Análisis del factor cervical de esterilidad

R. Rodríguez, R. Hernández, L. Cabrera, A. Fernández, P. Prieto* y J. Alberto

Facultad de Medicina. *Facultad de Psicología. Universidad de La Laguna. Hospital Universitario de Canarias. Tenerife. España.

SUMMARY

Objective: To investigate the role of both cervical mucus and semen parameters in diagnostic tests of the cervical factor: insler test, postcoital test (PCT) and in vitro sperm-cervical mucus penetration test (PT), with special interest in identified pathogenic organisms.

Material and methods: We investigated infertility in 376 infertile patients, concentrating on the cervical factor in 281 of them (74.73%), and using three test methods. Insler (n = 201), postcoital (n = 254), and PT (n = 79), and also endocervical and vaginal secretion cultures in all of them. Also the direct microimmunofluorescence test (Micro-Trak) and 222 routine sperm tests on their partners.

Results: Insler test was normal in 72.6% of the cases, without significant correlation with infection (NS). The postcoital test was pathological in 72.55% of cases. We correlated these with the Insler test results ($P < 0.005$; $\chi^2_1 = 105.670$), TPV results (NS), semen parameters ($P < 0.005$; $\chi^2_1 = 4.441$) and infection (NS), particularly with C. trachomatis ($\chi^2_1 = 0.529$; $P < 0.005$). The PT showed in 45.8% of cases the sperm did not penetrate, in 24.1% it did, in 3.6% mobility was lowered, and in 26.5% it was immobile, noting that PT was in correlation with sperm analysis ($P < 0.005$; $\chi^2_1 = 3.920$).

Conclusion: The results of the postcoital test depend on the properties of the mucus and semen, these being altered by the presence of C. trachomatis infection, so that PT is related to the sperm parameters.

Aceptado para su publicación el 12 de diciembre de 2002.

INTRODUCCIÓN

El estudio del factor cervical es un apartado importante dentro de la evaluación de la pareja estéril, y muchos autores preconizan su uso. No obstante, existe una gran controversia debido a la puesta en duda de la validez y el valor pronóstico de las diversas pruebas empleadas en su diagnóstico: el test de Insler, el poscoital (TPC) y el de penetración *in vitro* (TPV)[1-3].

Los artículos más recientes que hacen referencia al estudio del moco cervical se basan en los efectos del tratamiento hormonal, ya sea citrato de clomifeno o gonadotropinas, sobre éste, y señalan la dificultad de comparar los resultados debido a la ausencia de controles adecuados, la no confirmación de la ovulación en el ciclo de estudio y el momento de efectuar la muestra[4].

El TPC informa acerca de la técnica del coito, del moco cervical y la penetración de los espermatozoides en el mismo; sin embargo, a pesar de la gran cantidad de información que puede aportar, este test debe ser interpretado con sumo cuidado, ya que algunos autores estiman que es una prueba cara, sin valor pronóstico y cuyas características no son reproducibles por diferentes observadores; únicamente lo fueron el número y la motilidad espermática[5-7]. Hay dos grandes problemas en la validación del TPC: por un lado, la ausencia de una metodología estándar para su realización e interpretación, a pesar de las normas de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y de la Sociedad Americana de Fertilidad, y por otro, que los diversos estudios no diferencian los resultados según se haya tratado o no el factor cervical, existiendo una gran controversia de unas publicaciones a otras, lo que hace que el TPC en el diagnostico de esterilidad sea pobre para algunos autores, aunque para otros es imprescindible en la evaluación inicial de las parejas

estériles, al demostrar que la presencia de espermatozoides móviles sería un buen indicador de fertilidad. Sin embargo, Seibel et al objetivaron que el 30% de las parejas que no presentaron espermatozoides en el TPC quedaron gestantes en los 2 años siguientes, y Griffith et al comprobaron que entre el 25 y el 75% de los diagnósticos de fertilidad fueron incorrectos[2,6,8,9]. No obstante, una ventaja de la realización del TPC es que permite etiquetar la etiología de la esterilidad, diferenciando la de origen desconocido con aquellas relacionadas con un factor cervical[10]. También se ha citado la posible influencia negativa en las relaciones sexuales de las parejas estériles, pero Guid-Oei et al observaron que, cuando eran satisfactorias, dicha influencia era limitada, e incluso era más bien positiva, ya que implicaba a ambos miembros de la pareja en un mismo problema[11].

