

Universidad Nacional del Nordeste

Facultad de Medicina

TRABAJO FINAL INTEGRADOR

Especialización en Bacteriología Clínica

**FRECUENCIA DE AISLAMIENTO DE GÉRMENES COMUNES EN SEMEN Y SU
RELACIÓN CON LA CALIDAD ESPERMÁTICA EN PACIENTES CON PROBLEMAS DE
INFERTILIDAD**

ALUMNA

Sara Inés Irigoyen

DIRIGIDO POR

María de los Ángeles Sosa

Resistencia

Argentina

2016

ÍNDICE:

1. AGRADECIMIENTOS.....	2
2. INTRODUCCIÓN.....	3
3. HIPÓTESIS.....	8
4. JUSTIFICACIÓN.....	9
5. OBJETIVOS.....	10
5.1 Objetivo general.....	10
5.2 Objetivos específicos.....	10
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
6.1 Muestra poblacional.....	11
6.2 Criterios de exclusión.....	11
6.3 Muestras.....	11
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	14
8. CONCLUSIONES.....	18
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	20

1.AGRADECIMIENTOS

-A la Directora del Laboratorio de Análisis Clínicos y Hormonales de la Clínica Dres. Estragó de la ciudad de Corrientes, Bioq. Sonia A. Pilar, Especialista en Bioquímica Endocrinológica, Ginecológica y Reproductiva por permitir la realización de este trabajo de investigación.

-A la Bioq. Ingrid M. Hochmuth, responsable a cargo del área de Andrología del Laboratorio de Análisis Clínicos y Hormonales de la Clínica Dres. Estragó de la ciudad de Corrientes por su participación en el procesamiento de las muestras.

-A la Bioq. María de los A. Sosa, por su aporte en el desarrollo del presente trabajo de investigación.

-A mi familia por el apoyo incondicional.

2. INTRODUCCIÓN

El diagnóstico exacto de la causa de infertilidad es el resultado de un proceso pluridisciplinar, pudiendo recurrir a numerosos exámenes complementarios de distinta complejidad. Es muy importante, ya que condiciona la elección de un tratamiento o de una técnica de procreación médicamente asistida. Globalmente, la estrategia de exploración de la infertilidad masculina tiene 4 pasos: un interrogatorio, un examen clínico, los exámenes biopatológicos de primera intención: espermograma-espermocitograma, espermocultivo y los exámenes de segunda intención cariotipo y anomalías, exámenes de exploración de los caracteres funcionales de los espermatozoides, dosificaciones hormonales, bioquímica seminal¹. En el estudio de la pareja infértil se incluye el **análisis microbiológico** del semen (espermocultivo) en búsqueda de posibles infecciones que pudieran ocasionar alteraciones en la calidad del mismo. Se considera que del 10 al 15% de las parejas en edad reproductiva son infértiles, y en el 50% es el factor masculino el responsable de ello².

El **semen** contiene una heterogeneidad de componentes: A) fracción celular: células espermáticas, leucocitos y células epiteliales, y B) fracción plasmática. Los espermatozoides pueden infectarse en el epidídimo, conducto deferente o uretra. Los microorganismos pueden estar presentes en el semen y asociarse con espermatozoides y/o otras células presentes en el líquido seminal como leucocitos, células epiteliales, glóbulos rojos, etc., especialmente cuando existe algún tipo de inflamación o trauma de las glándulas sexuales accesorias (próstata, vesícula seminal, o glándula bulbouretral) Si bien existen estudios sobre la asociación patógeno-espermatozoide muchos de ellos no son concluyentes debido a que la detección de esta unión es compleja y en algunos casos, poco clara³.

Las **infecciones** alteran la secreción de las glándulas anexas, generan obstrucciones de la vía seminal, y pueden desencadenar una respuesta inmunológica con aparición de

anticuerpos antiespermáticos secundaria a la infección. Las células atraídas y activadas en esa respuesta inflamatoria pueden producir daños con los productos de su secreción a la calidad seminal (citoquinas, radicales libres, etc)^{4,5}. La disminución del potencial de membrana mitocondrial, movilidad y viabilidad en los espermatozoides no sólo se ve afectada por las especies reactivas de oxígeno (ROS) presentes en estos procesos inflamatorios urogenitales sino también por acción directa del germen o a través de factores solubles liberados por éste⁶⁻¹⁰. Si por cualquier razón la infección persiste, se forman microcolonias asociadas a películas biológicas (biofilms) que se adhieren al epitelio de los conductos prostáticos. Estas colonias producen matrices de exopolisacáridos que, a su vez, envuelven estas microcolonias creando un medio ambiente especial donde las bacterias, en caso de condiciones propicias, pueden "invernarse" y producir estímulos antigénicos pequeños pero repetidos que conducen a la inflamación crónica y a la perpetuación de la infección prostática. Se ha puesto de manifiesto que estas microcolonias están rodeadas de un infiltrado de linfocitos, células plasmáticas y macrófagos. En esta situación es difícil para los anticuerpos, las células fagocitarias y los antimicrobianos llegar a las bacterias así atrincheradas, lo que contribuye a la tendencia a la cronicidad de la infección¹¹.

