

Prevalencia de infección por *Chlamydia trachomatis* en el tracto genitourinario y su relación con las alteraciones de la calidad espermática

PREVALENCE OF INFECTION BY CHLAMYDIA TRACHOMATIS IN UROGENITAL TRACT AND ITS RELATIONSHIP TO ALTERATIONS IN SPERM QUALITY

Miguel Á. RODRÍGUEZ F., Crispín HERRERA P., Marco A. LÓPEZ J., José L. INCHAUSTEGUI A., Irazú GORDILLO L.

Facultad de Ciencias Químicas, Extensión Ocozocoautla. Universidad Autónoma de Chiapas. Carretera Panamericana Ocozocoautla – Cintalapa Km 2.5 – Ocozocoautla de Espinosa, Chiapas. Correo-e: qfbmarf@hotmail.com

RESUMEN

Las infecciones bacterianas y virales del tracto genital masculino son un factor etiológico importante en la infertilidad masculina ya que afectan sitios anatómicos relacionados con el aparato reproductor masculino. El objetivo del presente trabajo fue determinar la prevalencia de infección por *Chlamydia trachomatis* en el tracto genitourinario de varones que residen en la ciudad de Tapachula, Chiapas; México, durante el periodo 2009-2013. Y la asociación de la infección con las alteraciones de la calidad espermática. Se analizaron 72 varones con problemas de fertilidad que asistieron a un laboratorio particular. Del total de pacientes, 15 fueron positivos a la infección por *C. trachomatis*, lo que representó una prevalencia del 20.8%; el límite de edad se ubicó entre los 23 y 63 años, identificando a 8 positivos entre 23 a 34 años, 6 casos en pacientes con 35 a 44 años y un caso en pacientes de 45 a 55 años de edad. En este estudio, de los 15 individuos con infección por *C. trachomatis*, tres mostraron oligozoospermia, siete presentaron astenozoospermia, tres presentaron polizoospermia y sólo dos presentaron hipospermia. Se concluye que existe una alta prevalencia de *C. trachomatis* en la Ciudad de Tapachula, Chiapas, México. Así mismo, no se encontró una asociación aparente de la infección de *C. trachomatis* con las alteraciones de la calidad espermática.

Palabras clave: *Chlamydia trachomatis*, infertilidad masculina, espermograma.

INTRODUCCIÓN

En las últimas dos décadas la infección por la bacteria *Chlamydia trachomatis* ha sido una de las infecciones de transmisión sexual más comunes en el mundo. En 2008, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó que cada año se presentan cerca de 105.7 millones de casos nuevos de infección por *C. trachomatis*; y tan sólo en el continente americano 25.2 millones de casos nuevos de adultos infectados (WHO, 2012). *C. trachomatis* es una bacteria intracelular obligada, a la que se le reconocen 15 serotipos, los cuales se clasifican en tres biovarios: el biovar tracoma, que incluye los serotipos A, B, Ba, C-K; el biovar linfogranuloma venéreo, que consta de los serotipos L₁, L₂, L₃ y el biovar causante de

neumonitis en ratón (Schachter, 1999). Una característica distintiva de las clamidias es la de presentar un ciclo biológico diferente a todas las bacterias, tiene dos formas con funciones separadas: los cuerpos elementales que no se dividen y cuya función principal es propagar la infección de una célula a otra en el huésped, donde se reorganizan dando lugar a la segunda forma: los cuerpos reticulares, que se dividen por fisión binaria en vacuolas citoplasmáticas denominadas también inclusiones, las cuales no son infectantes y solo se constituyen en nuevas generaciones de cuerpos elementales para mantener su ciclo vital (Conde-Gonzalez, 1999). En la mujer puede causar enfermedad pélvica inflamatoria, infertilidad por obstrucción tubárica y embarazo ectópico, mientras que en el varón puede

provocar uretritis no gonocócica, proctitis y epididimitis (Cates y cols., 1991; Stam, 1999). En un alto porcentaje de los casos es asintomática: habiéndose reportado ausencia de síntomas en el 70% de las mujeres y el 50% de hombres, así la infección puede pasar desapercibida, y transformarse en una infección crónica hasta por 20 años, con efectos subclínicos y alteraciones de la fertilidad (Fleming y cols, 1999; Gerbase y cols., 1998; Lardenoije y cols., 2007). Se estima que las infecciones del aparato genitourinario aportan el $41.45 \pm 28.55\%$ del total de las causas de infertilidad masculina (Barten, 1998; Ravolamanana y cols., 2001).

