

**Boletín del
Colegio Mexicano de Urología**

Volumen 18
Volume

Número 3
Number

Julio-Septiembre 2003
July-September

Artículo:




Correlación entre el número de colonias bacterianas en espermocultivos con las alteraciones en los índices del análisis seminal

Derechos reservados, Copyright © 2003:
Colegio Mexicano de Urología, A.C.

**Otras secciones de
este sitio:**

-  **Índice de este número**
-  **Más revistas**
-  **Búsqueda**

***Others sections in
this web site:***

-  ***Contents of this number***
-  ***More journals***
-  ***Search***



Medigraphic.com



Correlación entre el número de colonias bacterianas en espermocultivos con las alteraciones en los índices del análisis seminal

María de los Ángeles Terriquez-Fimbres,* Juan Antonio González-Barrios**

* Departamento de Reproducción Humana, Centro Médico Nacional "20 de Noviembre".

** Coordinación de Capacitación, Desarrollo e Investigación, Hospital Regional "1º de Octubre".

Dirección para correspondencia:

Juan Antonio González-Barrios, Coordinación de Capacitación, Desarrollo e Investigación, Hospital Regional "1º de Octubre", Avenida Instituto Politécnico Nacional No. 1669, México D. F., Tel. (55) 55 86 60 11 Ext. 186, Fax. (55) 55 86 94 21
E-mail: jgonzale@fisio.cinvestav.mx

RESUMEN

En el 5% de las parejas infértiles el origen es atribuible a ambos, el factor de infertilidad masculino ocupa un 30-50% de los casos, caracterizándose por alteraciones en el volumen, la concentración, la motilidad o la morfología espermática. Se determinó si la presencia de infecciones múltiples en el líquido seminal de pacientes infértiles se encuentra relacionada con alteraciones en los parámetros seminales. Se realizó estudio retrospectivo de un solo corte en 277 pacientes infértiles, en estos pacientes se evaluaron los resultados de las espermatobioscopías y cultivos seminales. El 72.4% de los cultivos reportaron desarrollo bacteriano de 1-4 colonias. Los agentes infecciosos reportados fueron: bacterias Gram (+) 40.09%, enterobacterias 40.95%, *Mycoplasma* 12.07% y *Chlamydia* 4.7%. El 10.94% de los pacientes con cultivo negativo presentaron vitalidad espermática anormal, 42.86% presentaron desarrollo de 4 tipos de bacterias, en los cuales la vitalidad espermática disminuyó a menos del 50%. El 42.2% de pacientes con espermocultivo negativo presentó astenozoospermia, en 57.1% de los pacientes el desarrollo de 3 ó 4 colonias de microorganismos en el espermocultivo incrementó el grado de astenozoospermia. Las infecciones múltiples son uno de los factores desencadenantes de infertilidad masculina porque disminuyen la motilidad (a+b) y la vitalidad espermática.

Palabras clave: Vitalidad, motilidad, líquido seminal, infecciones múltiples, espermia.

ABSTRACT

The seminal liquid infection disease has been consider a powerful condition to alter the seminal parameters like motility and viability in the spermatozoa, the main microorganism found in seminal culture is a Chlamydia trachomatis and Ureaplasma urealyticum, in this work we determine the correlation index into spermatoc viability and motility with respect to multiple asymptomatic seminal infection in patients infertile. Two hundred and seventy seven samples of seminal liquid were studied with seminal analysis and seminal culture, 72.4% were positive to 1-4 different colonies of pathogens microorganism, the mains infectious agent were Gram (+) agents 40.09%, Enterobacteriae 40.95%, Mycoplasma 12.07% and Chlamydia 4.7%. In the 10.94% of the patients without infections in the seminal liquid the sperm vitality was abnormal, 42.86% of all patients with seminal liquid infection with 3-4 types of microorganisms the sperm vitality decrease at least 50%. In the 42.2% of infertile patients without seminal liquid infection showed astenozoospermia, in the 57.1% of patients

with seminal liquid asymptomatic multiple-infections (3-4 agents) showed astenozoosperm. The multiple-infections in the seminal liquid are a main factor to development male infertility because decrease (a+b) motility and vitality of the spermatozoid.

