

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias de la Salud

**Prevalencia de infección por *Chlamydia Trachomatis* y
Neisseria Gonorrhoeae en hombres asintomáticos de 18 a
25 años de edad**

Proyecto de Investigación

**Jennifer Valeria Apolo Campoverde
Medicina**

Trabajo de titulación presentado como requisito
para la obtención del título de
Médico

Quito, 15 de diciembre de 2015

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

COLEGIO CIENCIAS DE LA SALUD

**HOJA DE CALIFICACIÓN
DE TRABAJO DE TITULACIÓN**

**Prevalencia de infección por *Chlamydia Trachomatis* y *Neisseria Gonorrhoeae*
en hombres asintomáticos de 18 a 25 años de edad**

Jennifer Valeria Apolo Campoverde

Calificación:

Nombre del profesor, Título académico

Marisol Bahamonde, Médico Pediatra

Firma del profesor

Quito, 15 de diciembre de 2015

Derechos de Autor

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma del estudiante:

Nombres y apellidos:

Jennifer Valeria Apolo Campoverde

Código:

23905

Cédula de Identidad:

1103489074

Lugar y fecha:

Quito, diciembre de 2015

DEDICATORIA

Dedico este trabajo en primer lugar a Dios por haberme permitido llegar hasta este punto y lograr mis objetivos. A mis padres, de manera especial, ya que ellos fueron el principal cimiento para la construcción de mi vida profesional, crearon en mi las bases de responsabilidad y deseos de superación. A mis hermanos por ser mi compañía, mi apoyo y mi fuerza para seguir adelante. Y a mi novio, Santiago, quien me brindó su comprensión y amor infinito.

RESUMEN

Introducción: Según la OMS (Organización Mundial de la Salud) más de 1 millón de personas adquiere una ITS (infección de transmisión sexual) cada día (WHO, 2013). Las dos principales causantes de estas ITS son *Chlamydia Trachomatis* (CT) seguida de *Neisseria Gonorrhoeae* (NG) (CDC, 2014). Dado que aproximadamente el 80% de los casos son asintomáticos, no se puede determinar con exactitud la prevalencia de dichas infecciones (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2009). Las enfermedades de transmisión sexual se han convertido en un problema de salud pública, sobre todo en los países en vías de desarrollo. Esto ha ocurrido debido a que cada vez el inicio de actividad sexual es más temprano, en nuestro país el 59.3% de las mujeres y el 70,5% de los hombres de 15 a 24 años ya han tenido alguna experiencia sexual (INEC, 2012). En Ecuador no está establecida la prevalencia de las infecciones de transmisión sexual en una población joven ya que no existe un programa de tamizaje y monitoreo continuo establecido. Para realizar este tamizaje se utiliza una prueba de amplificación de ácidos nucleicos (NAAT) por PCR en tiempo real. (Johnson et al., 2002) Actualmente, esta prueba está disponible en el Ecuador, pero a un costo que la hace prohibitiva. Por esta razón planteamos la estandarización de una prueba de tamizaje, que sea realizada con la misma técnica que las disponibles en el mercado pero a un costo mucho menor.

Objetivo: Estandarizar una prueba para amplificación de ADN por PCR (Reacción en Cadena de Polimerasa) en tiempo real, para establecer la prevalencia de la infección por *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* en una muestra representativa de hombres universitarios entre 18 y 25 años de una institución de educación superior de la ciudad de Quito.

Metodología: Este es un estudio piloto epidemiológico analítico transversal. Se recolectaron muestras de la primera orina de la mañana de estudiantes de la Universidad San Francisco, posterior a la firma del consentimiento informado correspondiente. Cada participante fue capacitado para una correcta recolección de la primera micción en un frasco estéril con una cantidad aproximada de 20 mL, las muestras fueron conservadas a una temperatura de 2 a 8 ° C en el laboratorio de análisis molecular del Instituto de Microbiología de la USFQ, siguiendo los lineamientos de la OMS. Para el análisis molecular se desarrollará una técnica que consiste en la amplificación específica de CT y NG en 30 muestras con resultados conocidos, seguido por la extracción de ADN. Finalmente se realizará la amplificación a partir de primers específicos con PCR en tiempo real.

Palabras clave: *Chlamydia Trachomatis*, *Neisseria Gonorrhoeae*, Enfermedades de Transmisión sexual, hombres, prevalencia, Quito-Ecuador.

ABSTRACT

Introduction: According to WHO (World Health Organization) more than 1 million people acquire an STI (sexually transmitted infection) every day (WHO, 2013). The two main causes of these STIs are *Chlamydia trachomatis* (CT) followed by *Neisseria gonorrhoeae* (NG) (CDC, 2014). Since about 80% of cases are asymptomatic, it can not accurately determine the prevalence of such infections (Murray, Rosenthal, and Pfaller, 2009). Sexually transmitted diseases have become a public health problem, especially in developing countries. This has happened because every time the start of sexual activity is earlier, in our country 59.3% of women and 70.5% of men aged 15 to 24 have had sexual experience (INEC, 2012). In Ecuador it is not established the prevalence of sexually transmitted infections in young people because there is no screening program established and continuous monitoring. To perform this screening Nucleic Acid Amplification Test (NAAT) a PCR in real time is used (Johnson et al., 2002). Currently, this test is available in Ecuador, but at a cost that makes it prohibitive. For this reason we propose the standardization of a screening test, which is carried out with the same technique as those available in the market but at much lower cost.