Es importante remarcar que el varón puede ser el reservorio de patógenos transmisibles por vía sexual que pueden afectar la capacidad reproductiva de la mujer, a través de alteraciones endometriales o del factor tubario².

Otros factores que afectan a la fertilidad: Contaminación ambiental¹²; consumo de alcohol¹³; quimioterapia, radioterapia¹⁴; factores endócrinos⁴ y genéticos¹⁵.

Los **síndromes de prostatitis** tienen alcance clínico sobre el **área de la fertilidad**, con una presentación clínica extremadamente variable que puede ocurrir en cualquier momento de la vida del paciente¹⁶. Las prostatitis se clasifican desde 1995 según el Consenso del National Institutes of Health en: I-Prostatitis bacteriana aguda (PBA), II-

Prostatitis bacteriana crónica (PBC), III-Síndrome de dolor pélvico crónico (IIIA: inflamatorio, IIIB: no inflamatorio) y IV-Prostatitis inflamatoria asintomática¹⁷.

La presencia de leucocitos en el eyaculado de varones infértiles y su relación con la presencia de microorganismos está ampliamente documentada. Según criterios de la OMS, valores $> 10^6$ leucocitos/ml se considera patológico. Sin embargo, hay controversia acerca de la relación entre leucospermia y bacteriospermia, así como si la presencia de bacterias representa únicamente contaminación, sobre todo en varones asintomáticos¹⁸. Diferentes series dan como valores habituales de leucocitospermia a niveles por debajo de $0,5 \times 10^6$ PMN/ml^{19,20}. La composición del exudado leucocitario está relacionada con el tipo de germen implicado o con el factor irritante presente que provoque su aparición⁵. Algunos microorganismos pueden no constituir un estímulo antigénico suficiente como para lograr la migración leucocitaria²¹. Además una obstrucción ductal impediría a los leucocitos llegar al eyaculado²². Por ello, ante un espermograma alterado, con o sin leucocitospermia, cabe interrogarse si existe una etiología infecciosa subyacente o si se está frente a los efectos persistentes de una infección silenciosa previa².

El semen está compuesto de espermatozoides almacenados en el epidídimo y las secreciones de las vesículas seminales, próstata, y glándulas bulbouretrales, y cada región es normalmente estéril. Por eso es probable que los microorganismos hallados en el semen provengan principalmente de contaminación de la flora uretral o sean comensales de la piel. Aunque los comensales pueden no tener ningún significado en la concepción natural, **la contaminación de un cultivo en reproducción asistida puede limitar en gran manera el éxito del proceso**. Este hecho da un nuevo impulso al problema. Si la contaminación uretral contribuye significativamente a la bacteriospermia, la fracción media de la orina tendría menos concentraciones de microorganismos que la primera fracción, y la recogida del semen tras la orina puede ser un modo efectivo de reducir la concentración de microorganismos previo a un proceso de reproducción

asistida¹⁸. En 1968 Meares y Stamey²³ introdujeron una técnica que hasta hoy es el estándar de oro en el diagnóstico de infección en la glándula prostática pues permite diferenciar entre uretritis, infección vesical y prostatitis inflamatoria o bacteriana. En los procesos crónicos, la muestra ideal debiera ser estéril (biopsias y punción aspirativa). Al ser estas técnicas invasivas los métodos indirectos resultan de mayor aceptación (como el cultivo de semen o la técnica de las cuatro muestras descrita por Stamey y Meares, con el agregado de semen). Mobley et al²⁴, demostraron la utilidad del espermocultivo en el diagnóstico de la infección prostática cuando la orina es estéril. Otros autores como McGowan et al²⁵, Witkin et al²⁶, Naessens et al²⁷ y Jarvi et al²⁸, basan el diagnóstico de bacteriospermia significativa en el cultivo de semen. Nickel et al²⁹ han demostrado que utilizando únicamente la primera fracción del chorro de orina y la orina postmasaje se obtiene el mismo resultado microbiológico que empleando el método de los cuatro vasos en el 91% de los pacientes. Santoiani et al³⁰ encontraron diferencias estadísticamente significativas comparando los resultados obtenidos con la técnica de cultivo de semen, con los de la técnica de Stamey y Meares con el agregado de semen y propusieron como método de screening, la realización del estudio cuali y cuantitativo de la orina de la primera porción y el semen. En el paciente la probabilidad de tener PBC después del resultado positivo tanto del espermocultivo y urocultivo es un 97% y 100%, respectivamente, sin embargo, cuando el resultado es negativo la probabilidad de padecer esta enfermedad es de 69 y 79% respectivamente³¹. Estudios realizados con una prueba alterna consistente en realizar un espermocultivo y tres cultivos cuantitativos con muestras fraccionadas de orina obtuvieron resultados más confiables si bien no permiten una localización de la infección³².