A pesar de la falta de acuerdo entre el valor diagnóstico y el pronóstico del TPC, ésta es una prueba fundamental en casi el 70% de las clínicas de esterilidad europeas[11].

Por otro lado, el TPV es utilizado por muchos laboratorios andrológicos para evaluar la funcionalidad del espermatozoide, ya que el potencial de fertilidad del semen no siempre se correlaciona con el espermiograma, pero sí lo hace con la penetración en el moco cervical, aunque su fallo no indicaría una fertilización deficiente *in vivo*[12,13].

Por todo ello, se estableció como objeto del presente trabajo evaluar la influencia tanto del moco cervical como de las características del semen en las diversas pruebas diagnósticas del factor cervical, prestando especial atención al papel que desempeñan los microorganismos patógenos identificados.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las pacientes de este estudio fueron sometidas al diagnóstico del factor cervical dentro del protocolo de esterilidad llevado a cabo en la Unidad de Reproducción del Hospital Universitario de Canarias. Todas las parejas eran estériles, basándonos en la imposibilidad de obtener una gestación tras un año de coitos sin protección.

Se efectuó el protocolo de esterilidad a un total de 376 mujeres, centrándonos en el análisis del factor cervical, efectuado en 281 de ellas (74,73%), llevando a cabo tres pruebas: el test de Insler, el TPC y el TPV, además de los cultivos de la secreción endocervical y vaginal a todas [illegible][4].

El día de la toma de la muestra de la secreción endocervical se eligió según la duración de los ciclos y la fecha de la última menstruación, efectuándose entre dos días antes y uno después del día esperado para el pico de hormona luteoestimulante (LH).

Test de Insler

Se efectuó a un total de 201 pacientes, con la toma de la muestra principalmente a mitad del ciclo ovárico, de modo que en el 62,51% de las pacientes tuvo lugar en el día 14 del ciclo; en un 17,9% en el día 13; en el 8,9% en el 12; en el 5,08% en el 15; en el 2,58% en el 16; en el 11,56% en el 11, y en el 0,49% en los días 17 al 19 del ciclo. En primer lugar, y tras la introducción del espéculo vaginal con la exposición del cuello se evalúa la cantidad de moco, el aspecto y el color. El moco se recoge del endocérvix con un tubo de polietileno, aspirándolo con una jeringa de insulina, siguiendo los criterios de la OMS para establecer su puntuación[15,16].

Test poscoito

Se practicó a un total de 254 mujeres estériles, a 174 de las cuales se había realizado también un test de Insler.

En el día 14 del ciclo se efectuó un 64,21% de los tests; en el 13 un 18%; en el 12 un 7,94%; en el 15 un 4,47%; en el 16 un 1,73%; en 11 un 1,15%, y en los días 17 al 20 un 0,58%. Tras un período de abstinencia de 3 a 5 días, la paciente tenía relaciones sexuales en su domicilio, estando en reposo durante una hora, acudiendo a la consulta y realizando la toma del canal endocervical entre las 2 y 8 h siguientes. Una vez en la consulta, se exponía el cuello con un espéculo, procediendo a aspirar el moco con una cánula de polietileno a la que se adaptaba una jeringa de insulina, colocando la muestra sobre un porta, cubriéndola con un cubre y observando la toma al microscopio óptico a 40x, siguiendo los parámetros de la Sociedad Americana de Fertilidad[15,17,18].

Test de penetración *in vitro*

Esta prueba se llevó a cabo en 79 casos. Se procedía a recoger el moco de igual manera que en el test de Insler y, a su vez, la paciente aportaba una muestra de semen recogido por masturbación y tras 3 a 5 días de abstinencia sexual. En un portaobjetos se coloca el moco cervical y el semen, y se visualiza la interfase moco-semen hasta que los espermatozoides penetran en el moco[18,19].