Objective: To standardize a test for DNA amplification by PCR (Polymerase Chain Reaction) in real time, to establish the prevalence of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in a representative sample of college men between 18 and 25 years in an institution of higher education in the city of Quito.

Methodology: This is a cross-sectional analytical epidemiological pilot study. Samples of the first morning urine of students at the University San Francisco, after signing the corresponding informed consent were collected. Each participant was trained for proper collection of the first urination in a sterile bottle with an amount of 20 mL, that samples were stored at 2-8 ° C in the laboratory of molecular analysis of the Institute of Microbiology of the USFQ, following the WHO guidelines. For molecular analysis, a technique consisting of the specific amplification of CT and NG in 30 samples with known results will be developed. Then we will proceed to thaw samples for DNA extraction, finally with a real-time PCR, amplification was performed using specific primers.

Key words: *Chlamydia Trachomatis*, *Neisseria Gonorrhoeae*, Sexually Transmitted infections (STIs), men, prevalence, Quito – Ecuador.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	5
ABSTRACT	6
INTRODUCCIÓN	9
JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	12
OBJETIVO GENERAL	14
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
ASPECTOS BIOÉTICOS	14
METODOLOGÍA	16
POBLACIÓN DE ESTUDIO.	16
CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN	17
RECOLECCIÓN DE MUESTRAS	18
ANÁLISIS DE DATOS	20
POSIBLES IMPLICACIONES	22
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
ANEXO A: CONSENTIMIENTO INFORMADO	26
ANEXO B: ENCUESTA DE CONOCIMIENTOS, ACTITUDES Y PRÁCTICAS SEXUALES	30
ANEXO C: FORMULARIO DE RECOLECCIÓN DEL INFORMADOR	31

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 - Detalle de secuencia de primers y productos de amplificación específica de <i>Chlamydia trachomatis</i> y <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	18
--	----

INTRODUCCIÓN

Las infecciones de transmisión sexual (ITS) son causadas por más de 30 bacterias, virus y parásitos; siendo las principales *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoea*, *Trichomonas vaginalis*, hepatitis B, VIH (Virus de inmunodeficiencia humana) VPH (Virus del Papiloma humano), VHS2 (Virus Herpes simplex 2) y *Treponema pallidum* (sífilis). De estas 8 infecciones, 4 son actualmente curables (*chlamydia*, *gonorrhoea*, *trichomonas* y sífilis), mientras que las otras 4 causadas por virus (hepatitis B, VIH, VPH y VHS) son incurables, aunque existen tratamientos para modular la enfermedad. Según la OMS (Organización Mundial de la Salud) más de 1 millón de personas adquiere una ITS cada día, y al menos 500 millones de personas se contagian de una de las ITS más prevalentes (*chlamydia*, *gonorrhoea*, *trichomoniasis* y sífilis) cada año (World Health Organization [WHO], 2013). Estas infecciones, requieren de tratamiento adecuado y precoz, para prevenir riesgos para la salud de niños y adultos (WHO, 2012).

Chlamydia Trachomatis es una bacteria intracelular Gram-negativa, que tiene como principal sitio de infección, la uretra y el cérvix en mujeres y la uretra en hombres (Marazzo, 2015). En mujeres, aproximadamente un 80% de las infecciones urogenitales son asintomáticas, por lo que las mujeres se convierten en un importante reservorio para la diseminación de CT. Cuando la infección es sintomática, las manifestaciones clínicas incluyen cervicitis, bartolinitis, endometritis, perihepatitis, salpingitis y uretritis. En varios estudios se ha determinado que aproximadamente el 40% de mujeres que han tenido infección con CT y que no recibieron tratamiento, presentan enfermedad inflamatoria pélvica y de estas el 20% desarrollan infertilidad (Johnson et al., 2002).

En los hombres la mayoría de las infecciones por CT son sintomáticas, pero un 25% pueden ser asintomáticas (Murray et al., 2009). Otra presentación de infección por CT, puede ser uretritis no gonocócica (UNG). Aunque la UNG no es solamente causada por CT, se le ha atribuido ser la responsable de aproximadamente entre el 35% y 50% de los casos (Arango, Mattar y Visbal, 2001).

En el año 2010 en el CDC, se reportaron 1.3 millones de casos de infección por CT, sin embargo, esta cifra está subestimada dado que la mayor parte de los sujetos infectados no reciben un tratamiento farmacológico o reciben un tratamiento en ausencia de un diagnóstico específico (Murray et al., 2009).

Neisseria Gonorrhoeae, un coco Gram-negativo, cuyo único anfitrión natural es el ser humano, es una de las principales causas de morbilidad entre individuos sexualmente activos a nivel mundial (Murray et al, 2009). En Estados Unidos, por ejemplo, se ha reportado como la segunda causa más común después de CT. En el 2013 existieron 820,000 nuevos casos de gonorrea, de los cuales el 70% se presentaron en población joven, de 15 a 24 años (CDC, 2014). Esta infección en las mujeres se manifiesta como uretritis, cervicitis o enfermedad pélvica inflamatoria y en los hombres como uretritis o epididimitis. También pueden manifestarse como infección extragenital como proctitis, faringitis, conjuntivitis, las cuales son prevalentes en cierto grupos específicos, como en hombres que tienen relaciones sexuales con hombres (Ghanem, 2015).