Existe en la bibliografía varios trabajos pero ninguno de ellos es concluyente y no se ha demostrado relación entre la presencia de leucocitos, presencia o ausencia de bacteriospermia y parámetros seminales, sobre todo si no hay signos clínicos de

infección³³⁻³⁵. Sin embargo otros estudios en el que se analizan los hallazgos bacteriológicos según los criterios de Meares y Stamey, sugieren que el papel de la leucospermia en varones asintomáticos debe ser reevaluada. Así, la presencia de un porcentaje mayor al 25% de pacientes con gérmenes patógenos indica la necesidad de realizar un cultivo fraccionado de orina y semen como parte del estudio de esterilidad¹⁹.

La asociación entre infección genital por micoplasmas y el desarrollo de alteraciones espermáticas ha sido materia de controversia entre los andrólogos y biólogos de la reproducción, si bien muchos estudios tienden más a apoyar tal asociación que a refutarla^{36,37}. Varios autores han reportado que hay diferencias en el tipo y prevalencia de infección en el hombre fértil o sub-fértil y que el daño de la función espermática suele ser muy frecuentemente secundario a la epididimitis y la prostato-vesiculitis crónicas, en cambio otros no han encontrado relación alguna³⁸.

Los microorganismos que normalmente colonizan la uretra distal o anterior constituyendo la flora normal uretral podrán en circunstancias determinadas ascender o migrar hacia otras zonas del aparato urogenital y desencadenar una infección². Los gérmenes que no integran la flora normal podrán o no ser eliminados por los mecanismos de defensa locales, pero habitualmente están dotados de factores de virulencia que les permiten desarrollar patología aun cuando estén en bajo número^{39,40}. Ya sea factor causal para algunos y simple asociación para otros, algunos estudios sugieren mejoría del espermograma y fertilidad al tratar la infección y otros demuestran resultados parecidos utilizando placebo⁴¹. **Las infecciones genitales han sido reconocidas como causa de fracaso en técnicas de reproducción asistida, siendo cada vez más amplio el consenso acerca de su diagnóstico y tratamiento específico previo, como medida que mejora las tasas de éxito en la fecundación in vitro y la implantación embrionaria**^{1,38,42}

3. HIPÓTESIS

Existe asociación entre las variaciones en los parámetros seminales y el aislamiento de agentes bacterianos en pacientes con problemas de infertilidad.

4. JUSTIFICACIÓN:

Las infecciones genitourinarias en el hombre representan un porcentaje importante en la etiología de la infertilidad y aunque no están claros los mecanismos patogénicos implicados a nivel celular, de alguna forma alteran la calidad espermática, pre-requisito fundamental para la fertilización.

En Corrientes existe muy poca información sobre la calidad espermática en pacientes con problemas de infertilidad y su asociación con agentes bacterianos comunes por lo que abarcar este tema ampliaría el marco de estudio de la pareja infértil a fin de lograr una concepción efectiva.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general:

Determinar la frecuencia de aparición de agentes bacterianos comunes en semen y su relación con la calidad espermática en pacientes con problemas de infertilidad que asisten al Laboratorio de Análisis Clínicos y Hormonales de la Clínica Dres. Estragó de la ciudad de Corrientes.

5.2 Objetivos específicos:

- Aplicar método de screening² a la orina de primera porción y semen para la evaluación microbiológica del líquido seminal.
- Identificar los agentes bacterianos.
- Evaluar las variaciones de los parámetros seminales⁴³ Licuefacción, volumen, viscosidad, pH, turbidez, concentración espermática, recuento de leucocitos polimorfonucleares, morfología, motilidad espermática, vitalidad espermática y bioquímica seminal con cada hallazgo bacteriano.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo observacional de corte transversal.

6.1 MUESTRA POBLACIONAL:

Se estudió una población integrada por 61 individuos masculinos con problemas de infertilidad que inician o se encuentran bajo tratamiento de fertilización, con edades comprendidas entre 24 y 57 años, sin signos ni síntomas de infección urogenital, que asistieron al Laboratorio de Análisis Clínicos y Hormonales de la Clínica Dres. Estragó de la ciudad de Corrientes con pedido de espermograma y espermocultivo como parte de la rutina de evaluación de fertilidad entre septiembre de 2015 a julio de 2016.

6.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

Se excluyeron aquellos pacientes que presentaron alguno de los siguientes ítems:

- Signos y síntomas de infección urogenital.
- Infección urinaria asintomática.
- Tratamiento antimicrobiano durante los últimos 20 días previos a la toma de muestra.
- Control de infección seminal pasada con período inferior a 6 meses de resolución.
- Anomalías congénitas o adquiridas del aparato reproductor masculino.
- No se incluyen en este trabajo el resultado de estudio de *Chlamydia trachomatis*, Micoplasmas urogenitales ni *Neisseria gonorrhoeae*, ya que son procesadas con técnica de hisopado uretral. Aquellos pacientes que resultaron positivos en alguno de éstos no fueron incluidos en la población.