Para el diagnóstico infeccioso se han realizado cultivos de la secreción endocervical en los medios Thayer-Martin, Chocolate Agar, extensión para la tinción

de Gram y toma de muestra para el test de microinmunofluorescencia directa para la identificación de *Chlamydia trachomatis* (Micro-Trak®). En la vagina se tomaron muestras de su secreción para un examen en fresco, y se llevaron a cabo el test de la potasa, una siembra directa en los medios Saboureaud para la detección de levaduras tipo *Candida* spp., HBT (*Human Bilayer Tween Agar*) para el aislamiento de *G. vaginalis*, Agar McConkey para la detección de enterobacterias gramnegativas, Chocolate Agar y cultivo de *M. hominis* y *U. urealyticum* en el medio de transporte y siguiente siembra a las 24 h en el medio sólido Micoplasma Lyo® (BioMerieux). Asimismo se llevó a cabo serología para sífilis mediante la determinación del VDRL y FTA, detección de anticuerpos de hepatitis B y C, así como del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) (Axsym System, Abbott®).

También se efectuó un total de 222 espermiogramas en varones que eran las parejas de las pacientes estériles objeto del presente estudio, tras una abstinencia de 3 a 5 días, recogido por masturbación, y efectuando recuento y estudio de la motilidad, siguiendo los patrones de normalidad de la OMS[15].

Se codificaron los datos de cada paciente, introduciéndolos a continuación en un ordenador VAX/VMS 11-780, y se utilizó el programa SPSS para la consecución de frecuencias y de la relación estadística entre las diferentes variables.

RESULTADOS

La media de edad en las mujeres fue de 30,6 años. Un 83% presentaba una esterilidad primaria, un 16,2% secundaria y el 0,8% presentaba abortos habituales.

El aislamiento de agentes causales enfermedades de transmisión sexual fue en un 10,7% *Chlamydia trachomatis*, en un 0,3% gonococia y no se produjo ningún caso de sífilis. Las vaginitis fueron causadas por levaduras del género *Candida* en el 12,9% y hubo un 5% de vaginosis bacteriana; entre las enterobacterias destacaron un 3,8% de pacientes con *E. Coli* y un 0,3% con *Klebsiella pneumoniae*. Se detectó un aislamiento del 23,5% de *U. urealyticum* y un 4,8% de *Mycoplasma hominis*. Así, en el 47,3% se detectó algún tipo de microorganismo patógeno, o incluso más de uno en el 9,2%[14].

Test de Insler

En el 72,6% de los casos fue normal. La cantidad del moco en período periovulatorio se estableció en + en el 31,1%; ++ en el 26,3%, y +++ en el 42,6%. El aspecto del moco era cristalino en el 85,8%, turbio en el 12,6% y hemático en el 1,6%. La presencia de células se objetivó en un 51,6%; con una distribución en cuanto a frecuencia de células epiteliales en el 16,7%, seguido por los leucocitos asociados a eritrocitos en un 15,9%, en tanto que los eritrocitos como único hallazgo se detectaron en un 11,1% y los leucocitos aislados en un 6,3%. En menor proporción (0,8%) se observó la presencia de células clave, y de leucocitos junto con seudofilamentos de *Candida* (0,8%). La filancia fue superior a 8 cm, es decir, ovulatoria, en el 42,9%; no favorable o inferior a 8 cm en un 57,1%, y la cristalización fue en helecho en el 63,2%.

En presencia de infección el test de Insler fue óptimo en un 69,7% de las pacientes y desfavorable en el 30,3% restante, en tanto que cuando no la hubo, el moco era normal en el 75,5% y desfavorable en un 24,5%. Estudiadas asimismo otras características del moco, como la cantidad y la filancia, se demostró que no se vieron afectadas de manera estadísticamente significativa con la existencia o no de infección. Respecto al color del moco, en ausencia de infección, el 90,3% de los casos fue cristalino y turbio en el 9,7% de las tomas. Ante una infección, se estableció que el moco era cristalino en un 81,1% de las pacientes, turbio en el 15,6% y hemático en el 3,3%, no encontrando diferencias estadísticamente significativas entre ninguno de estos parámetros del moco y la infección.

Test poscoito

Se estableció como patológico en el 72,5%. La ausencia de espermatozoides se registró en el 19,3%, de uno a nueve espermatozoides por campo en el 53,2% y más de nueve en el 27,5% restante. En cuanto a la motilidad se observó que en el 37,9% de los casos más del 50% de los espermatozoides eran inmóviles, y lo era el 100% en el 19,7% de las pacientes, mientras que un 13,7% tenía menos del 40% de los espermatozoides inmóviles.