Los factores de riesgo que predisponen a la infección, tanto de CT como de NG en la población entre 18 y 25 años son: una nueva pareja sexual, múltiples parejas sexuales, bajo nivel socioeconómico o educacional, abuso de sustancias o una historia previa de infección por dichas bacterias (Price & Bash, 2015).

Los esquemas preventivos norte americanos recomiendan que las mujeres menores de 24 años o aquellas mayores que posean un riesgo incrementado de infección se deben realizar un tamizaje para CT y NG. A pesar de que en el caso de los hombres no existe evidencia suficiente para evaluar el balance entre riesgos y beneficios para realizar un tamizaje (LeFevre, 2014), varios estudios han demostrado que el tamizaje dual, tanto para hombres como para mujeres, es más costo-efectivo que cuando se realiza únicamente en mujeres (Reagan, et al. 2012). En un estudio realizado por Blake et al. se encontró que en un tamizaje para CT de 2000 hombres ahorrará \$52,000 y eliminará 49 casos de enfermedad pélvica inflamatoria en sus parejas femeninas cada año, comparado a estudios en los que no se incluye un tamizaje para hombres.

Según el CDC, existen varios métodos para el diagnóstico de *Chlamydia Trachomatis* y *Neisseria Gonorrhoeae*, entre estos se encuentran los cultivos, la técnica molecular de NAAT (Nucleic Acid Amplification Testing), el test de EIA (Enzimoimmunoanálisis) y la técnica fluorescente DFA (Direct Fluorescent Antibody). En un principio se consideraba el cultivo como la prueba gold standard para el diagnóstico de *Chlamydia Trachomatis*, sin embargo esta técnica está sujeta a múltiples problemas, principalmente porque los organismos son lábiles in vitro (Papp et al., 2014). La técnica NAAT se caracteriza por amplificar secuencias de ácidos nucleicos que son específicos de los organismos detectados, esta técnica no requiere organismos viables (Johnson et al., 2002:4). Por esta razón, la NAAT posee una mayor sensibilidad y especificidad y es el método que se recomienda actualmente para el diagnóstico de la mayoría de los casos de infección con *Chlamydia Trachomatis* y *Neisseria Gonorrhoeae* (Peipert, 2003).

Justificación del estudio

Las enfermedades de transmisión sexual se han convertido en un problema de salud pública, sobre todo en países en vías de desarrollo. Esto ha ocurrido debido a que cada vez el inicio de actividad sexual es más temprano, por ejemplo, según el Instituto Nacional de Estadística y Censos del Ecuador (INEC), en el año 2012, en nuestro país casi 6 de cada 10 mujeres de 15 a 24 años ya han tenido alguna experiencia sexual, esto representa el 59.3%; mientras que el 70,5% de los hombres de 15 a 24 años han tenido alguna experiencia sexual (INEC, 2012).

El grupo etéreo de 18 a 24 años, es el que tiene mayor riesgo de contraer una ITS, principalmente *Chlamydia Trachomatis*, la cual es la responsable de la mayoría de las ITS a nivel mundial (Eley, 2011). En Ecuador la población masculina de 18-24 años representa un 4.64% de la población total (Eley, 2011).

A pesar de la existencia de métodos anticonceptivos de barrera como el preservativo masculino y femenino, aun existe un uso inconsistente de ellos por parte de los adolescentes y adultos jóvenes razón por la cual la prevalencia de las enfermedades de transmisión sexual aún es elevada. Estudios realizados en poblaciones de alto riesgo, han encontrado que la prevalencia de *Chlamydia* en hombres y mujeres de 16 a 24 años fue de 8% y 10.3% respectivamente, y que la prevalencia de gonorrea en mujeres de 20 a 24 años fue de 5,4% y en hombres de 6% (AAP, 2013).

En Ecuador no está establecida la prevalencia de las infecciones de transmisión sexual en una población joven. El Ministerio de Salud Pública (MSP) en el 2006 inició un manejo sindrómico de las ITS, en el cual se clasifica a la infección por clamidia y gonorrea como síndrome de secreción uretral y cervicitis, pero fueron consideradas solo como la

puerta de entrada al VIH y no se analizaron de manera individual. En nuestro país en el 2011 se reportaron 92.342 casos de gonorrea, según estadísticas del MSP, que corresponden al 25.9% de las ITS, en hombres, mujeres y neonatos, todos ellos sintomáticos. No hay información de cómo se realizó el diagnóstico y no existe una clasificación según población de mayor riesgo como por ejemplo en los adolescentes. Además dado que en la mayoría de casos las ITS son asintomáticas este dato subestima la prevalencia real (Murray et al., 2009).

Es muy relevante poder concientizar a la población joven sexualmente activa de la importancia de realizar un diagnóstico y tratamiento a tiempo de las enfermedades de transmisión sexual. En nuestro país existe una evidencia muy limitada de la prevalencia de infección por *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoea*. Este es un estudio piloto que permitirá determinar la prevalencia de estas infecciones en hombres jóvenes de 18 a 25 años en la ciudad de Quito, lo cual podría servir como entrada para implementar un programa de tamizaje a nivel nacional.