Key words: Vitality, motility, seminal liquid, multiple-infections, sperm.

ANTECEDENTES

La infertilidad no es únicamente un problema de origen femenino sino de pareja, se ha reportado que el 15% de las parejas presentan factor de infertilidad atribuible a ambos.¹ Se estima que el factor masculino ocupa un 30-50% de los casos de infertilidad, caracterizándose por la presencia de alteraciones en el volumen, la concentración, la motilidad o la morfología espermática, estos factores pueden encontrarse en forma aislada o combinada.² Dentro de los factores biológicos que pueden propiciar infertilidad masculina se encuentran las causas infecciosas, siendo la infección del aparato genitourinario la que aporta el $41.45 \pm 28.55\%$ del total de las causas de infertilidad masculina.^{1,3} Las infecciones bacterianas y virales del tracto genital masculino son un factor etiológico importante en la infertilidad masculina, ya que afectan sitios anatómicos relacionados con el aparato reproductor masculino (testículo, epidídimo, glándulas accesorias y conductos eyaculadores), conduciendo al deterioro de los diferentes estadios de la espermatogénesis, afectando la producción y la calidad del semen.⁴⁻⁶ Las alteraciones bioquímicas generadas en los procesos infecciosos producen un medio ambiente poco propicio para el espermatozoide, alterando el proceso de fertilización.⁷ La bacteriospermia en el varón infértil sigue siendo incierta ya que estos pacientes cursan asintomáticos. Entre los patógenos que se reportan con mayor frecuencia en los cultivos seminales está la *Chlamydia trachomatis*,⁸ *Ureaplasma urealyticum*,⁹ aún no se ha logrado dilucidar el efecto de estos agentes infecciosos sobre la motilidad y la capacidad de la fertilización en el espermatozoide.¹⁰⁻¹² aunque se ha propuesto que el *Ureaplasma urealyticum* incrementa la producción de radical superóxido, el cual disminuye la capacidad de fertilización del espermatozoide.¹³ *Ureaplasma urealyticum* y *Mycoplasma hominis* infectan el tracto genital masculino en 10-40% de los hombres infértiles.¹⁴ En México se ha reportado la presencia de *Mycoplasma hominis* en el 24.2% de los pacientes infértiles, ésta se asocia a disminución de 87.5% en la motilidad espermática y con 98.8% de alteraciones morfológicas.¹⁵

Las especies reactivas al oxígeno (ROS) son un grupo de moléculas iónicas, compuestas en su mayoría por O⁻, tienen la propiedad de reaccionar con una velocidad de microsegundos y oxidar a lípidos estructurales de membrana, proteínas y carbohidratos de superficie. Los princi-

pales ROS se generan en procesos infecciosos e inflamatorio, son los que producen mayor daño a las membranas celulares siendo: el anión superóxido (O⁻²), radical hidroxilo (OH⁻), óxido nítrico (NO⁻), peroxinitrito (NOO⁻) y el radical hipoclorito (OH-CL).¹⁶ Se han descrito que los ROS producidos en altas concentraciones inducen cariorrexis, siendo el NO⁻ al que se le confiere esta propiedad con lo que se altera la información genética portada por el espermatozoide.¹⁷ La producción elevada de ROS se evidencia en forma clínica por la modificación tanto en la integridad de la función espermática como en la membrana del espermatozoide dando como resultados alteración en concentración, motilidad y morfología espermática.^{17,18}

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio retrospectivo de un solo cohorte, en el cual se incluyeron 277 expedientes de pareja que acudieron a la consulta externa del Servicio de Biología de la Reproducción Humana del Centro Médico Nacional "20 de Noviembre" del ISSSTE en un período comprendido de 4 años (1º de marzo de 1999 al 1º de marzo del 2003), se evaluaron los exámenes de laboratorios correspondientes a espermatozobioscopías y analizando los siguientes parámetros: cuenta espermática, motilidad (a+b) y vitalidad, así como el número de diversas colonias desarrolladas en los espermocultivos. El análisis de los datos se realizó por medio de índices de frecuencia, medidas de tendencia central, la comparación estadística se realizó con las pruebas de T de Student y ANOVA seguida de un análisis comparativo a través de pruebas paradas del tipo de Newman-Kellys tomándose como diferencia estadística significativa una $p < 0.01$ en los diferentes análisis estadísticos. Los datos fueron analizados con el programa GraphPad de Prisma INC.

