- Testut L, Latarjet L. *Tratado de Anatomía Humana* Barcelona: Salvat Editores. Novena Edición. Tomo IV. 1980.
- Thibodeau G, Patton K. *Anatomía y Fisiología*. Madrid: Mosby/Doyma. 2da Edición. 1995.
- Thonnean, P., Spira A. *Prevalence of infertility: International data and problems of measurements*. *Eur.J. Obstet.Gynecol Reprod.Biod.*1990: 38-43.
- Usandizaga J, De la Fuente P. *Tratado de Obstetricia y Ginecología*.
-

ANEXO I

MODELO BIVARIADO DE FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A INFERTILIDAD BOGOTA, 2001

Casos Controles OR IC 95

Causas antecedentes quirúrgicos

| | | | | |
|-------------------------|----------|----------|--|--|
| Quiste de ovario | 1 | 1 | | |
| <hr/> | | | | |
| Laparoscopia | 9 | 0 | | |
| <hr/> | | | | |
| Hernia | 1 | 0 | | |

Antecedentes de EPI

| | | |
|-----------|-----------|-----------|
| SI | 0 | 0 |
| <hr/> | | |
| NO | 40 | 40 |

Tipo de Planificación

| | | |
|---------------------------|-----------|-----------|
| No planifica | 34 | 19 |
| <hr/> | | |
| Métodos de Barrera | 0 | 4 |
| <hr/> | | |
| Métodos Hormonales | 2 | 12 |
| <hr/> | | |
| DIU | 4 | 5 |
| <hr/> | | |

Infecciones compañero sexual

| | | |
|-----------|----------|----------|
| SI | 0 | 0 |
| <hr/> | | |
| NO | 40 | 40 |

Menarquia

| | | |
|------------------|-----------|----------|
| 1965-1974 | 4 | 3 |
| <hr/> | | |
| 1975-1978 | 12 | 8 |
| <hr/> | | |
| 1979-1982 | 10 | 4 |
| <hr/> | | |
| 1983-1986 | 10 | 8 |
| <hr/> | | |
| 1987-1990 | 3 | 9 |
| <hr/> | | |
| 1991-1994 | 1 | 8 |

Gestaciones

| | | |
|-----------|-----------|-----------|
| SI | 18 | 40 |
| <hr/> | | |
| NO | 22 | 0 |

Numero de Gestaciones

| | | |
|---------------------------|-----------|-----------|
| Una Gestación | 13 | 18 |
| <hr/> | | |
| Dos Gestaciones | 5 | 15 |
| <hr/> | | |
| Tres Gestaciones | 0 | 4 |
| <hr/> | | |
| Cuatro Gestaciones | 0 | 3 |

Causas Abortos

| | | |
|-------------------|----------|----------|
| Accidental | 4 | 5 |
| <hr/> | | |

| | | |
|--------------------------|----------|----------|
| Espontáneo | 2 | 5 |
| <hr/> | | |
| Inmunológico | 2 | 0 |
| <hr/> | | |
| Previa Planeación | 1 | 0 |

Cesáreas

| | | | | |
|-----------|----------|-----------|-------------|-------------------|
| SI | 2 | 13 | 9,15 | 1,71-65,09 |
| <hr/> | | | | |
| NO | 38 | 27 | 8,92 | 1,80-67,81 |

Número de Cesáreas

| | | |
|---------------|---|---|
| Una Cesárea | 3 | 3 |
| <hr/> | | |
| Dos Cesáreas | 0 | 4 |
| <hr/> | | |
| Tres Cesáreas | 0 | 0 |

Partos

| | | | | |
|-------|----|----|-------|--------------|
| SI | 8 | 38 | 76,00 | 13,09-585,94 |
| <hr/> | | | | |
| NO | 32 | 2 | 69,53 | 13,65-714,60 |

- Dos actualmente embarazadas en el grupo fértil.