En México, la infección en varones por esta bacteria tanto en población abierta como de los que asisten a las clínicas de infecciones de transmisión sexual y de infertilidad son en su mayoría desconocidas, sólo los informes de Cortés y Martínez (2001), describen un porcentaje de 11.7% en muestras uretrales de pacientes que asistieron a la Clínica de Urología del Hospital General Dr. Manuel Gea González, el de Guerra y cols. (2005), que describen un porcentaje de 3.6% en varones que fueron tratados en el Instituto Nacional de Perinatología durante el periodo de junio del 2000 a abril del 2001. Y el más reciente estudio de Preciado y cols. (2011), en el cual llevó a cabo la identificación de *C. trachomatis* en 62 parejas infértiles obteniendo una alta prevalencia de 96.8% de positividad en las parejas estudiadas.

Una de cada seis parejas es estéril. Este problema afecta a 80 millones de parejas en todo el mundo, estando el factor masculino presente en el 50% de ellas. Uno de cada 20 hombres presenta alteraciones seminales (Boivin y cols., 2007). Se trata como vemos de una alta proporción de la población en comparación con otras enfermedades prevalentes como la diabetes (2,8% de la de la población) (Wild y cols., 2004). Por lo tanto, la subfertilidad masculina es un problema mundial muy importante y, lo más preocupante es que los informes recientes sugieren que su prevalencia está en aumento (Sharpe e Irving, 2004).

El espermograma o espermatobioscopia directa, es una prueba esencial de laboratorio de gran importancia para la evaluación de la infertilidad y para el estudio de las enfermedades genitales masculinas y de otras patologías como las causadas a la exposición a productos químicos, medicamentos, entre otras. El espermograma básico evalúa las características generales del semen, como son la apariencia, el volumen y el número de espermatozoides, la motilidad, la morfología, la vitalidad y la presencia de leucocitos. El recuento y la motilidad sirven para determinar si hay suficientes espermatozoides que puedan alcanzar el ovocito, en cuanto a la morfología de los espermatozoides se considera como el parámetro del espermograma que más se asocia con capacidad de fertilización (Rogers y cols., 1983, Kruger y cols., 1986).

MATERIAL Y MÉTODOS

Tipo de estudio

Transversal, retrospectivo parcial, observacional y descriptivo.

Lugar del estudio

La ciudad de Tapachula, Chiapas; México.

Población de estudio

72 varones con problemas de fertilidad de 23 a 64 años de edad, que asistieron a un laboratorio particular durante el periodo agosto 2009 a junio 2013. Residentes de la ciudad de Tapachula, Chiapas; México.

Variables

Prevalencia de infección, año de estudio, edad, volumen del semen, concentración de espermatozoides, categoría $a+b$ y vitalidad.

Criterios utilizados en la investigación

Inclusión: Todos los varones que se realizaron la espermatobioscopia directa y el análisis de *C. trachomatis*. Y que cumplen con el criterio de tener un año o más tratando de procrear, sin éxito alguno.

Exclusión: Cualquiera que no cumpla al menos uno de los criterios de inclusión.

Eliminación: Muestras de semen con sangre.

Toma y manejo de muestras

Se introdujo cuidadosamente un hisopo de dacrón estéril en la uretra a una profundidad aproximada de 2 a 4 cm y se realizó una rotación rigurosa de 3 a 5 segundos para desprender las células del epitelio, en seguida se depositó el hisopo en un tubo estéril de plástico, teniendo una estabilidad de 24 horas a temperatura ambiente, y 72 horas a 2-8°C.