OBJETIVO GENERAL

Estandarizar una prueba para amplificación de ADN por PCR en tiempo real, para establecer la prevalencia de la infección por *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* en una muestra representativa de hombres universitarios entre 18 y 25 años de una institución de educación superior de la ciudad de Quito.

Objetivos Específicos

1. Establecer la prevalencia de infección por *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* en pacientes asintomáticos de 18-25 años
2. Estandarizar una prueba de diagnóstico eficaz para la detección de *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae*.
3. Establecer la relación de factores que pueden modificar la prevalencia de infección por *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae*

Aspectos Bioéticos

Este estudio cuenta con la aprobación por parte del Comité de Bioética de la Universidad San Francisco de Quito

En este estudio no se trabajo con población vulnerable y además la toma de muestras no fue invasiva, ya que esta simplemente consiste en recolectar la muestra de la primera orina de la mañana, en un frasco estéril. El único riesgo a considerar es la incomodidad generada al participante al momento de realizar la recolección de muestra o al

rellenar la encuesta, pero para minimizar dichos riesgos se hará un entrenamiento previo para la recolección de la orina de una manera optima.

La participación en este estudio fue totalmente voluntaria y se explicó a los participantes que toda la información sería estrictamente confidencial y que la única razón por la que se solicitaron datos como correo electrónico o número telefónico fue para comunicar su resultado. Dichos datos no serán revelados en ninguna circunstancia y en caso de publicaciones no se revelará los nombres de los participantes.

METODOLOGÍA

Población de estudio.

Este es un estudio epidemiológico analítico transversal. Previo a iniciar la recolección de muestras se obtuvo la aprobación por parte del comité de bioética de la Universidad San Francisco de Quito.

Los participantes fueron estudiantes de la Universidad San Francisco de Quito, a quienes un investigador entrenado explicó el estudio detenidamente, es decir, objetivos, beneficios, riesgos, la confidencialidad de los datos, el derecho a abandonar el estudio en cualquier momento que lo deseen, la forma de recolección de la muestra e instrucciones para llenar la encuesta del estudio, todo lo cual se encuentra en el consentimiento informado. Una vez firmado el consentimiento informado se completó una encuesta anónima de conocimientos, actitudes y prácticas sexuales.

Después de la firma del consentimiento informado, el consentimiento, la encuesta y la muestra, fueron codificados numéricamente para garantizar la confidencialidad a los participantes. Ni las muestras, ni las encuestas tienen ningún tipo de identificación de los participantes. Los consentimientos informados fueron archivados por separado bajo custodia del investigador principal y este fue la única persona con acceso a esta información. De igual forma la base de datos no incluyó identificaciones de las participantes, únicamente los códigos numéricos, respetando los criterios de ética para investigación observacional con sujetos humanos.

La encuesta se realizó de manera privada y confidencial ya que existían preguntas tales como inicio de vida sexual activa, número de parejas sexuales, prácticas sexuales entre otras que podrían causar incomodidad al responder delante de otras personas.

Adicionalmente se solicitaba número telefónico y/o correo electrónico de las personas que deseaban conocer el resultado de su prueba, para poder establecer contacto y comunicar los resultados una vez obtenidos. Dado que este es un estudio diagnóstico, no se otorgará tratamiento a los pacientes cuyo resultado sea positivo, pero se referirá un centro especialista para dicho propósito.

Criterios de inclusión y exclusión.

En este estudio se incluyó a todo aquel que aceptó formar parte del estudio sin ningún tipo de discriminación siempre y cuando cumplan los criterios de inclusión.

Los criterios de inclusión de las participantes del estudio fueron:

- 1) Hombre entre 18 y 25 años de edad
- 2) Hombre sexualmente activo
- 3) Aceptación para participar voluntariamente en el estudio (consentimiento informado)

Por otro lado los únicos criterios de exclusión fueron no cumplir los criterios de inclusión anteriormente nombrados o quienes no hayan otorgado su consentimiento de participación.

Recolección de muestras

Una vez obtenido el consentimiento informado los participantes fueron instruidos para la recolección de una muestra de la primera orina de la mañana. Se explicó que la recolección debe ser el primer chorro de la primera micción de la mañana, ya que lo que queremos obtener es una muestra uretral, en un frasco estéril, idealmente con un volumen máximo de 20 mL. Este procedimiento se realizó en casa y el participante transportó la muestra a la USFQ donde se entregó a una investigadora para posteriormente ser procesada. Es importante decir que para el transporte la muestra no requiere refrigeración, preservación u otro tipo de cuidado especial. Además de la muestra de orina el participante entrega la encuesta correspondiente, ambas con su código respectivo.

Las muestras fueron conservadas a una temperatura de 2 a 8 ° C en el laboratorio de análisis molecular del Instituto de Microbiología de la USFQ, siguiendo los lineamientos de la OMS para el transporte de muestras.

Análisis molecular

Los protocolos de extracción, amplificación y detección molecular serán ejecutados con una estrategia desarrollada en el Instituto de Microbiología de la USFQ con apoyo técnico de los colaboradores de esta investigación. La validación del método se establecerá con la amplificación específica de *Chlamydia Trachomatis* y/o *Neisseria Gonorrhoea* en 30 muestras con resultados conocidos. Se establecerá los indicadores de sensibilidad y especificidad analíticas, así como también los valores predictivos e índices de verosimilitud positiva y negativa para cada determinación.