RESULTADOS

Se revisaron 277 expedientes de pacientes atendidos en la consulta externa del Servicio de Biología de la Reproducción Humana, del Centro Médico Nacional "20 de Noviembre", perteneciente al ISSSTE, 45 expedientes en los que se reportó azoospermia fueron excluidos, en total se incluyeron 232 expedientes de pacientes que contaran con el reporte de primera vez del análisis seminal y espermocultivo. En el 27.5% de los expedientes

incluidos se reportó espermocultivo negativo, en el 72.4% se reportó desarrollo bacteriano de 1-4 colonias, 1 colonia (35.1%), 2 colonias (38.7%), 3 colonias (22.0%) y 4 colonias (4.2%). El 40.1% de los espermocultivos positivos desarrollaron crecimiento bacteriano de tipo Gram (+), el 40.1% fue positivo para enterobacterias, el 12.1% cuenta con reporte positivo a *Mycoplasma* y el 4.7% de los espermocultivos fueron positivos a *Chlamydia trachomatis*, la distribución de los microorganismos de acorde a la especie y género se muestra en el *cuadro I*. En los pacientes en que se reportaron espermocultivos negativos, el 10.94% presentó vitalidad espermática anormal, mientras que en los positivos a 1 colonia este porcentaje aumentó al 21.42%, una tendencia similar se observó cuando desarrollaron 2 tipos diferentes de colonias bacterianas afectando ésta la vitalidad espermática reportándose anormal en el 34.43%, en contra de lo esperado solamente el 27.03% de los espermocultivos positivos a 3 microorganismos diferentes fue catalogado con vitalidad anormal, finalmente se observa que la presencia de 4 tipos de bacterias presentes en los espermocultivos afectaron la vitalidad espermática, reportándose anormal en el 42.86% de los pacientes (*Figura 1*). De los 64 pacientes en los que se reportó espermocultivo negativo el 42.2% presentó algún grado de astenozoospermia siendo de 17.18%, 15.6% y 9.4% para los grados leve moderada y severa respectivamente, el 52.5% de los 59 pacientes que presentaron desarrollo bacteriano de 1 colonia bacteriana en el espermocultivo, los espermatozoides presentaron astenozoospermia en diferente grado, leve (16.9%), moderada (27.1%) y severa (8.5%), los análisis seminales que coincidían con desarrollo microbiológico de 2 agentes, la motilidad fue disminuida considerablemente en el 57.1% de 65 pacientes, los grados de astenozoospermia para este grupo fue de 22.2%,

22.2% y 12.7% para leve moderada y severa respectivamente, la presencia de 3 ó 4 especies de bacterias presentes en el espermocultivo no difieren significativamente en su afección sobre la motilidad espermática, observándose que el incremento de agentes bacterianos presentes en el espermatozoides afecta la motilidad espermática en el 62.2% y 57.1%. De los pacientes con desarrollo de 3 y 4 colonias diferentes en el espermocultivo, presentaron astenozoospermia en diferente grado: leve (18.9 y 14.3%), moderada (27.0 y 14.3%) y severa (16.2 y 28.6%) respectivamente (*Figura 2*). El análisis de correlación entre el número de colonias y la vitalidad reportó un índice de correlación de $[r^2 = 0.8851]$, con una pendiente negativa de $[m -4.322 \pm 0.8992 \text{ SEM}]$ y una diferencia estadística significativa solamente cuando exis-