Espermograma: las muestras de semen fueron obtenidas por masturbación y analizadas, siguiendo las pautas establecidas por el tercer manual de la Organización Mundial de la Salud para el análisis de semen (WHO, 1992).

Detección de *Chlamydia trachomatis*

El diagnóstico de infección por *C. trachomatis* se realizó mediante la prueba inmunocromatográfica para la detección directa del antígeno de *Chlamydia* en muestra extraída del grupo Mexlab. La extracción de la muestra se llevó a cabo sumergiendo el hisopo dentro del tubo de extracción, rotándolo vigorosamente por 10 segundos para asegurar una adecuada mezcla de la muestra del hisopo con la solución de extracción. Se colocó en una gradilla y se dejó reposar de 10 a 15 minutos a temperatura ambiente (extracción). Se giró el hisopo de 2 a 3 veces por algunos segundos durante el tiempo de extracción mientras lo presionan contra las paredes del tubo. Al final del tiempo de extracción, se

removió el líquido del hisopo girándolo contra la pared del tubo mientras se va sacando el hisopo del tubo y se tapa. La prueba debe realizarse dentro de los 30 minutos.

La placa de Bio-Clamydia debe de estar a temperatura ambiente para realizar la prueba. Se saca la placa del empaque, se rotula con el nombre del paciente y se coloca en una superficie plana. Tome el tubo de extracción y rompa la punta de la tapa roja, y aplique 4 gotas (150 a 200 μ l) de la muestra extraída en la ventana de muestra. Dejar incubar y leer los resultados a los 20 minutos. Los resultados permanecen estables por una hora después de agregar la muestra extraída.

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico los varones fueron agrupados como individuos positivos o negativos a la detección de *C. trachomatis*. Los datos de la espermatobioscopia directa y las demás variables fueron comparados con el estadístico de prueba χ^2 .

RESULTADOS

Fueron analizados 72 varones con problemas de fertilidad que asistieron a un laboratorio particular en el periodo de agosto del 2009 a junio del 2013. Del total de pacientes, 15 varones fueron positivos a la infección por *C. trachomatis*, lo que representó una prevalencia del 20.8%; el límite de edad se ubicó entre los 23 y 63 años, identificando a 8 positivos entre 23 y 34 años, 6 casos en pacientes con 35 a 44 años y un caso en pacientes de 45 a 55 años de edad. Se observó una asociación estadística ($P=0.003$) entre la prevalencia de infección y el año de realización del estudio, siendo el año 2010 el más representativo con 9 casos positivos.

Con respecto a los resultados de espermatobioscopia directa, 20 de los 72 pacientes (27.8%) tuvieron hipospermia (menos de 2 ml de eyaculado), presente en el 4.2% en los *Chlamydia* positivo y 23.6% en los *Chlamydia* negativo. Mientras que el resto de los pacientes (72.2%) obtuvieron parámetros normales de 2 a 6 ml de eyaculado, 16.7% y 55,6 % los *Chlamydia* positivo y *Chlamydia* negativo respectivamente. En cuanto a la concentración de espermatozoides por mililitro se observó que 24 pacientes (33.4%) presentaron oligozoospermia, 4.2% correspondiente a los *Chlamydia* positivo y el 29.2% a los *Chlamydia* negativo. El resto de los 48 pacientes (66.6%) obtuvieron más de 20 millones por mililitro. De los 72 pacientes, 53 (73.6%) presentaron motilidad espermática $a+b$ normal, de los cuales 16.7% correspondió a los positivos y 56.9% a los negativos. Cinco pacientes (7%) presentaron astenozoospermia leve, 1.4% le correspondió a los positivos y un 5.6% a los negativos. Seis pacientes (8.3%)