El porcentaje de espermatozoides con movilidad ++/+++ superior al 50% se presentó en el 14,3% de las pacientes, y el 18,2% tenía menos del 40% de los espermatozoides con esta movilidad.

Cuando el TPC era normal, el test de Insler lo fue en el 25% y desfavorable en un 3%, en tanto que cuando el primero era patológico, el moco fue normal en un 51% de los casos y patológico en el 21%, estableciéndose una relación estadísticamente significativa entre las características del moco y el resultado del TPC ($p < 0,005$, $\chi^2_1 = 5,670$). Este test se relacionó también con el TPV, de modo que cuando el TPC era patológico el TPV fue normal en el 22% de las pa-

TABLA I. **Comparación de los resultados del test de penetración *in vitro* (TPC) con el espermiograma**

ESPERMIOGRAMA	TEST POSCOITO*	PORCENTAJE
Patológico	Normal	13,14
Patológico	Patológico	48,57
Normal	Normal	13,71
Normal	Patológico	24,57

*$p < 0,005$; $\chi^2_1 = 4,441$.

TABLA II. **Comparación de resultados entre el espermiograma y el test de penetración *in vitro***

ESPERMIOGRAMA	TEST PENETRACIÓN *IN VITRO**	PORCENTAJE
Patológico	Normal	8,43
Patológico	Patológico	45,78
Normal	Normal	15,66
Normal	Patológico	30,12

*$p < 0,005$; $\chi^2_1 = 3,920$.

cientes y patológico en el 74%, y ante el TPC normal el TPV era normal en el 1% y patológico en el 3%, sin hallarse relación estadísticamente significativa entre ambas pruebas.

Al comparar los resultados con TPC con los del espermiograma se obtuvo una relación estadísticamente significativa para una $p < 0,005$ y $\chi^2_1 = 4,441$ (tabla I).

En ausencia de infección el 73,5% de los test poscoito resultaron patológicos frente a un 26,5% que fueron normales. En presencia de infección se obtuvo un 71,8% de tests patológicos, y el 28,2% fue considerado normal. También pudo observarse que, sin infección, en el 19,3% de los casos, no aparecieron espermatozoides, en el 26,1% su número se estableció en más de nueve, quedando el porcentaje restante incluido en el rango de uno a nueve espermatozoides por campo. Cuando se detectó infección, hubo ausencia de espermatozoides en el 19% de los pacientes, de uno a nueve espermatozoides en el 51,9%, en tanto que en el 29,1% de las muestras analizadas se registraron más de nueve. No se establecieron diferencias estadísticamente significativas respecto a la alteración del TPC ante una infección.

Test de penetración *in vitro*

En el estudio de penetración de los espermatozoides en el moco cervical se obtuvo que, en un 45,8% de los casos, éstos no penetraban, un 24,1% sí lo hacían, en tanto que en un 3,6% se disminuía su movilidad al entrar en contacto con el moco, y en un 26,5% penetraba pero se inmovilizaban. Al correlacionar sus resultados con el moco se observó que ante un TPV patológico el moco fue normal en el 51% y patológico en el 25%, en tanto que el con el TPV normal el moco lo era en el 16% y patológico en el 8%, no encontrando relación estadísticamente significativa. Sí se determinó una relación estadísticamente significativa entre el TPV y el espermiograma para una $p < 0,005$ y $\chi^2_1 = 3,920$ (tabla II).

Ante una infección el 22,2% de los espermatozoides penetraba en el moco cervical de la pareja, siendo el resultado de esta prueba normal, en tanto que no penetraban en un 50% de los casos, y se registró una inmovilización o una disminución de la movilidad de los mismos en el 19,4% y 8,45% de las muestras, respectivamente. Por otro lado, cuando el estudio de infección resultó negativo, el 25,5% de estas pruebas eran normales, en tanto que no penetraban los espermatozoides en un 42,6% y se inmovilizaban en el 31,9%.

Centrándonos en los microorganismos que asientan en el endocérvix, en el caso de *Neisseria gonorrhoeae* su escaso aislamiento del 0,3% impidió hacer una valoración estadística; sin embargo, al correlacionar *Chlamydia trachomatis* con el test de Insler y con el TPV no se observó relación estadísticamente significativa entre ambas variables.