6.3 MUESTRAS:

Para la recolección de muestras los pacientes mantuvieron una abstinencia sexual de 3 a 5 días y una retención urinaria mínima de tres horas. Las muestras fueron tomadas por los pacientes previa higiene de los genitales externos con retracción del prepucio con agua jabonosa neutra y posterior enjuague con abundante agua y secado con gasas estériles. Se recolectó el primer chorro de orina (5 a 10 ml) con retracción del prepucio en

un frasco estéril de boca ancha hasta la marca indicada en el mismo por el personal del laboratorio y descartando el resto. Luego de volver a higienizar los genitales se colectó semen por masturbación directamente en un frasco estéril de boca ancha. Las muestras se analizaron dentro de los 30 minutos posteriores a la recolección manteniéndolas a 37°C hasta su licuefacción.

ESPERMOGRAMA:

Los parámetros seminales fueron analizados (una vez licuada la muestra) por el Servicio de Andrología según criterios de la OMS 2010⁴³ Los que fueron tenidos en cuenta para la correlación con los espermocultivos fueron:

Licuefacción: se tomó el tiempo en que tarda en licuar la muestra mantenida a 37°C.

Volumen: Se midió con pipeta graduada aspirando la totalidad de la muestra.

Viscosidad: por aspiración del semen con pipeta pasteur plástica y dejándolo gotear.

pH: se determinó con tiras reactivas de rango 4-14.

Turbidez: por evaluación visual

Concentración espermática: Se realizó en cámara de Neubauer /retículo de Thoma.

Leucocitos polimorfonucleares: se realizó mediante la técnica de peroxidasa.

Morfología : Se realizó mediante técnica de Krüger⁴⁴.

Motilidad espermática: se realizó con microscopía óptica (motilidad total y progresiva)

Vitalidad espermática: Se realizó mediante el test de eosina.

Bioquímica seminal : Determinación de fructosa (método de Roe modificado por Mann) y Determinación de ácido cítrico (método de Chambón)⁴⁵

ESPERMOCULTIVOS:

Se utilizó técnica de screening para el procesamiento de los espermocultivos^{2,30}. Para el conteo de colonias se sembraron 100 ul de las muestras de orina en placas de agar sangre esparciendo de manera uniforme con ansa por toda la superficie. Las muestras de semen diluidas al medio en solución fisiológica estéril (para disminuir la acción

bacteriostática del semen) fueron sembradas de la misma manera. Con las muestras de semen diluidas también se sembraron placas de agar Eosina azul de metileno (EMB) y agar chocolate. También se inocularon 100 ul de la misma en caldo BHI (infusión cerebro corazón) como procedimiento de conservación del material. Las placas de agar sangre y chocolate se incubaron en condiciones de microaerofilia y las de EMB y caldo BHI en aerobiosis, todas ellas a 35-37°C . Se realizaron las coloraciones de gram y examen en fresco de todas las orinas centrifugadas y de las muestras de semen sin diluir. Las UFC/ml se calcularon multiplicando por 20 el número de colonias de la misma especie desarrolladas en agar sangre. Las placas de agar sangre y agar chocolate fueron observadas diariamente durante 5 días. Las placas de EMB fueron examinadas a las 24 hs. Transcurrido ese tiempo aquellas que no tuvieron desarrollo significativo fueron descartadas como cultivos negativos. Aquellas muestras de semen que resultaron con un desarrollo en agar sangre superior a un logaritmo en base 10 con respecto a las muestras de orina fueron consideradas positivas y se procedió a la fenotipificación de las colonias desarrolladas por métodos convencionales aislándolas para su estudio en medios acordes a la sospecha del género bacteriano⁴⁶. Aquellas muestras que resultaron positivas en el examen directo y no desarrollaron en cultivo fueron consideradas compatibles con morfología anaerobia.

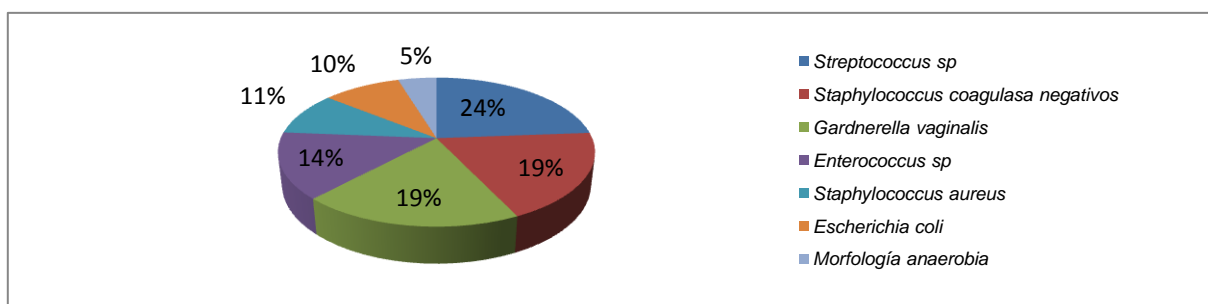
El análisis estadístico para determinar si existe una relación estadísticamente significativa o no entre los parámetros seminales y los aislamientos bacterianos se realizó a través del estadístico chi² con un nivel de significación $\alpha = 0,05$, utilizando la aplicación Epi Info⁴⁷.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