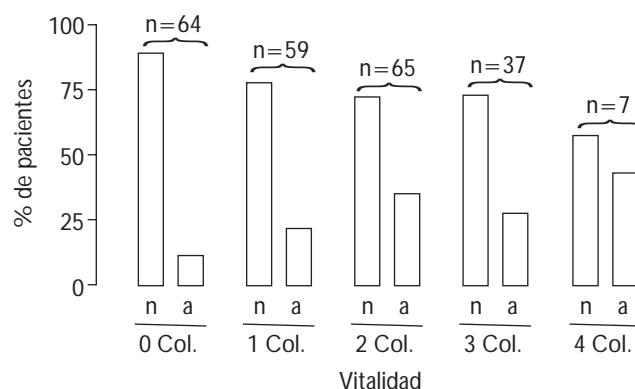


Figura 1. Modificación de la vitalidad espermática de acorde al número de colonias bacterianas reportadas. Todos los espermocultivos fueron realizados bajo las normas de calidad estipuladas por el laboratorio del CMN "20 de Noviembre", el desarrollo bacteriano fue analizado a las 24 h post-inoculación. n) normal (vitalidad espermática mayor al 60%), a) anormal (vitalidad espermática menor al 60%).

Cuadro I. Frecuencia de microorganismos reportados en los espermocultivos.

Tipo	Género	Frecuencia			
		1 Col.*	2 Col.*	3 Col.*	4 Col.*
Gram (+)	<i>Staphylococcus coagulasa neg.</i>	9	4	1	2
	<i>Klebsiella</i>	4	3	3	---
	<i>Streptococcus viridans</i>	1	6	2	---
	<i>Corynebacterium sp</i>	15	12	5	---
Enterobacterias	<i>Streptococcus gpo D</i>	7	6	2	1
	<i>Enterococcus faecalis</i>	5	9	7	---
	<i>Escherichia coli</i>	2	4	6	---
	<i>Mycoplasma hominis</i>	11	4	1	3
Mycoplasmas	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	11	---	1	---
	<i>Chlamydia trachomatis</i>	4	2	---	---

* Tipos de colonias bacterianas desarrolladas a las 24 h post-inoculación.

Fuente: Laboratorio de microbiología del CMN "20 de Noviembre" ISSSTE.

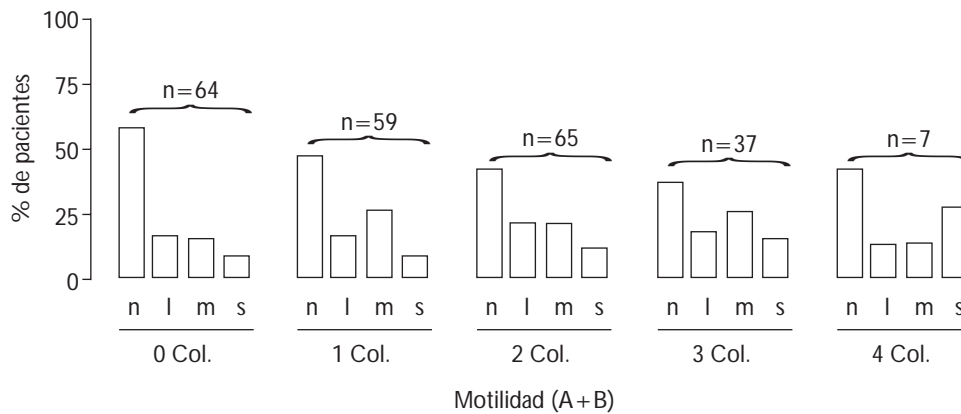


Figura 2. Modificación de la motilidad espermática (a+b) con respecto al número de colonias bacterianas reportadas. Todos los análisis seminales fueron realizados por el laboratorio del CMN "20 de Noviembre", n) normal (motilidad mayor al 50%), la astenozoospermia se reportó como l) leve (49-40%), m) moderada (39-21%), s) severa (menor del 20%).

tía desarrollo bacteriano de 4 colonias de diferentes microorganismos [$p = 0.0171$] (Figura 3). La correlación entre la motilidad (a+b) con respecto al número de colonias reportadas fue de [$r^2 = 0.95$] con una pendiente [$m = -3.484 \pm 0.4615$ SEM] y con diferencia estadística significativa con respecto al grupo control (0 colonias) cuando se presentaron desarrollo de 2, 3 y 4 tipos de colonias diferentes [$p < 0.005$] (Figura 4).