Al relacionar la infección por *C. trachomatis* con el TPC, se observó que existe una relación estadísticamente significativa entre ambas variables para una $\chi^2 = 0,529$ y una $p < 0,005$ (tabla III).

No obstante, no se detectó ninguna relación significativa entre el aislamiento de *Ureaplasma urealyticum* y los resultados de las tres pruebas analizadas.

TABLA III. **Resultados del test de Insler, el test postcoito y test de penetración *in vitro* y detección de *Chlamydia trachomatis***

C. TRACHOMATIS	INSLER	PORCENTAJE	PENETRACIÓN *IN VITRO*	PORCENTAJE	POSTCOITO*	PORCENTAJE
Negativa	óptimo	62,43	Penetran	18,51	Normal	22,82
Negativa	Desfavorable	23,35	No penetran	65,43	Patológico	64,13
Positiva	óptimo	9,64	Penetran	3,70	Normal	4,34
Positiva	Desfavorable	4,56	No penetran	12,35	Patológico	8,69

*$\chi^2_1 = 0,529$; $p < 0,005$.

TABLA IV. **Resultados del test de Insler, poscoito y penetración in vitro en pacientes con aislamiento de Ureaplasma urealyticum**

U. UREALYTICUM	INSLER	PORCENTAJE	PENETRACIÓN *IN VITRO*	PORCENTAJE	POSTCOITO	PORCENTAJE
Negativo	Favorable	59,31	Penetran	18,75	Normal	20
Negativo	Desfavorable	19,11	No penetran	60	Patológico	57,14
Positivo	Favorable	13,72	Penetran	5	Normal	3,84
Positivo	Desfavorable	7,84	No penetran	16,25	Patológico	15,93

Espermiograma

El análisis de las muestras seminales fue normal en el 34,2%, y presentó algún tipo de ~~enfermedad~~ en el 65,8% de las mismas, distribuidas de la siguiente manera: disminución de la movilidad de los espermatozoides o astenozoospermia en el 20,8% de las pruebas, una reducción del número u oligozoospermia en el 2,4%, ambas alteraciones asociadas en un 13,1% y de forma grave en el 13,6%. Hubo azoospermia en el 13,6%, polizoospermia en el 1,8% y teratozoospermia o aumento de formas anormales o muertas, en una baja proporción (0,5%).

DISCUSIÓN

La tasa de moco cervical normal se presentó en el 72% de nuestras pacientes, cifra igual a la de otros autores que han utilizado para datar el día de la muestra la determinación del pico de LH ovulatorio, la monitorización ecográfica o la curva de temperatura basal, lo que indica que la elección del momento de la toma, siguiendo el tipo menstrual y la fecha de la última menstruación, nos acercaría al momento estimado de la ovulación[20].

A pesar de que no se ha encontrado ninguna influencia estadísticamente significativa entre las características del moco y la infección, descartando que altere sus características, sí se han observado el doble de casos con moco turbio o hemático ante una infección (el 18,9 frente al 9,7%).

Hemos obtenido una alta tasa de TPC patológicos (72,5%) frente a un 32,4% de otros autores, quizá porque éstos escogieron a una población libre de infección genital que, citando únicamente la incidencia de *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum,* afectaron al 10,7 y el 23,5% de nuestras pacientes, respectivamente, y en la que además excluyeron a los pacientes con azoospermia o teratozoospermia, que en nuestro estudio han supuesto un 14%[14,20].

Hemos comprobado que las características del moco están directamente relacionadas con el TPC, así como las del espermiograma. Otros autores también han obtenido este último hallazgo, demostrando, además, que los parámetros seminales más importantes que influyen en el resultado del TPC son la concentración y la motilidad o progresión espermática[22].

Ante un TPC patológico está indicada la realización de pruebas de penetración de moco cervical-espermatozoides *in vitro*. No hallamos una relación estadística entre ambas pruebas, lo que se explica porque esta última prácticamente nunca se indica cuando el TPC es normal.

No hemos llevado a cabo la detección de anticuerpos antiespermáticos, a pesar de que algunos autores estiman que es imprescindible (a este respecto, Kremer et al opinan que es la principal causa de un resultado patológico inexplicado en el TPC), pues otros autores no han hallado dicha relación y se ha demostrado que la presencia de anticuerpos en el moco cervical en una población no fértil es un hecho poco frecuente[23-26].