Tabla 1: Variaciones en los parámetros seminales en pacientes con problemas de infertilidad que asistieron al Laboratorio de Análisis Clínicos y Hormonales de la Clínica Dres. Estragó de la ciudad de Corrientes, Septiembre 2015-Julio 2016 (n= 61)

Parámetro seminal	Límite inferior de referencia (43)	Normales%	Anormales%
Licuefacción	total a los 60 minutos	60,7	39,3
Viscosidad	menor de 2 cm	57,4	42,6
Volumen	1,5 ml (1,4-1,7)	90,2	9,8
pH	mayor o igual a 7,2	100	0
Turbidez	media	75,4	24,6
Concentración espermática	15 x 10 ⁶ /mL (12-15)	82	18
Concentración total	39 x 10 ⁶ (33-46)	82	18
Leucocitos polimorfonucleares	< 1 x 10 ⁶ /mL	77	23
Morfología espermática	4% (3-4)	75,4	24,6
Motilidad espermática	40% (38-42)	77	23
Motilidad espermática progresiva	32% (31-34)	54,1	45,9
Viabilidad espermática	58% (55-63)	91,8	8,2
Fructosa	150 mg%	83,6	16,4
Ácido cítrico	350 mg%	63,9	36,1

Gráfico 1: Frecuencia de microorganismos encontrados en pacientes con problemas de infertilidad que asistieron al Laboratorio de Análisis Clínicos y Hormonales de la Clínica Dres. Estragó de la ciudad de Corrientes, Septiembre 2015-Julio 2016.



Staphylococcus coagulasa negativos: *St. lugdunensis*, *St. saprophyticus*, *St. epidermidis*

Streptococcus sp: *S. grupo viridans*, *S. agalactiae*, *S. grupo D*

De las 61 muestras estudiadas 18 resultaron positivas al examen directo, y en uno de ellas se observó morfología compatible con bacterias anaerobias. Del total de muestras se obtuvieron 17 cultivos positivos, 14 monomicrobiano y 3 fueron con microbiota mixta con recuento significativo para ambos gérmenes.

Se encontró un 27,9 % de espermocultivos positivos y una mayor frecuencia de aislamiento de microorganismos gram positivos comparable con resultados obtenidos por otros autores en trabajos con poblaciones similares. En este trabajo se encontró una mayor frecuencia de *Streptococcus spp.* Diferentes estudios en la literatura revelan diferencias en la frecuencia de los microorganismos hallados en las muestras seminales positivas dependiendo de la metodología empleada. Santoiani et al² encontraron en un estudio en hombres infértiles, con la técnica de las cuatro muestras de Stamey y Meares con el agregado de semen, un 44% de positividad con una mayor frecuencia de *Enterococcus faecalis*(36%); Terriquez Fimbres et al⁴⁸ alcanzan un 72,4% con mayor porcentaje de gram positivos(40,1%) que incluyen *Staphylococcus coagulasa* negativos, *Streptococcus grupo D* y *Enterococcus faecalis* y un porcentaje similar de gram negativos como *Klebsiella spp* y *Escherichia coli*. Nuñez et al¹⁸ un 26% con *St. epidermidis* y *E. coli* como microorganismo más frecuente, Mendoza et al³² en un estudio comparativo entre una prueba a la que denominaron alterna y la gold estándar de Stamey y Meares en pacientes con clínica sugerente de PBC, encontraron una positividad del 10,14% en la primera con una mayor frecuencia de gram negativos, en tanto que la prueba estándar tuvo el 100% de positividad donde el germen más frecuente fue *St. aureus* (26,08%) seguido de *E. coli* y *E. agglomerans* (20,28%), Puerta Suárez et al⁴⁹ en un estudio comparativo entre espermocultivos-clínicos y espermocultivos-investigación encontraron un 32,6% de positividad en los primeros con mayor frecuencia de *E. faecalis* y de *E.coli*; y

un 53,6% en los últimos con mayor frecuencia de *Staphylococcus spp.* Cotel et al³³ concluyeron que la bacteriospermia en el fluido seminal generalmente representa contaminación. Sánchez Villavicencio et al⁵⁰ encontraron un 35% de positividad, si bien en su mayoría a micoplasmas urogenitales, también hallaron que las bacterias gram positivas eran más frecuentes que las negativas.

En este estudio no se analiza la frecuencia de Micoplasmas urogenitales ni *Chlamydia trachomatis* ya que si bien se partió de una población en su mayoría con estudios previos negativos para estos gérmenes, un pequeño porcentaje no tenía pedido dicho estudio por lo que sería importante investigar su presencia en esas muestras.

El porcentaje de *Gardnerella vaginalis* encontrado resulta de importancia al ser un patógeno específico asociado con impacto directo en la reproducción femenina^{51,52}.