DISCUSIÓN

La presencia de infecciones múltiples correlaciona de forma inversamente proporcional con los parámetros de motilidad y vitalidad espermática. En nuestro estudio se encontró que la presencia de infecciones múltiples principalmente cuando *Chlamydia trachomatis* se encuentra presente, produce disminución en los parámetros de estudio la motilidad y la vitalidad espermática, estos datos están en concordancia con reportes previos en los que el principal factor que altera los parámetros espermáticos es el desarrollo de infecciones asintomáticas por diferentes microorganismos, dentro de los que se reportan con mayor frecuencia en los espermocultivos (*Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis* y *Escherichia coli*),¹⁹⁻²² la presencia tanto de *Ureaplasma urealyticum* y/o *Chlamydia trachomatis* por sí sola es capaz de disminuir en forma considerable la motilidad espermática,²³ cuando se presenta en combinación con otros microorganismos Gram negativos, este efecto se ve potenciado en forma directa con el número y tipo de microorganismos presentes en el líquido seminal, este tipo de asociación no se ha reportado previamente, aunque se ha dicho que existe efecto sinérgico de infecciones primarias con dos o más tipos diferentes de microorganismos que conducen a problemas de fertilización, condición por la cual los pacientes acuden a la clínica de fertilidad, las infecciones del líquido seminal aun siendo asintomáticas, son capaces de inducir alteraciones en

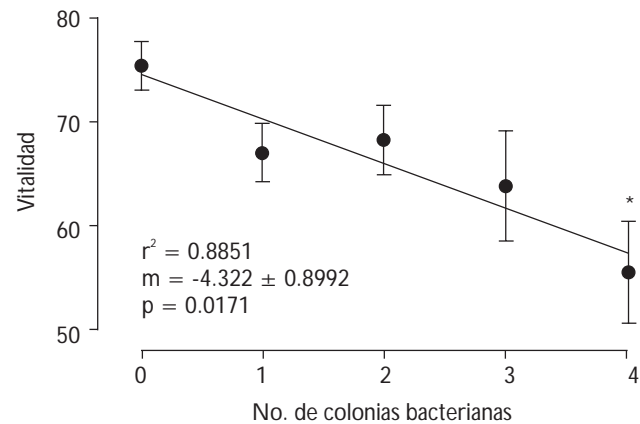


Figura 3. Índice de correlación de la vitalidad espermática con respecto al número de colonias reportadas en el espermocultivo. El análisis de correlación se realizó con el software Prism 4.5, utilizando un intervalo de seguridad de 95%, * diferencia estadística < 0.05 .

la viscosidad y la densidad del líquido espermático, produciendo inmovilización secundaria del espermatozoide,²⁴ el grado de correlación observado entre los diferentes microorganismos que se desarrollan en el líquido seminal hace pensar que las infecciones múltiples producen alteraciones directas sobre el espermatozoide y de tipo indirecta sobre las propiedades fisicoquímicas del líquido seminal.²⁴ En reportes previos se ha observado que la producción de radicales libres de oxígeno en las infecciones del tracto genito-urinario masculino producen depleción del contenido energético mediante el bloqueo de enzimas mitocondriales necesaria en el ciclo de Krebs, lo cual conlleva a una disminución en la motilidad espermática por deficiencia de ATP, se ha reportado que el exceso de ROT es capaz de inducir cariorrexia y condensación de la cromatina en el espermatozoide, de igual forma la peroxidación de lípidos secundaria al exceso de ROS bloquea los mecanismos