presentaron astenozoospermia moderada, siendo todos los casos negativos a *Chlamydia*, y los ocho pacientes restantes (11.1%) presentaron astenozoospermia severa, 2.8% en los casos positivos a *Chlamydia* y 8.3% en los casos negativos. La vitalidad espermática de los pacientes en un 83.4% fue normal y el 16.7% obtuvieron una vitalidad anormal. De los 60 pacientes con vitalidad espermática normal 16.7% le correspondió a los *Chlamydia* positivo y el 66.7% a los negativos. Y de los 12 pacientes con vitalidad espermática anormal el 4.2% (positivos) y 12.5% (negativos). Como podemos apreciar en la Tabla 1, ninguna de las variables correspondientes a la espermatobioscopia directa (variables de la 3-6) presentó una asociación estadística con la prevalencia de la infección.

DISCUSIÓN

En los últimos años se ha descrito una prevalencia elevada de infección por *C. trachomatis* en varones jóvenes que son asintomáticos o que muestran una ligera sintomatología, pero sin llegar a una uretritis no gonocócica. Este tipo de infección es considerada de importancia epidemiológica, ya que al no ser detectada ni tratada oportunamente, el varón se comporta como el reservorio principal de infección para sus compañeras sexuales. Los datos epidemiológicos en países industrializados sobre la infección por *C. trachomatis* en varones jóvenes asintomáticos es de 3.5 a 10%. Sin embargo, este porcentaje aumenta en el caso de parejas infértiles, teniéndose porcentajes de infección en el varón de 10 a 39.3% (Witkin y cols., 1993; Diertele y cols., 1995; Virgil y cols., 2002).

En México, la infección en varones por esta bacteria, tanto en población abierta como de los que asisten a las clínicas de infecciones de transmisión sexual y de infertilidad, son en su mayoría desconocidas.

En este estudio se observó que de los 72 varones estudiados 15 fueron positivos para *C. trachomatis* representando un 20.8%, lo que indica una alta prevalencia de infección por esta bacteria; en comparación con lo descrito por Guerra y cols, en 2005 quien reporta una prevalencia de 3.6% por la técnica de hibridación en fase líquida PACE-2, Terriquez y González (2003), reportaron un 4.7% de muestras de semen positivas a *C. trachomatis* por el método de cultivo celular. Cortés y Martínez que en el 2001 obtuvieron un 11.7%. Y de Wilson y cols. (1989), que por la técnica de inmunofluorescencia directa obtuvieron una prevalencia de 19.5%; y lo reportado por León y cols. (2009), que describieron un 5.5% de prevalencia de infección en hombres de una población marginal urbana de bajos ingresos de Perú por la técnica de PCR-COBAS.

Tabla 1. Resumen de variables analizadas.

Variables	n	Chlamydia positivo		Chlamydia negativo		Valor P
		Frecuencia	(%)	Frecuencia	(%)	
1. Edad (años)						0.301
23-34	48	8	11.1	40	55.6	
35-44	19	6	8.3	13	18.1	
45-54	2	1	1.4	1	1.4	
55-64	3	0	0	3	4.2	
2. Años de estudio						0.003
2009	11	0	0	11	15.3	
2010	20	9	12.5	11	15.3	
2011	16	5	6.9	11	15.3	
2012	17	0	0	17	23.6	
2013	8	1	1.4	7	9.7	
3. Volumen (ml)						0.56
0.8 - 1.9	20	3	4.2	17	23.6	
2 - 3.4	35	8	11.1	27	37.5	
3.5 - 4.7	12	2	2.8	10	13.9	
4.8 - 6.0	4	2	2.8	2	2.8	
6.1 - 7.8	1	0	0	1	1.4	
4. Concentración de esperma ($\times 10^6$/ml)						0.21
0 - 19	24	3	4.2	21	29.2	
20 - 60	26	6	8.3	20	27.8	
61 - 100	10	2	2.8	8	11.1	
101 - 140	7	1	1.4	6	8.3	
141 - 200	4	2	2.8	2	2.8	
201 - 250	1	1	1.4	0	0	
5. Motilidad (a+b)						0.69
Normal (>50%)	53	12	16.7	41	56.9	
Leve (49-40%)	5	1	1.4	4	5.6	
Moderada (39-21%)	6	0	0	6	8.3	
Severa (<20%)	8	2	2.8	6	8.3	
6. Vitalidad						0.62
Normal (>60%)	60	12	16.7	48	66.7	
Anormal (<59%)	12	3	4.2	9	12.5	