El paciente con examen directo compatible con morfología anaerobia mostró alteración en 10 de los 14 parámetros analizados. Hou et al⁵³ reportan que la presencia de bacterias como *Anaerococcus spp* (anaerobio estricto) afecta la calidad seminal y se ha descrito que las infecciones agudas y crónicas pueden generar inflamación en el tracto masculino afectando la espermatogénesis. Se ha propuesto que cada vez más hombres infértiles sufren de infecciones agudas o crónicas del tracto genitourinario en ausencia de síntomas⁵⁴.

Sólo se encontró asociación estadísticamente significativa entre los cultivos positivos y negativos y el recuento de leucocitos Polimorfonucleares (chi cuadrado: 0,02, $p < 0,05$). La prevalencia de leucocitospermia en hombres infértiles varía del 2 al 40%. La frecuencia de leucocitos polimorfonucleares fue similar al encontrado por Rodríguez Pendás y col. Ellos encontraron que algunos parámetros seminales estaban más afectados en los pacientes con leucocitospermia si bien sólo hallaron asociación significativa con la concentración espermática⁵⁵. La mayoría de los estudios coinciden que a concentraciones mayores a

1.000.000/ml hay afectación de alguna de las variables del semen. Ziyat et al⁵⁶ publicaron una disminución de la movilidad espermática y Lackner et al⁵⁷ con respecto a la morfología normal y movilidad progresiva. En el presente estudio no se encontró asociación significativa entre la leucocitospermia y las variables seminales.

8. CONCLUSIONES:

- Se confirma la asociación entre el recuento significativo de leucocitos polimorfonucleares y espermocultivos positivos.
- La ausencia de sintomatología no descarta la infección o colonización seminal.
- La presencia de infección o colonización seminal no siempre se relaciona con alteración de los parámetros seminales.
- Se reafirma la necesidad de realizar espermocultivos a todo paciente masculino con problemas de infertilidad; independientemente de si existe o no asociación estadísticamente significativa entre el agente infeccioso y la calidad seminal a fin de lograr el éxito en la reproducción asistida.
- La presencia de *Gardnerella vaginalis* resulta de importancia ya que nos habla de una colonización masculina. No tratarla o contraerla de una pareja no tratada puede conducir a complicaciones en el embarazo en las mujeres, enfermedades inflamatorias pélvicas y una mayor probabilidad de contraer enfermedades de transmisión sexual.
- La presencia de bacterias anaerobias e intracelulares (*Chlamydia trachomatis*, Micoplasmas urogenitales) deberían ser investigadas en aquellos pacientes con cultivo negativo en microaerofilia y parámetros seminales alterados.
- La complejidad diagnóstica de las infecciones seminales debidas a la propia estructura anatómica que dificulta el acceso directo al órgano afectado hacen del cultivo de semen el punto de partida para iniciar estudios microbiológicos complementarios y poder localizar el órgano afectado.
- Resulta de suma importancia la calidad de las muestras empleadas por lo que la concientización del paciente en la higiene y cuidados en el proceso de recolección es vital a fin de poder minimizar la flora contaminante y poder realizar una adecuada interpretación de los cultivos, sobre todo en el caso de microorganismos saprófitos.

- Identificar un posible agente infeccioso en semen posibilitará formular juicios prospectivos respecto al control y prevención en la salud reproductiva y psicosocial de la pareja.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Poirot C, Cherruau B. Infertilidad masculina. Aspectos clínicos e investigaciones biológicas. *Acta Bioquím Clín Latinoam*. 2005;39(2):225-241.
2. Santoiani JE, Mormandi E, Smayevsky J, Nagelberg A, Farinati AE, Terradas C et al. 1 Consenso Argentino sobre diagnóstico de las infecciones de las vías espermáticas y glándulas anexas en infertilidad. *Bioquím Patol Clín*. 2002;66:9-27.
3. Viscarra T, Brebi P, Andana A, Sánchez R. Infecciones de Transmisión Sexual en Semen. El hombre como Vector de Transmisión. *Int J Morphol, Temuco*. 2013;31(1):254-263.
4. Devoto E, Madariaga M, Lioi X. Factores causales de infertilidad masculina. Contribución del factor endócrino. *Rev Méd Chile, Santiago*. 2000;128(2):184-192.
5. Quinteros Pérez W, Mallea Sánchez L, Baños Hernández I, Peláez Yáñez LA, Alcalde Pérez JC, Álvarez Macías DI. Caracterización de células mononucleares en semen de hombres infértiles. *Rev Ciencias Médicas, Pinar del Río*. 2007;11(1).
6. Schulz M, Sánchez R, Soto L, Villegas J. Disminución del Potencial de membrana Mitocondrial en Espermatozoides Humanos incubados con *Escherichia coli*. *Int J Morphol*. 2006; 24 suppl 1:125-132.
7. Schulz M, Sánchez R, Soto L, Villegas J. Efecto de Factores Solubles de *Escherichia coli* sobre el Potencial de Membrana Mitocondrial de Espermatozoides humanos. *Int J Morphol*. 2006; 24 suppl 1:125-132.
8. Gallegos Ávila G. Infecciones por *Chlamydia trachomatis* y *Mycoplasma* sp. Su relación con la infertilidad masculina. *Bol del Col Mex de Urol*. 2003;18(3):106-112.
9. Gallardo M, Pereira G, Grondona F, Padrón R, Barrios N, Lantigua A. Relación de la alteración espermática en el líquido seminal con algunos metabolitos del estrés oxidativo. *Rev Cubana Invest Biomed*. 2003;22(2):90-94.