Extracción de ADN

Una alícuota de cada muestra será descongelada en refrigeración toda la noche, antes de procesar se permitirá que las muestras alcancen temperatura ambiente. En caso de observarse cristales precipitados, las muestras serán incubadas a 37°C durante 15 minutos, o hasta observar la completa dilución de los cristales.

Las muestras serán homogenizadas por medio de agitación en vórtex durante 10 segundos. Se utilizará un método de extracción basado en la aplicación de una solución de extracción que consiste en 2% de CTAB (cetyltrimethylammonium bromide), 1.4 M NaCl, 100mM TRIS-HCl (pH 8.0); seguido de la aplicación de una mezcla de cloroformo : alcohol isoamílico (24:1); una precipitación con 2-propanol, lavado con etanol al 70% y una resuspensión final en solución de TE (Demeke T., 2010). La concentración y calidad del ADN obtenido se establecerán por métodos espectrofotométricos de alta precisión (Nanodrop).

Amplificación y detección

Una PCR en tiempo real será estandarizada en el equipo CFX 96 (BIORAD). Siguiendo el protocolo de Yang *et al*, 2014; se aplicará una múltiplex PCR para la detección simultánea de CT y NG. Los primers a utilizar en la reacción se describen en la Tabla1.

Tabla1. Detalle de secuencia de primers y productos de amplificación específica de *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae*

Patógeno	Primers (5'-3')	Tamaño de Amplicón	Gen No.
Neisseria gonorrhoeae	F: GATGTCACCCTGTACGGTGCCATCAAA R: GGATTCCCAAGCATTGACGTT	327	GU058271.1
Chlamydia trachomatis	F: GTAGCCCTACCGGAAGGTGG R: CAAACTATATGTCTCGTCCTCACC	167	CP002401.1

La mezcla de reacción SsoFast™ EvaGreen® Supermix será adquirida comercialmente (BIORAD). Las condiciones para la amplificación consisten en una denaturación inicial de 5 min a 94°C ; luego 35 ciclos a 94 °C por 30seg, 60 °C por 90seg y 72 °C por 90s. Finalmente una extensión final a 72 °C por 10 min. Los productos de amplificación serán confirmados con una electroforesis en gel de agarosa al 1.5% y la verificación de la temperatura de melting.

Análisis de datos

La información obtenida tanto de las encuestas como los resultados del análisis molecular serán ingresados a una base de datos. El análisis estadístico se lo realizará a través del programa StatisticalPackagefor Social Sciences, SPSS. Este programa cuenta con los requisitos necesarios para calcular la prevalencia de la infección. Para dicho cálculo se usará el número de casos positivos dividido para el número total de la población y multiplicado por 100 para así obtener un porcentaje. Para esto se usará un intervalo de confianza del 95% con un error permisible del 5%.

El reporte de los resultados obtenidos en cuanto al número de casos se los reportará por edad y se analizará el riesgo relativo según el número de compañeros sexuales, edad de inicio de actividad sexual, sintomatología como secreción anormal del área genital, disuria y relaciones sexuales no seguras.

POSIBLES IMPLICACIONES

El objetivo de estandarizar una prueba para tamizaje de CT y NG, es contar con un método para determinar la prevalencia de infección por *Chlamydia Trachomatis* y *Neisseria Gonorrhoeae* en hombres asintomáticos de 18 a 25 años de edad. En Ecuador como en la mayoría de países de Latinoamérica existen pocos estudios de prevalencia de dichas infecciones. Existe un estudio similar al nuestro realizado en la ciudad de Barcelona en el que se estudia la prevalencia de infección por *Chlamydia Trachomatis* y *Neisseria Gonorrhoeae* en población joven. En este estudio se encontró que la prevalencia de CT en hombres fue de un 7,7% y en NG del 0,5% con una prevalencia mayor (5,8%) en el grupo de edad menor a 25 años (Corbeto et al., 2011). En este estudio se incluyó población extranjera, en la que se encontraban incluidos latinoamericanos, y fue en ellos en quien se encontró la mayoría de casos positivos, es por esto que en nuestro estudio esperaríamos resultados similares, ya que existen similitudes en cuanto a la población en estudio.

Actualmente, en el Ecuador no existe un programa para la detección temprana de la infección por CT y NG en hombres. El realizar un tamizaje en pacientes asintomáticos, es decir, realizar una intervención temprana en hombres que mantienen relaciones sexuales con mujeres, es útil para reducir la infección o reinfección de sus parejas o la transmisión a nuevas parejas, sobre todo en áreas consideradas con alta prevalencia. En el caso de hombres que mantienen relaciones sexuales con hombres se benefician aún más de este tamizaje ya que poseen mayor número de infecciones de transmisión sexual y además no se puede acceder a ellos a través de tratamientos realizados a mujeres (Ghanem & Tuddenham, 2015).