Número de Partos

| | | |
|----------------------|----------|-----------|
| Un Parto | 8 | 22 |
| Dos Partos | 0 | 11 |
| Tres Partos | 0 | 3 |
| Cuatro Partos | 0 | 2 |

Fecha Ultimo Parto

| | | |
|------------------|----------|-----------|
| 1975-1980 | 0 | 1 |
| 1981-1986 | 0 | 2 |
| 1987-1992 | 5 | 8 |
| 1993-1998 | 3 | 19 |
| 1999-2004 | 0 | 8 |

Número de Hijos Vivos

| | | |
|---------|---|----|
| Un Hijo | 7 | 23 |
|---------|---|----|

| | | |
|-----------|---|----|
| Dos Hijos | 0 | 11 |
|-----------|---|----|

| | | |
|------------|---|---|
| Tres Hijos | 0 | 2 |
|------------|---|---|

| | | |
|--------------|---|---|
| Cuatro Hijos | 0 | 2 |
|--------------|---|---|

Fecha Ultimo Parto

| | | |
|-------|---|----|
| 22-26 | 3 | 14 |
|-------|---|----|

| | | |
|-------|---|----|
| 27-31 | 9 | 12 |
|-------|---|----|

| | | |
|-------|----|---|
| 32-36 | 16 | 5 |
|-------|----|---|

| | | |
|-------|----|---|
| 37-41 | 12 | 9 |
|-------|----|---|

Diferenciación Categórica

| | | |
|-----------------|----|----|
| Negativo | 19 | 25 |
| <hr/> | | |
| Positivo Leve | 4 | 1 |
| <hr/> | | |
| Positivo | 2 | 4 |
| <hr/> | | |
| Positivo Fuerte | 15 | 10 |

DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTICHLAMYDIA TRACHOMATIS ISOTIPO IgG EN MUJERES

FECHA: _____

NOMBRE: _____

EDAD: _____

ANTECEDENTES DE INFERTILIDAD: SI: _____ NO: _____

ANTECEDENTES QUIRURGICOS

EN ORGANOS PÉLVICOS: _____

ANTECEDENTES DE ENFERMEDAD

PÉLVICA INFLAMATORIA TRATADA MEDICAMENTE: _____

PLANIFICACIÓN FAMILIAR

(ESPECIFICAR DETALLADAMENTE METODOS Y FECHAS)

INFECCIONES DE SU COMPAÑERO SEXUAL:

ANTECEDENTES GINECO-OBSTETRICOS:

MENARQUIA: _____ **CICLOS:** _____

GESTACIONES: _____ **PARTOS:** _____

ABORTOS: _____ **FECHAS:** _____

CAUSA ABORTO:

CESAREAS: _____ **HIJOS VIVOS:** _____

FECHA DE ULTIMA MENSTRUACIÓN:

DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTICHLAMYDIA TRACHOMATIS
ISOTIPO IgG EN MUJERES CON ANTECEDENTE DE INFERTILIDAD

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Nombre de la Paciente: _____

Documento de Identificación: _____

Fecha: _____

Historia Clínica: _____

Institución de procedencia: _____

- Por medio de la presente constancia, en pleno uso de mis facultades mentales, otorgo en forma libre mi consentimiento para que por intermedio del laboratorio de bacteriología se me practique pruebas en suero con el fin de detectar anticuerpos antichlamydia necesarios para el estudio enunciado.
- Declaro que he sido suficientemente ilustrada sobre el estudio que se va a realizar.
- Certifico que el presente documento ha sido leído y entendido por mí en su integridad.

Nota: Los resultados del estudio son de estricto interés científico.

Nombre

Firma de la Paciente

ANEXO IV

INMUNOENSAYO ENZIMATICO (ELISA)

El empleo de enzimas como marcadores inmunoquímicos en sustitución de los radioisótopos, para su utilización en los análisis de enlace competitivo, fue descrito por primera vez en 1971 (Avrameas,1971)

Los nombres más utilizados son: ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay o análisis de inmunoabsorción enzimática; EIA: enzyme immunoassay o inmunoanálisis enzimático, y EMIT: enzyme-multiplied immunoassay technique o técnica de inmunoanálisis con multiplicación enzimática. (Henry, 1993)

Principio:

Elisa es uno de los métodos inmunoenzimáticos empleados para la detección de antígenos o anticuerpos. Se fundamenta básicamente en dos principios: 1) En el hecho de que moléculas, como las que constituyen los antígenos y los anticuerpos, puedan ser adsorbidas a una fase sólida, sin perder su reactividad inmunológica, y 2) que tanto antígenos como anticuerpos pueden ligarse a una enzima, formando un conjugado con actividad inmunológica y enzimática simultánea. (Firentino, 1994)