10. Villegas J, Schulz M, Sánchez R. Bacteria induce expression of apoptosis in spermatozoa. *Apoptosis*. 2005;10(1):105-110.
11. Broseta E. Clasificación, Diagnóstico y manejo terapéutico de las prostatitis. En: Pigraut C, editor. *Infección del tracto urinario*. Barcelona: Salvat; 2013. p. 105-118.
12. Mattison D, Plowchalk D, Meadows M, Aal-Juburi A, Gandy J, Malek A. Reproductive toxicity: Male and female reproductive systems as targets for chemical injury. *Med Clin North Am*. 1990;74:391-411.
13. Bayraktar M, Van Thiel D. Endocrine changes in liver disease. *The Endocrinologist*. 1995;5:403-415.
14. Shale S, O'Halloran D. Growth and endocrine sequelae following the treatment of childhood cancer. *The Endocrinologist*. 1994;4:44-55.
15. Importancia de la genética en el diagnóstico y tratamiento de las parejas que padecen infertilidad. Resúmenes, 50º Congreso Mexicano de Medicina de la Reproducción. 2013;6(1):38.
16. Potenziani JC, Carmona O, Davila H. Aspectos clínicos y microbiológicos en la Prostatitis crónica. *Rev Fac Med Univ Cent Venezuela*. 1990; 13(2):89-94.
17. García-Arenzana, Anguera JM. Tratamiento de las prostatitis. *Inf Ter Sist Nac Salud*. 2005;29(6):145-151.
18. Nuñez Calonge R, Cortés Gallego S, Gago García M, Pueyo Cañero A, Peramo Moya B, Caballero Peregrín P. Análisis microbiológico del semen de los varones en estudio de infertilidad. *Rev Int de Androl*. 2007;5(3):206-211.
19. Morton RS. White cells count in human semen. *Br J Ven Dis*. 1968;44:72-83.
20. Yanushpolsky EH, Plitich JA, Hill J, Anderson DJ. Is leukocytospermia clinically relevant? *Fertil Steril*. 1996;5:822-825.
21. Treharne JD. Chlamydial serology. *Br Med Bull*. 1983;39:194-200.

22. Doble A, Carter SS. Ultrasonographic findings in prostatitis. *Urol Clin North Am.* 1989;16:762-763.
23. Stamey TA, Meares EM. Bacteriological localization patterns in bacterial prostatitis and urethritis. *Invest Urol.* 1968;5:492-518.
24. Mobley DF. Semen cultures in the diagnosis of bacterial prostatitis. *J Urol.* 1975;114:83-85.
25. McGowan MP, Burger HG, Baker HWC, de Krester DM, Kovacs G. The incidence of non-specific infection in the semen in fertile and sub-fertile males. *Int J Androl.* 1981;4:657-662.
26. Witkin SS, Toth A. Relationship between genital tract infections, sperm antibodies in seminal fluid and infertility. *Fertil Steril.* 1983;40:805-808.
27. Naessens A, Foulon W, Debrucker P, Devroey P, Lawers S. Recovery of Microorganisms in semen and relationship to semen evaluation. *Fertil Steril.* 1986;45:101-105.
28. Jarvi K, Lacroix JM, Jain A, Dumitru I, Heritz D, Mittelman MW. Polymerase chain reaction-based detection of bacteria in semen. *Fertil Steril.* 1996;66:463-467.
29. Nickel JC. Prostatitis: evolving management strategies. *Infections in urology. Urol Clin North Am.* 1999;26(4):737-751.
30. Santoiani JE, De Paulis AN, Cardoso EM, González BN, Pedrari SC. Assessment in the diagnosis of male chronic genital tract infection. *Medicina, Buenos Aires.* 2000;60:331-334.
31. Fernández Otoyá LE, Teque Julcarima MS, Díaz Vélez C. Valor diagnóstico del Espermocultivo y Urocultivo en prostatitis bacteriana crónica en varones adultos: A propósito de un escenario clínico. *Rev cuerpo méd HNAAA.* 2011;4(2).
32. Mendoza Díaz N, Aguirre Castañeda R, Del castillo Mori A, Munárriz C, Melgarejo Zevallos W, Medina Ninacondor R et al. Evaluación de la sensibilidad del cultivo de