Por otro lado, el no realizar una intervención temprana de dichas infecciones puede ocasionar en los hombres una infección con mayores complicaciones. Una de ellas es la uretritis sintomática, que es causada en mayor proporción por NG, pero también puede ser por CT y se presenta con secreción uretral mucoide o acuosa y disuria. Otra complicación de estas infecciones es la epididimitis, la cual se manifiesta con dolor testicular unilateral, hidrocele o edema palpable, esto a largo plazo puede ser causante de infertilidad hasta de un 50% de los casos en parejas. Además podrían existir manifestaciones extragenitales como la proctitis, conjuntivitis o faringitis (Marazzo, 2015).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arango. C., Mattar. S., Visbal. J., (2001). Chlamydia Trachomatis: Aspectos Microbiológicos, clínicos y epidemiológicos. *Revista MVZ Cordova*; (6):2, 87-96. Recuperado de: <<http://www.redalyc.org>>
- American Academy of Pediatrics, AAP. (2013). Condom Use by Adolescents. (132) :5, 973 – 983. doi: 10.1542/peds.2013-2821
- Blake. D., et al. (2008). Should asymptomatic men be included in Chlamydia screening programs? Cost-effectiveness of Chlamydia screening among male and female entrants to a national job training program. *Sex Transm Dis.* (35): 1, 545–550. doi: 18449069
- Johnson. R., et al. (2002). Screening Tests To Detect Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae Infections. *Morbidity and Mortality Weekly Report.* (51): 15, 3-5
- Centers for Disease Control and Prevention, CDC, (2014). Sexually Transmitted Diseases Surveillance – Gonorrhea. Recuperado de: <<http://www.cdc.gov>>
- Corbeto et al., (2011). Prevalencia de la infección por *C. Trachomatis* y *N. Gonorrhoeae* y determinantes para su adquisición en jóvenes y adultos-jóvenes en Cataluña. *Enfermedades Infecciones y Microbiología Clínica.* (29): 2, 96 – 101. doi: 10.1016/j.eimc.2010.08.011
- Demeke. T., Jenkins. G., (2010). Influence of DNA extraction methods, PCR inhibitors and quantification methods on real-time PCR assay of biotechnology-derived traits. *Analytical and Bioanalytical Chemistry.* (396): 6, 1977 – 1990. doi: 10.1007/s00216-009-3150-9.
- Eley. A., (2011). How to Detect Chlamydia Trachomatis in Males?. *Journal of Andrology.* (32): 1, 15-22. doi: 10.2164/jandrol.110.010363
- Ghanem. K., (2015). Clinical manifestations and diagnosis of Neisseria gonorrhoeae infection in adults and adolescents. *UpToDate Database.* Recuperado de: <<http://www.uptodate.com>>
- Ghanem. K., Tuddenham. S., (2015). Screening for sexually transmitted infections. *UpToDate.* Recuperado de: <<http://www.uptodate.com>>
- INEC, Instituto Nacional de Estadística y Censos, (2012). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. Demografía, salud materna e infantil y salud sexual y reproductiva. Recuperado de: <<http://www.ecuadorencifras.gob.ec>>

- Instituto Nacional de Estadísticas y Censos del Ecuador. Indicadores básicos 2013, Organización Panamericana de la Salud (OPS/OMS)
- LeFevre. M., (2014). Screening for Chlamydia and Gonorrhoea: U.S. Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *Annal of internal medicine*. Recuperado de: <<http://www.uspreventiveservicestaskforce.org/>>
- Marazzo. J., (2015). Epidemiology of Chlamydia Trachomatis infections. *UpToDate Database*. Recuperado de: <<http://www.uptodate.com>>
- Marazzo. J., (2015). Clinical manifestations and diagnosis of Chlamydia trachomatis infections. *UpToDate Database*. Recuperado de: <<http://www.uptodate.com>>
- Ministerio de Salud Pública del Ecuador. (s.f). VIH/SIDA e Infecciones de Transmisión Sexual en Ecuador. Recuperado de: <<http://instituciones.msp.gob.ec> >
- Murray. P., Rosenthal. K., Pfaller. M., (2009). Chlamydia y Chlamydothila. *Microbiología Médica*. Sexta edición. Elsevier – España. 441 – 449.
- World Health Organization (WHO), (2013). Sexually transmitted infections (STIs). Recuperado de: <<http://www.who.int>>
- Papp. J., Schachter. J., Gaydos. C., Van der Pol. B., (2014). Recommendations for the Laboratory-Based Detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. (63): 2, 1-23.
- Peipert. J., (2003). Genital Chlamydial Infections. *New England Journal of Medicine*. 2424 – 2430. doi: 10.1056
- Price. G., Bash M., (2015), Epidemiology and pathogenesis of Neisseria gonorrhoeae infection. *UpToDate Database*. Reecuperado de: <<http://www.uptodate.com>>
- Reagan M., et al. (Noviembre, 2012). A randomized trial of home versus clinic-based STD Screening among men. *National Institutes of Health*. (39):11, 842 – 847 doi:10.1097/OLQ.0b013E3182649165.
- Torrone. E., Papp. J., Weinstock. H., (2014). Prevalence of Chlamydia Trachomatis Genital Infection among Persons Aged 14 – 39 years – United States, 2007 – 2012. *Centers for Disease Control and Prevention*. (63): 38, 829 – 845. Recuperado de: <<http://www.cdc.gov>>
- World Health Organization. (2012). Global action plan to control the spread and impact of antimicrobial resistance in Neisseria Gonorrhoeae. Recuperado de: <<http://www.who.int>>



ANEXO A: Consentimiento informado

Comité de Bioética, Universidad San Francisco de Quito

El Comité de Revisión Institucional de la USFQ
The Institutional Review Board of the USFQ

Formulario Consentimiento Informado

Título de la investigación: Prevalencia de infección por *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* en hombres asintomáticos menores a 25 años. Estudio piloto

Organización del investigador

Universidad San Francisco de Quito

Nombre del investigador principal

Valeria Apolo Campoverde

Datos de localización del investigador principal

Teléfono fijo: 022433115

Celular: 0992715439

vale.apolo31@gmail.com

Co-investigadores

Saulo Erazo

Marisol Bahamonde M.D.