Las características espermáticas serían el principal componente que afectaría a los resultados del TPV, hecho también corroborado en nuestro estudio[12,13].

Se ha citado que la interacción moco-semen estaría alterada por la presencia de microorganismos que cambiarían el pH del moco cervical y que, además, alterarían la motilidad de los espermatozoides; sin embargo, Eggert-Kruse et al hallaron que su significación clínica es mínima en la penetración espermática. A este respecto, nosotros tampoco hemos encontrado influencia de la infección en el TPC ni en el TPV; sin embargo, sí hemos detectado una relación estadísticamente significativa cuando analizamos la presencia de *Chlamydia trachomatis*, microorganismo no aislado por dicho autor, aunque es cierto que cuando valoramos el resto de patógenos genitales no detectamos ninguna influencia negativa[14,27-29].

RESUMEN

Objetivo. Se ha evaluado la influencia tanto del moco cervical como de las características del semen en las diversas pruebas diagnósticas del factor cervical: test de Insler, test poscoito (TPC) y test de penetración *in vitro*, con especial atención al papel que desempeñan los microorganismos patógenos identificados.

Material y métodos. Se efectuó el protocolo de esterilidad a un total de 376 mujeres, centrándonos en el análisis del factor cervical, llevado a cabo en 281 de ellas (74,73%), ~~llevando a cabo~~ tres pruebas: Insler (n = 201), poscoito (n = 254) y penetración *in vitro* (n = 79), además de cultivos de la secreción endocervical y vaginal a todas ellas, y test de microinmunofluorescencia directa para la identificación de *Chlamydia trachomatis* (Micro-Trak®), así como 222 espermiogramas a sus parejas.

Resultados. El test de Insler fue normal en el 72,6% de los casos, no hallando relación con la infección (NS). El test poscoito se estableció como patológico en el 72,5% de los casos. Se relacionaron sus resultados con el test de Insler ($p < 0,005$; $\chi^2_1 = 5,670$), el test de penetración *in vitro* (NS), con los del espermiograma ($p < 0,005$ y $\chi^2_1 = 4,441$) y con la infección de manera global (NS) y por *C. trachomatis* en particular ($\chi^2_1 = 0,529$ y $p < 0,005$). En el test de penetración *in vitro* se observó que en un 45,8% de los casos los espermatozoides no penetraban, en un 24,1% sí lo hacían, en tanto que en un 3,6% se disminuía su movilidad y en un 26,5% se inmovilizaban, observando que el TPV se relacionaba con el espermiograma ($p < 0,005$ y $\chi^2_1 = 3,920$).

Conclusión. Los resultados del test poscoito dependen de las características del moco y del semen, y se encuentran alterados ante la presencia de infección por *C. trachomatis*, en tanto que el TPV se relaciona con los valores del espermiograma.