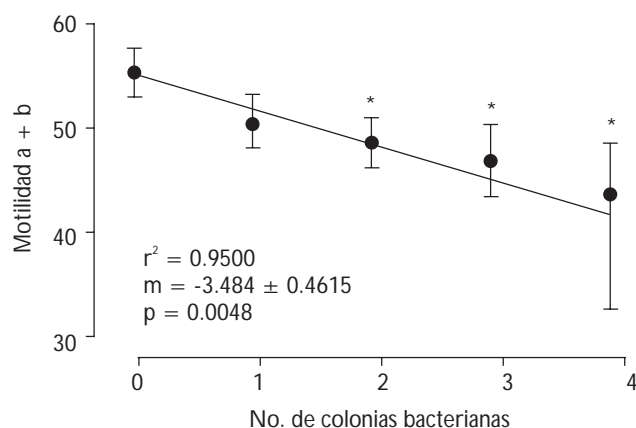


Figura 4. Índice de correlación de la motilidad espermática (a + b) con respecto al número de colonias reportadas en el espermocultivo. El análisis de correlación se realizó con el software Prism 3.0, utilizando un intervalo de seguridad de 95%, * diferencia estadística < 0.01.

de penetración y fecundación espermática manifestándose como infertilidad masculina,^{17,25} la presencia de infecciones múltiples incrementa el grado de astenozoospermia desviándola hacia la derecha de la curva de correlación concordando con un mayor número de pacientes que presentan astenozoospermia severa, estos datos están en concordancia con lo reportado previamente en estudios realizados en población abierta, de igual forma la vitalidad espermática se ve inversamente correlacionada con el número y tipo de microorganismos presentes en el líquido seminal. Nuestros resultados indican que la presencia de más de tres microorganismos altera la vitalidad espermática en 30% de los pacientes que acuden a la clínica de fertilidad, mientras que la infección múltiple de 4 microorganismos disminuye la vitalidad espermática en el 60% de los espermatozoides.

CONCLUSIONES

1. Las infecciones múltiples son factores condicionantes para infertilidad masculina.
2. La infertilidad masculina secundaria a infección por *Chlamydia trachomatis* y/o *Ureaplasma urealyticum* es potenciada en forma directa por la presencia de algunos microorganismos Gram negativos.
3. La disminución de la motilidad y vitalidad espermática está directamente relacionada con infecciones múltiples.

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer a la Dra. María del Rosario Tapia Serrano, por los comentarios y críticas al presente tra-

bajo, al Dr. Luciano Francisco Saucedo González por su orientación clínica. María de los Ángeles Terriquez-Fimbres fue becaria del ISSSTE durante el tiempo en que realizó la Subespecialidad en Biología de la Reproducción Humana.