Sonia Zapata PhD

Fernanda Loayza, Msc

Ma. Elena Peñaranda, PhD

DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO

Introducción (Se incluye un ejemplo de texto. Debe tomarse en cuenta que el lenguaje que se utilice en este documento no puede ser subjetivo; debe ser lo más claro, conciso y sencillo posible; deben evitarse términos técnicos y en lo posible se los debe reemplazar con una explicación)

Este formulario incluye un resumen del propósito de este estudio. Usted puede hacer todas las preguntas que quiera para entender claramente su participación y despejar sus dudas. Para participar puede tomarse el tiempo que necesite para consultar con su familia y/o amigos si desea o no participar.

Usted ha sido invitado a participar en un investigación cuyos objetivos son determinar la prevalencia de infección por *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae*, en población joven asintomática de estudiantes universitarios. Los criterios de inclusión de los participantes del estudio serán:

- 1) Hombre con edad entre 18 y 25 años
- 2) Sexualmente activo
- 3) Acepte participar voluntariamente en el estudio (consentimiento informado)
- 4) Registrado en universidad o que se encuentre cursando estudios de educación superior

Los criterios de exclusión serán quienes no cumplan los criterios de inclusión o no otorguen su consentimiento de participación.

Propósito del estudio (incluir una breve descripción del estudio, incluyendo el número de participantes, evitando términos técnicos e incluyendo solo información que el participante necesita conocer para decidirse a participar o no en el estudio)

Este estudio busca establecer la prevalencia de infección por *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* en una muestra representativa de 400 hombres universitarios entre 18 y 25 años de una institución de educación superior de la ciudad de Quito. Determinar la existencia de esta infección en hombres sin síntomas es muy importante para prevenir complicaciones como enfermedad pélvica inflamatoria (infección generalizada de órganos reproductores femeninos) e infertilidad.

Asimismo, conocer la prevalencia de estas infecciones en nuestra población es trascendental porque no ha

sido estudiado con anterioridad o se tiene pocos datos al respecto. En este caso, dado que las pruebas de detección en el mercado de dichas infecciones son costosas y poco efectivas, se pretende desarrollar una prueba de detección rápida en la USFQ que sea costo-efectiva.

Descripción de los procedimientos (breve descripción de los pasos a seguir en cada etapa y el tiempo que tomará cada intervención en que participará el sujeto)

Para el estudio se requerirá una muestra de la primera orina de la mañana, a la cual se le realizará un análisis molecular para detectar la presencia de los microorganismos *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae*.

Inicialmente, el participante se entrevistará de forma privada con una investigadora entrenada durante aproximadamente 10 minutos, tiempo en el que se discutirá su posible participación en el estudio y se le informará el propósito del estudio, riesgos, beneficios, derechos y formas en las que se precautelará su información personal si decide participar en el estudio. En aceptación el participante firmará el consentimiento informado.

Si el participante decide participar en el estudio de forma voluntaria, durante 10 minutos se le explicará el proceso de recolección de la muestra en casa, llenará una encuesta anónima de conocimientos, actitudes y prácticas sexuales y se le entregará el frasco estéril para la recolección de la muestra.

La recolección será de primera orina de la mañana en un frasco estéril con un volumen máximo de 20mL. Las muestras serán recolectadas en casa, el tiempo de la recolección dependerá de la habilidad del participante. Una vez obtenida la muestra, el participante la transportará a la USFQ, donde entregará la muestra a una investigadora para su procesamiento. Para el transporte, la muestra no requiere refrigeración, preservación, u otro tipo de cuidado. Todas las muestras serán etiquetadas con códigos para posteriormente notificar al participante de forma privada y confidencial los resultados obtenidos.

La muestra será procesada en los laboratorios de la USFQ. Dado que la prueba de detección es experimental, los resultados serán entregados en el plazo máximo de 3 semanas a partir de que se recibe la muestra.

Riesgos y beneficios (explicar los riesgos para los participantes en detalle, aunque sean mínimos, incluyendo riesgos físicos, emocionales y/o psicológicos a corto y/o largo plazo, detallando cómo el investigador minimizará estos riesgos; incluir además los beneficios tanto para los participantes como para la sociedad, siendo explícito en cuanto a cómo y cuándo recibirán estos beneficios)

Riesgos:

Se debe mencionar que los posibles riesgos son la posible incomodidad del paciente al realizar la recolección de la muestra o durante el llenado de la encuesta respectiva. Para minimizar los riesgos, el participante será debidamente entrenado durante la entrevista para la recolección de una muestra de orina de la primera mañana en un frasco estéril de 20mL. Además, durante la encuesta se realizarán preguntas que considerarán la sensibilidad del caso, para no ocasionar ningún tipo de daño emocional. Asimismo, se mantendrá absoluta confidencialidad de la identidad de los participantes, ya que todos los datos y muestras recolectadas serán codificados.