BIBLIOGRAFÍA

1. Eggert-Kruse W, Hofsäß A, Haury E, Tilgen W, Gerhard I, Runnenbaum R. Relationship between local anti-sperm antibodies and sperm-mucus interaction in vitro and in vivo. Hum Reprod 1991;6:267-76.
2. Beltsos A, Fisher S, Uhler M, Clegg E, Zinaman M. The relationship of the postcoital test and semen characteristics to pregnancy rates in 200 presumed fertile couples. Int J Fertil Menopausal Stud 1996;41:405-11.
3. Barnea E, McInnes R. Reappraisal of the postcoital test: A controlled study. Int J Fertil 1996;31:46-9.
4. Annapurna V, Dhaliwal LK, Gopalan S. Effect of two antiestrogens, clomiphene citrate and tamoxifen, on cervical mucus and sperm-cervical mucus interaction. Int J Fertil Womens Med 1997;42:225-8.
5. Bush MR, Walmer DK, Couchman GM, Haney AF. Evaluation of the postcoital test in cycles involing exogenous gonadotropins. Obstet Gynecol 1997;89:780-4.
6. Griffith CS, Grimes DA. The validity of the postcoital test. Am J Obstet Gynecol 1990;162:615-20.
7. Glatstein I, Best CL, Palumbo A, Sleeper LA, Friedman AJ, Hornstein M. The reproductive of the postcoital test: a prospective study. Obst Gynecol 1995;85:396-400.
8. Seibel M. Work up of the infertile couple. In: Seibel M, editor. Infertility: a comprehensive text. East Norwalk: Appleton and Lange, 1990; p. 10-2.
9. Guid Oei S, Bloemenkamp K, Helmerhorst FM, Naaktgeboren N, Keirse H. Evaluation of the postcoital test for assessment of «cervical factors» infertility. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 1996;64:217-20.
10. Belaisch J. Que reste-t-il du test post-coital? Contracept Fertil Sex 1999;27:823-5.
11. Guid Oei S, Keirse M, Bloemenkamp K, Helmerhorst FM. European postcoital test: opinions and practice. Br J Obst Gynaecol 1995;102:621-4.
12. Johnson A, Bassham B, Lipshultz LI, Lamb DJ. Fertil Steril 1995;64:832-7.
13. Farhi J, Bahadur G, Henfield F, Steele SJ, Jacobs HS.In vitro cervical mucus sperm penetration tests and outcome of infertility treatments in couples with repeatedly negative postcoital tests. Hum Reprod 1995;10:85-90.
14. Rodríguez R, Hernández R, Fuster F, Torres A, Prieto P, Alberto J. Infección genital y esterilidad. Enferm Infecc Microbiol Clin 2001;19:261-6.
15. Wang C, Waites G, Neischlag E. The World Health Organization laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. Cambridge: Cambridge University Press, 1992.
16. Moghissi KS. Postcoital test: phisiologic basis, technique and interpretation. Fertil Steril 1976;27:117-29.
17. American Fertility Society. Investigation of the infertile couple. American Fertility Society, 1986.
18. Moreno Pacha E, Sánchez F, Moliní JL. Metodología diagnóstica y terapéutica de la interacción moco-semen. Act Reprod Hum 1996;1:2-14.
19. Schalaff WD, Rock JA. Decision making in reproductive endocrinology. Boston: Blackwell Scientific Publications, 1993.
20. Eggert-Kruse W, Köhler A, Rohr G, Runnebaum B. The pH as an important determinant of sperm-mucus interaction. Fertil Steril 1993;59:617-28.
21. Guid Oei S, Helmerhorst FM, Bloemenkamp KWM, Dersjant-Rooarda M, Keirse M. Predicting optimal cervical mucus for infertility diagnosis. Eur J Obst Gynecol Reprod Biol 1997;73:63-6.
22. Franken DR, Pretorius S, Globler S, De Wet JI. Important semen parameters during postcoital testing. Arch Androl 1985;14:213-5.
23. Kremer J, Jager S, Van Slochteren-Draaisma T. The «unexplained», poor post coital test. Int J Fertil 1978;23:277-81.
24. Lombardo F, Gandini L, Dondero F, Lenzi A. Antisperm immunitiy in natural and assisted reproduction. Hum Reprod Update 2001;5:450-6.
25. Eggert-Kruse W, Doll A, Böckem S, Runnenbaum B. Evaluation of cervical mucus antibodies with indirect mixed antiglobulin reaction (MAR) test. Kongres proceedings, Dreiländertagung Fertilität und Sterilität, Goslar, Alete Wiss. Dienst 1991;283-4.
26. Ten Brug CS, De Jogh-Mulders M, Vermeiden JPW, Bernardus RE, Schoemaker J. Pregnancy rate and incidence of agglutinating antisperm antibodies (Ag-ASA): a retrospective study. In: Human Reproduction: abstract of the 10th Annual Meeting of the ESHRE, 1994; p. 97.
27. Núñez-Troconis J. *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum* en diferentes patologías ginecológicas. Invest Clin 1999;40:9-24.
28. Eggert-Kruse W, Pohl S, Näher H, Tilgen W, Runnebaum B. Microbial colonization and sperm-mucus interaction: results in 1000 infertile couples. Hum Reprod 1992;7:612-20.
29. Tredway DR, Wortham JW Jr, Condon-Mahony M, Baker D, Shane JM. Correlation of postcoital evaluation with in vitro sperm cervical mucus determinations and ureaplasma cultures. Fertil Steril 1985;43:286-9.