En el caso de Feky y cols. (2009), compararon 3 métodos de identificación de *C. trachomatis* y su impacto en la calidad del semen, analizando 75 varones y obteniendo 20 positivos (26.7%) por el método de ELISA-Abs, 35 positivos (46.6%) con la detección directa de los cuerpos elementales mediante citometría de flujo, y por último, 23 positivos (30.7%) en líquido seminal por PCR.

Como se puede observar la prevalencia obtenida en el presente estudio (20.8%) cae dentro de los porcentajes reportados por Feky y cols. (2009), (26.7%, 30.7% y 46.6%), y Urbina y cols. (2010) ($31.12 \pm 2.88\%$). Confirmando lo dicho por Witkin y cols. (1993), Diertele y cols. (1995), y Virgil y cols. (2002), que reportaron un porcentaje de infección en el varón de 10 a 39.3%.

La técnica de inmunoensayo para la determinación cualitativa de *Chlamydia*, Bio-Clamydia (Mex-Lab), es un inmunoensayo en fase sólida tipo sándwich con anticuerpos monoclonales que detectan antígenos, con una sensibilidad de 87% y una especificidad del 98.8%. Esta baja sensibilidad

posiblemente provoque un aumento en el número de muestras falsas negativas. A pesar de lo anterior, ésta representa una técnica confiable con una alta especificidad y sencillez, ya que no necesita personal altamente cualificado por su fácil realización, la lectura e interpretación es sencilla lo que hace de esta técnica una de las más útiles en el mercado (Arango, 1998).

Con relación al año de realización del estudio, se encontró asociación estadística ($P=0.003$) entre la prevalencia de infección y esta variable, observándose además una tendencia a un mayor número de casos en el 2010. El motivo del aumento pudo deberse a que en ese año se analizaron un mayor número de muestras con respecto a los demás años, obteniendo un 45% de positividad a *C. trachomatis*.

Respecto a la edad se observó que no hay asociación estadística ($P=0.301$) entre la prevalencia de la infección y los grupos de edades, sin embargo se observa una tendencia a un mayor número de casos en el grupo de 23-34 años de edad.

En cuanto al volumen del eyaculado, se observó que no hay asociación estadística ($P=0.499$) entre la prevalencia de la infección y esta variable, sin embargo se observa una tendencia a un mayor número de casos en el volumen de 2.0 a 3.4 ml. Coincidiendo con lo encontrado por Lozano y col. (2012), que de los 64 positivos reportados (21.3%) el volumen del eyaculado promedio fue de 3.0 ± 0.13 ml.

Con relación a la concentración de espermatozoides por mililitro se observa que no hay asociación estadística ($P=0.210$) entre la prevalencia de la infección y concentración de espermatozoides por mililitro, sin embargo se observa una tendencia a un mayor número de casos en el rango de 20 a 60 millones por ml.

Respecto a los móviles progresivos $a+b$ se observa que no hay asociación estadística ($P=0.69$) entre la prevalencia de la infección y los espermatozoides móviles progresivos del eyaculado, sin embargo se observa una tendencia a un mayor porcentaje de casos con astenozoospermia severa (menor del 20%). En este estudio el 73.6% de los pacientes obtuvieron una movilidad normal (arriba del 50%) por lo que no coincidimos con lo reportado por Lozano y col. (2012), de $42.6 \pm 2.29\%$, y lo argumentado por Terriquez y González (2003), que el incremento de agentes bacterianos principalmente cuando *C. trachomatis* se encuentra presente afecta la motilidad espermática en el 62.2% y 57.1%.