Beneficios:

Los resultados parciales y completos de relevancia clínica serán reportados a los participantes. Al realizar un diagnóstico de las infecciones por *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae*, se previenen las complicaciones médicas de las mismas, así como su transmisión a nuevos sujetos.

Dentro de las instalaciones de la Universidad San Francisco de Quito se desarrollará y realizará una prueba de detección de *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* a menor costo que las disponibles en el mercado. Al ser este un estudio piloto, se espera que se aplique estudios similares en otros ambientes nacionales, lo cual beneficiará a la población en general al menor costo posible. En definitiva, se creará nueva tecnología para beneficio social. Es necesario resaltar la colaboración del Sustainable Science Institute (SSI) en

el desarrollo de la tecnología y difusión de la misma.

Confidencialidad de los datos *(se incluyen algunos ejemplos de texto)*

Para nosotros es muy importante mantener su privacidad, por lo cual aplicaremos las medidas necesarias para que nadie conozca su identidad ni tenga acceso a sus datos personales:

- 1) La información que nos proporcione se identificará con un código que reemplazará su nombre y se guardará en un lugar seguro donde solo el investigador tendrán acceso.
- 2) Si se toman muestras de su persona estas muestras serán utilizadas solo para esta investigación y destruidas tan pronto termine el estudio.
- 3) Su nombre no será mencionado en los reportes o publicaciones.
- 4) El Comité de Bioética de la USFQ podrá tener acceso a sus datos en caso de que surgieran problemas en cuando a la seguridad y confidencialidad de la información o de la ética en el estudio.

Derechos y opciones del participante *(se incluye un ejemplo de texto)*

Usted puede decidir no participar y si decide no participar solo debe decírselo al investigador principal o a la persona que le explica este documento. Además aunque decida participar puede retirarse del estudio cuando lo desee, sin que ello afecte los beneficios de los que goza en este momento.

Usted no recibirá ningún pago ni tendrá que pagar absolutamente nada por participar en este estudio.

Información de contacto

Si usted tiene alguna pregunta sobre el estudio por favor llame al siguiente teléfono 0984631971 que pertenece a Marisol Bahamonde, o envíe un correo electrónico a mbahamonde@usfq.edu.ec

Si usted tiene preguntas sobre este formulario puede contactar al Dr. William F. Waters, Presidente del Comité de Bioética de la USFQ, al siguiente correo electrónico: comitebioetica@usfq.edu.ec

Consentimiento informado	
Comprendo mi participación en este estudio. Me han explicado los riesgos y beneficios de participar en un lenguaje claro y sencillo. Todas mis preguntas fueron contestadas. Me permitieron contar con tiempo suficiente para tomar la decisión de participar y me entregaron una copia de este formulario de consentimiento informado. Acepto voluntariamente participar en esta investigación.	
Firma del participante	Fecha
Firma del testigo (si aplica)	Fecha
Nombre del investigador que obtiene el consentimiento informado	
Firma del investigador	Fecha

ANEXO B: Encuesta de conocimientos, actitudes y prácticas sexuales

ENCUESTA DE CONOCIMIENTOS ACTITUDES Y PRÁCTICAS SEXUALES - HOMBRES

Prevalencia de infección por *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* en mujeres asintomáticas menores a 25 años. Estudio piloto

La información que se solicita a continuación es estrictamente confidencial y será empleada exclusivamente para establecer la prevalencia de infección por *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae*. Solicitamos complete la información de manera verás, por cuanto esto permitirá obtener resultados confiables.

CÓDIGO .

1. Edad: años

2. Edad del inicio de actividad sexual años.

3. Durante el último mes ¿ha presentado flujo (secreción) en pene anormal?

4.1 SI 4.2 NO .

4. Durante el último mes ¿ha presentado molestias al orinar?

6.1 SI 6.2 NO .

ACTITUDES Y PRÁCTICAS SEXUALES

7. A que edad tuvo su primera relación sexual : años

8. Cuantas parejas sexuales ha tenido hasta el momento actual : .

9. Durante su última relación sexual su pareja utilizó preservativo?

9.1 SI 9.2 NO .

10. Durante el último año, ¿ha mantenido relaciones sexuales no seguras (con desconocidos)?

10.1 SI 10.2 NO .

ANEXO C: Formulario de recolección del informador

INSTRUCTIVO DE RECOLECCIÓN DE MUESTRA DE URINA

Prevalencia de infección por *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* en mujeres asintomáticas menores a 25 años. Estudio piloto

FORMULARIO DE RECOLECCIÓN DEL INFORMADOR

Prevalencia de infección por *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* en mujeres asintomáticas menores a 25 años. Estudio piloto

CÓDIGO .

1. FECHA día/mes/año --.

RESULTADO REPORTADO

Chlamydia trachomatis

2.1 POSITIVO . 2.2 NEGATIVO . 2.3 INVÁLIDO .

Neisseria gonorrhoeae

3.1 POSITIVO . 3.2 NEGATIVO . 3.3 INVÁLIDO .

ANALISTA RESPONSABLE: _____