BIBLIOGRAFÍA

1. Barten J. Screening for infertility in Indonesia. Results of examination of 863 infertile couples: *Bull World Health Organ* 1998; 76(2): 183-7.
2. Brugh VM 3rd, Matschke HM, Lipshultz LI. Male factor infertility. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2003; 32(3): 689-707.
3. Ravolamanana RL, Randaoharison PG, Ralaivavy HA, Debry JM, Randrian jafisamin drakotroka NS. Etiologic approach in infertile couples in Mahajanga. *Arch Inst Pasteur Madagascar* 2001; (67): 68-73.
4. Huwe P, Diemer T, Ludwig M, Liu J, Schiefer HG, Weidner W. Influence of different uropathogenic microorganisms on human sperm motility parameters in an *in vitro* experiment. *Andrologia* 1998; 30(Suppl 1): 55-59.
5. Diemer T, Ludwig M, Huwe P, Buchanan HV, Weidner W. Influence of urogenital infection on sperm function. *Current Opinion in Urology* 2000; (10)1: 39-44.
6. Hales DB, Diemer T, Hales KH. Role of cytokines in testicular function. *Endocrine* 1999; (10): 201-217.
7. Kohn FM, Erdmann I, Oeda T, el Mulla KF, Schiefer HG, Schill WB. Influence of urogenital infections on sperm functions. *Andrologia* 1998; (30) (Suppl 1): 73-80.
8. De Jong Z, Pontonnier F, Plante P. The frequency of *Chlamydia trachomatis* in acute epididymitis. *Br J Urol* 1988; (62): 76-8.
9. Smith DG, Russell WC, Thirkell D. Adherence of *Ureaplasma urealyticum* to human epithelial cells. *Microbiology* 1994; (140): 2893-8.
10. Talkington DF, Davis JK, Canupp JC. The effects of three serotypes of *Ureaplasma urealyticum* on spermatozoal motility and penetration *in vitro*. *Fertil Steril* 1991; (55): 170-6.
11. O'Leary WM, Frick J. The correlation of human male infertility with the presence of mycoplasma T-strains. *Andrologia* 1975; (7): 309-11.
12. Cortesse A, Auroux M, Jacques L, Auer J, Feneux D, Le Duc A. Anomalies de la mobilité des spermatozoïdes après infection du sperm humain *in vitro*. Role d'*Ureaplasma urealyticum*. *Presse Med* 1987; (16): 1375-7.
13. Rose BI, Scott BBS. Sperm motility, morphology, hyperactivation, and ionophore-induced acrosome reactions after overnight incubation with mycoplasmas. *Fertility and Sterility* 1994; (61): 341-348.
14. Keck C, Gerber-Schafer C, Clad A, Wilhelm C, Breeckwoldt M. Seminal infections: Impact on male fertility and treatment options. *Hum Reprod Update* 1998; (4): 891-903.
15. Rojas-Retiz J, Bravo C, Salas R, Moreno J, Tapia R. Genital Mycoplasmas and its impact on sperm sample in infertile men. Proceedings of the VIIth International Congress of Andrology Montreal Quebec, Canada, Medimond. *Medical Publications* 2001: 491-493.
16. Aitken RJ, West K, Buckingham D. Leukocyte infiltration into the human ejaculate and its association with semen quality, oxidative stress, and sperm function. *J Androl* 1994; (15): 343-352.
17. Sharma RK, Agarwal A. Role of reactive oxygen species in male infertility. *Urology* 1996; (48): 835-50.
18. Hendin B, Kolettis P, Sharma RK. Varicocele is associated with elevated spermatozoa reactive oxygen species produc-

- tion and diminished seminal plasma antioxidant capacity. *J Urol* 1999; (161):1831-4.
19. Merino G, Carranza-Lira S, Murrieta S, Rodríguez L, Cuevas E, Moran C. Bacterial infection and semen characteristics in infertile men. *Arch Androl* 1995; (35): 43-7.
20. Maciejewski, Dziecielski H, Swierczynski W, Semmeler G. Morphological semen changes in *Chlamydia trachomatis* infection. *Ginekol Pol* 1989; (60)6: 314-7.
21. Gdoura R, Keskes-Ammar L, Bouzid F, Eb F, Hammami A, Orfila J. *Chlamydia trachomatis* and male infertility in Tunisia. *Eur J Contracept Reprod Health Care* 2001; (6)2: 102-7.
22. Huwe P, Diemer T, Ludwig M, Liu J, Schiefer HG, Weidner W. Influence of different uropathogenic microorganisms on human sperm motility parameters in an *in vitro* experiment. *Andrologia* 1998; 30 (Suppl 1): 55-59.
23. Diemer T, Weidner W, Michelmann HW, Schiefer HG, Rován E, Mayer F. Influence of *Escherichia coli* on motility parameters of human spermatozoa *in vitro*. *International Journal of Andrology* 1996; (19): 271-277.
24. Kohn FM, Erdmann I, Oeda T, el Mulla KF, Schiefer HG, Schill WB. Influence of urogenital infections on sperm functions. *Andrologia* 1998; (30) (Suppl 1): 73-80.
25. Aitken JR, Irvine DS, Wu FC. Prospective analysis of sperm-oocyte fusion and reactive oxygen species generation as criteria for the diagnosis of infertility. *Am J Obstet Gynecol* 1991; (64): 542-551.