Con lo que respecta a la vitalidad espermática se observa que no hay asociación estadística ($P=0.62$) entre la prevalencia de la infección y la viabilidad espermática del eyaculado, sin embargo se observa una tendencia a un mayor número de casos en la vitalidad anormal (menor a 59%). De acuerdo a Terriquez y González (2003), el incremento de agentes bacterianos, principalmente cuando *C. trachomatis* se encuentra presente, afecta la vitalidad espermática, sin embargo en nuestro estudio el 83.4% obtuvo una vitalidad normal (mayor al 60%).

Por otro lado, el papel de *C. trachomatis* en el hombre ha sido controversial, ya que este patógeno puede provocar una infección urogenital crónica asintomática o una infección con sintomatología aguda que puede afectar los parámetros espermáticos (Vigil y cols., 2002; Close y cols., 1987; Eggert-Kruse, 1996).

Las alteraciones espermáticas en individuos asintomáticos son poco conocidas, pero se ha descrito que los individuos muestran valores normales o ligeramente alterados en el número, movilidad y morfología de los espermatozoides (Guerra y cols., 2005).

En este estudio, de los 15 individuos con infección por *C. trachomatis*, tres mostraron oligozoospermia, siete presentaron astenozoospermia, tres presentaron polizoospermia y sólo dos presentaron hipospermia. Sin embargo, los datos de espermátobioscopia directa de los individuos positivos a *C. trachomatis* no mostraron alteraciones significativas con respecto al de varones no infectados con esta bacte-

ria, confirmando lo reportado por Guerra y cols. (2005), y Feky y cols. (2009).

CONCLUSIONES

- Existe una alta prevalencia de *C. trachomatis* en varones residentes de la Ciudad de Tapachula, Chiapas, México.
- Los pacientes positivos a esta bacteria presentaron algunas anomalías en varios parámetros de la espermátobioscopia directa; sin embargo, no se determinó una asociación aparente de la infección de *C. trachomatis* con las alteraciones de la calidad espermática.
- La presencia de *C. trachomatis* en el tracto reproductor masculino, al no presentar una sintomatología específica y no recibir tratamiento, puede actuar como un reservorio de esta bacteria.
- Es importante implementar una evaluación diagnóstica y de laboratorio a los varones asintomáticos y con sintomatología, como una medida de prevención y control para la infección por este patógeno.
- Se debe de considerar la implementación de prácticas de educación sexual y prevención de las ITS principalmente en adolescentes.

BIBLIOGRAFÍA

- Barten J. (1998) Screening for infertility in Indonesia. Results of examination of 863 infertile couples: *Bull World Health Organ* 76(2):183-187.
- Boivin J, Bunting L, Collins JA, Nygren KG. (2007) International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care. *Hum Reprod.* 22(6):1506-12.
- Cates W, Wasserheit JN. (1991) Genital chlamydial infections: Epidemiology and reproductive sequelae. *Am J Obstet Gynecol* 164: 1771-81.
- Conde-González J. (1999) Enfermedades de Transmisión Sexual. *Programa de Actualización en Infectología (Asociación Mexicana de Infectología y Microbiología Clínica, AC)*: 15-20.
- Cortés CAE, Martínez HN. (2001) Frecuencia de infección por virus del papiloma humano y *Chlamydia* en uretra en hombres en el hospital general Dr. Manuel Gea González. *Rev Hosp Gral Dr. M. Gea González* 4; 118-122.
- Diertele S, Mahony JB, Luinstra KE, Stibbe W. (1995) Chlamydial immunoglobulin IgG and IgA antibodies in serum and semen are not associated with the presence of *Chlamydia trachomatis* DNA or rRNA in semen from male partners of infertile couples. *Hum Reprod* 10: 315-319.
- Fleming DT, Wasseheit JN. (1999) From epidemiological synergy to public health policy and practice: The contribution of other sexually transmitted diseases to sexual transmission of HIV infection. *Sex Transm Infect* 75: 3-17.