Existen varios materiales que pueden emplearse como fase sólida; entre los principales se encuentran los tubos de vidrio, las perlas, las perlas de vidrio, las

microplacas de poliestireno o de polivinilo, aunque existen muchos otros más. Los dos últimos son los más empleados por la facilidad con que permiten procesar varias muestras simultáneamente y por requerir de muy pequeñas cantidades de cada uno de los reactivos.

Las muestras que se pueden emplear son muy variadas. Van desde plasma o suero hasta cualquier fluido biológico, saliva, lágrimas, orina etc., siempre y cuando dentro de sus componentes no se encuentren sustancias que inhiban la unión antígeno-anticuerpo. (Fiorentino, 1994)

Las enzimas que componen el conjugado deben reunir condiciones como la temperatura de catálisis semejante a la de la reacción antígeno-anticuerpo; dar productos coloreados y solubles al degradar el sustrato; y no dar productos intermedios de catálisis. Las enzimas más empleadas son la fosfatasa alcalina (con sustrato p-nitrofenil fosfato o dietanolamina en buffer carbonato pH 9,6) la peroxidasa (con sustrato ortofenilendiamina) y la beta-galactosidasa (con sustrato o-nitrofenil-beta-galactósido).

La fosfatasa presenta una alta estabilidad, razón por la cual es la enzima de elección en muchos procedimientos. La peroxidasa, por su parte presenta un costo mucho menor que las otras; sin embargo, la estabilidad de los productos es muy corta. La beta-galactosidasa es tal vez la más estable en sí misma y la que libera un producto de alta calidad de medición, pero es la más costosa.

Para obtener un resultado final óptimo, el proceso incluye pasos de lavado después de las incubaciones de cada uno de los reactivos fundamentales; además de tener el pH y la fuerza iónica adecuados, las soluciones de lavado

contiene sustancias como el tween 20, detergente que inhibe la unión inespecífica de elementos a la fase sólida. (Fiorentino, 1994).

2.6.3 Clasificación

La clasificación de la ELISA depende de: a) el reactivo que hay que determinar, es decir, antígeno o anticuerpo; b) el reactivo marcado; c) la naturaleza competitiva o no del análisis, d) el método de separación de los reactivos unidos o libres. (Henry, 1993)

- Clásico o Elisa en sándwich:

Recibe este nombre porque el biológico que se quiere determinar (antígeno o anticuerpo) queda atrapado entre dos sustancias conocidas. Si buscamos un antígeno, el anticuerpo unido a la fase sólida y al anticuerpo pegado a la enzima son conocidos y generalmente son el mismo anticuerpo, aunque pueden provenir de especies diferentes o estar dirigidos contra distintos determinantes antigénicos. En caso de detectar un anticuerpo, el antígeno pegado a la fase sólida y el anti-anticuerpo pegado a la enzima son también conocidos.

A este método clásico, algunos autores le han dado el nombre de técnica indirecta ya que al compararla con la inmunofluorescencia, su procedimiento incluye fases separadas.

- Elisa competitivo:

Este procedimiento tiene el mismo fundamento de las técnicas de radioinmunoanálisis –RIA-, en donde lo que se va a determinar –bien sea antígeno o anticuerpo- se coloca frente a lo conocido. Simultáneamente se añade en la reacción la misma sustancia que se quiere detectar, pero ésta va unida a una enzima (en el caso de ELISA) o a un isótopo radioactivo (en el caso de RIA)

El objetivo de este método, es poner en competencia la muestra desconocida con la sustancia marcada, ya que las dos presentan la misma especificidad por el blanco conocido, pegado en la fase sólida.

En esta reacción, la cantidad del biológico que se quiere determinar es lo que realmente genera la competencia, ya que la sustancia marcada se agrega en una concentración constante y conocida.

Es importante recordar que en esta reacción, la intensidad del color es inversamente proporcional a la concentración de antígeno o anticuerpo que se quiere determinar. (Fiorentino, 1994)