- semen en el diagnóstico de la prostatitis bacteriana crónica. *Rev Med Hered.* 2004; 15(1):37-43.
33. Cottell E, Harrison RF, McCaffrey M, Walsh T, Mallon E, Barry-Kinsella C. Are seminal fluid microorganisms of significance or merely contaminants? *Fertil Steril.* 2000;74:465-470.
34. Rodin DM, Larone D, Goldstein M. Relationship between semen cultures, leukospermia, and semen analysis in men undergoing fertility evaluation. *Fertil Steril.* 2003;79:555-558.
35. Lackner JE, Herwig R, Schmidbauer J, Schatzl G, Kratzik C, Marberger M. Correlation of leukocytospermia with clinical infection and the positive effect of antiinflammatory treatment on semen quality. *Fertil Steril.* 2006;86: 601-604.
36. Díaz García FJ, Flores Medina S. Relación entre infertilidad masculina e infección genitourinaria por micoplasmas. Una actualización. *Perinatol Reprod Hum.* 2013;27 (1):21-34.
37. Nuñez Calongue R, Caballero P, Redondo C, baquero F, Martínez Ferrer M, Meseguer M. *Ureaplasma urealyticum* reduces motility and induces membrane alterations in human spermatozoa. *Hum Reprod.* 1998;13:2756-2761.
38. Gallegos Ávila G. Infecciones por *Chlamydia trachomatis* y *Mycoplasma* sp. Su relación con la infertilidad masculina. *Bol del Col Mex de Urol.* 2003;18(3)106-112.
39. Connell H, Sabharwal H, Persson L, Zasloff H. Identification of a novel antibacterial factor from human urine. In: Bergan T, editor. *Urinary tract infections. Infectiology.* Vol 1. Basel: Karger; 1997. p. 118-124.
40. Weidner W, Ludwig M, Schiefer Hans-Georg. Chronic bacterial prostatitis. A clinical reevaluation of old woes. In: Bergan T, editor. *Urinary tract infections. Infectiology.* Vol 1. Basel: Karger; 1997. p. 60-66.

41. Stewart I. Epidemiology and etiology of male infertility. Human Reproduction. 1998;13 Suppl 1:33-43.
42. DCIP Consulting [Internet]. n.d. RA- Reproducción Asistida [Consultado 15 noviembre 2015] Disponible en: <http://www.reproduccionasistida.org/politica-de-privacidad/>
43. World Health Organization. WHO Laboratory manual for the examination and processing of human semen. WHO Press 5th ed; 2010.
44. Krüger TF, Menkveld R, Standard FS, Lombard CJ, Vander Merwe JP, Van Zyl JA et al. Sperm morphological features as a prognostic factor in vitro fertilization. Fertil Steril. 1986;46:1118-1123.
45. Pesce A, Kaplan L. Química Clínica-Métodos; Editorial médica Panamericana; 1987.
46. Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, et al Koneman Diagnóstico microbiológico Texto y atlas en color. Sexta edición; Editorial médica Panamericana; 2008.
47. CDC: Centers for Disease Control and Prevention [Internet] CDC 24/7: Saving Lives. Protecting People; february 6 2013 [consultado 30 octubre 2014]. Disponible en: <http://www.cdc.gov/epiinfo/>
48. Terríquez Fimbres M, González Barrios J. Correlación entre el número de colonias bacterianas en espermocultivos con las alteraciones en los índices del análisis seminal. Bol col Mex de Urol. 2003;18(3):100-105.
49. Puerta Suárez, J, Villegas Castaño A, Serna Quintana G, Martínez A, Romero Palacio J, Giraldo M et al. Espermocultivo: crecimiento bacteriano del eyaculado y su relación con los parámetros seminales. Rev chil obstet ginecol. 2015;80(1).
50. Sánchez Villavicencio C, Sotero Fernández I, Ortiz Rodríguez C, Díaz Garrido D. Estudio microbiológico del semen de hombres con infertilidad, Hospital "Ramón González Coro", 2012. Rev 16 abr. 2014;(254):48-58.

51. Gil MT, Caballero L, Expósito A, Suárez I, Gonzalvo MC, Carrión M, et al. Examen microbiológico del semen. ASEBIR. 2000;5:9-14.
52. Picazo J, editor. Microbiología de la infección perinatal. Procedimientos en microbiología clínica. SEIMC. 2002; 13.
53. Hou D, Zhou X, Zhong X, Settles ML, Herring J, Wang L, et al. Microbiota of the seminal fluid from healthy and infertile men. Fertil Steril. 2013;100(5):1261-1269.
54. Fraczek M, Kurpisz M. Inflammatory mediators exert toxic effects of oxidative stress on human spermatozoa. J Androl. 2007;28(2):325-333.
55. Rodríguez Pendás B, Santana Pérez F, Domínguez Alonso E, Nurquez Guerra B, Reyes Rodríguez H. Leucocitos seminales y calidad espermática de hombres en estudio de infertilidad. Rev Cub Endocrinol. 2016;27(1).
56. Ziyat A, Barraud V, Siffer C, Ducot B, Wolf J, Sourfir J. Paradoxical increase of sperm motility and seminal carnitine associated with moderate leukocytosperm in infertile patients. Fert Steril. 2008;90:2257-2263.
57. Lackner J, Agarwal A, Mahfouz R, Plessis S, Georg G. The association between leukocytes and sperm quality is concentration dependent. Reprod Biol Endocrinol. 2010;8:12-25.