- Gerbase AC, Rowly JT, Heymann DH, et al. (1998) Global prevalence and incidence estimates of selected curable STDs. *Sex Transm Infect* 74 (Suppl): 12-16.
- Guerra IF, Tapia YR, López HM, Flores MS, Díaz GF. (2005) Infección por *Chlamydia trachomatis* en varones y su asociación con las alteraciones ginecológicas de su compañera sexual. *Revista de investigación Clínica.* 57(3): 406-414.
- Kruger TF, Menkveld R, Stander FS, Lombard CJ, Van der Merwe JP, Van Zyl JA, et al. (1986) Sperm morphologic features as a prognostic factor in *in vitro* fertilization. *Fertil Steril* 46: 1118-1123.
- Lardenoije CM, Land JA. (2007) Chlamydia antibody testing for tubal factor subfertility. *Ned Tijdschr Geneesk* 151:1981-1985.
- Lozano HR, Vivas AG y Muñoz VM. (2012) Mycoplasmas y anticuerpos anti-*Chlamydia* en semen de hombres infértiles y su relación con la calidad seminal y los marcadores de glándulas sexuales accesorias masculinas. *Invest. Clín* 53, Num. 2 Maracaibo Junio.
- Preciado-Ruiz R, Arredondo MR, García LA, Manterola AD, Blanco GN, Martínez CJ. (2011) Identificación de *Chlamydia trachomatis* en parejas infértiles. *Revista Mexicana de Medicina de la Reproducción* 4 (2):72-76.
- Ravolamanana RL, Randaoharison PG, Ralaiavy HA, Debry JM, Randrian Jafisamin Drakotroka NS. (2001) Etiologic approach in infertile couples in Mahajanga. *Arch Inst Pasteur Madagascar* 1 (67): 68-73.
- Rogers BJ, Bentwood BJ, Van Campen H, Helmbrecht G, Soderdahl D, Hale RW. (1983) Sperm morphology assessment as an indicator of human fertilizing capacity. *J Androl* 4: 119-125.
- Schachter J. (1999) Biology of *Chlamydia trachomatis*. En: Holmes KK, Sparling PF, Mard, et al. *Sexually transmitted diseases*. 3rd ed. USA: McGraw-Hill. pp 391-405.
- Sharpe RM, Irvine DS. (2004) How strong is the evidence of a link between environmental chemicals and adverse effects on human reproductive health? *BMJ* 328:447-51.
- Stam WE. (1999) *Chlamydia trachomatis* infections: Progress and problems. *J Infect Dis* 179 (Supp. 2): S380-S383.
- Terriquez-Fimbres MA y González BJ. (2003) Correlación entre el número de colonias bacterianas en espermocultivos con las alteraciones en los índices del análisis seminal. *El Colegio Mexicano de Urología A.C.* 18 (3): 100-105.
- Vigil P, Morales P, Tapia A, Riquelme R, Salgado AM. (2002) Chlamydia trachomatis infection in male partners of infertile couples: incidence and sperm function. *Andrologia* 34: 155-61.
- Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. (2004) Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 27(5): 1047-53.
- Wilson SM, Otth RL, Gutiérrez EM, Tejero PA, Moreno VM, Hering M. (1989) Detección de *Chlamydia trachomatis* en muestras uretrales mediante inmunofluorescencia directa. *Rev. Saúde Pública* 23 (6).
- Witkin SS, Jeremías J, Grifo JA, Ledger WJ. (1993) Detection of *Chlamydia trachomatis* in semen by the polymerase chain reaction in male members of infertile couples. *Am J Obstet Gynecol* 168: 1457-1462.
- World Health Organization. (2012) Global incidence and prevalence of selected curable sexually transmitted infections-2008.
- World Health Organization. (1992) Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 3rd ed.