



ASOCIACIÓN ARGENTINA DE MICROBIOLOGÍA
SADEBAC

CONSENSO SOBRE INFECCIONES DE LAS VIAS ESPERMATICAS Y GLANDULAS ANEXAS EN INFERTILIDAD

Organizado por la Sociedad Argentina de Andrología (SAA) y la
Sociedad Argentina de Bacteriología Clínica (SADEBAC)

Coordinadores por SAA: Dres. Claudio Terradas, Alberto Nagelberg y Eduardo Mormandi

Coordinadores por SADEBAC: Dres. Alicia Farinati, Silvia C. Predari, Jorge E. Santoianni y Jorgelina Smayevsky.

Secretaria General: Dra. Adriana N. De Paulis

Temario:

1. Consideraciones generales
2. Flora normal del aparato genital masculino
3. Agentes etiológicos de las infecciones de las vías espermáticas y glándulas anexas
4. Metodología de estudio
5. Bibliografía

CONSIDERACIONES GENERALES

Entre las parejas en edad reproductiva se considera que del 10 al 15 % son infértiles. En alrededor de un 50% de ellas se puede detectar la participación del factor masculino como causa única o asociada de la infertilidad. En parte de esos casos no se puede demostrar la etiología de la alteración hallada.

Dentro de las causas posibles, se discute el rol que pueden tener las infecciones agudas y crónicas del aparato genital masculino.

Un proceso infeccioso que lo afecte puede causar daño testicular primario, obstruir el tracto de salida de la vía seminal, o afectar la funcionalidad de los espermatozoides. 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 tubario.

Se han descrito varios mecanismos patogénicos en el varón tales como:

- efectos directos de los microorganismos (MO) en los espermatozoides (1)
- estenosis ductal epididimaria (2)
- estenosis a nivel distal, en el veru montanum o eyaculadores (3)
- orquitis subclínica (4) con secuelas de hipoespermatogenesis o detención de la maduración en el testículo afectado (5) y posible afectación inmunológica en el testículo contralateral (6)
- disfunción epididimaria (7)
- alteración en vesículas seminales (8)
- disfunción prostática (9)
- inducción de la fagocitosis espermática (10)
- inducción de la respuesta leucocitaria mediada por citoquinas (11)
- hiperproducción de especies oxígeno reactivas (12)
- estimulación de la formación de anticuerpos antiespermáticos (13) , los cuales pueden disminuir la motilidad de los espermatozoides (14), inhibir la interacción espermatozoide-zona pellucida (15), alterar la penetración en ovocito de hamster (16) y la reacción acrosomal (17)

Los espermatozoides transitan un camino cuyas primeras etapas (túbulos seminíferos, epidídimo, deferente) en un individuo sano son estériles, mientras que en su paso final por la uretra distal pueden contaminarse con MO. Ante la existencia de infecciones genitales, la contaminación de los espermatozoides puede producirse en cualquiera de las etapas mencionadas.

Habitualmente las infecciones agudas pueden dar síntomas y signos físicos a la exploración que sugieren su presencia. Así, pueden aparecer secreciones uretrales, dolor espontáneo o a la palpación en epidídimo o testículo, dolor eyaculatorio, ardor miccional y otras alteraciones miccionales. En estos casos el uso de métodos diagnósticos microbiológicos es imprescindible e inequívoco.

Sin embargo, en el estudio del varón infértil la mayoría de las veces, las infecciones que podemos detectar son subclínicas, asintomáticas. El laboratorio seminal nos aporta datos sugerentes de infección en estos casos asintomáticos. La identificación y recuento de

granulocitos polimorfonucleares (PMN) en semen es una parte esencial del espermograma. Su identificación se debe realizar acorde a la OMS por el método de peroxidasa, para diferenciarlos de otras células.

La OMS señala 1×10^6 leucocitos por ml como límite normal. A partir de este valor surge la indicación del estudio microbiológico para identificar a los pacientes infectados que pueden beneficiarse con un tratamiento antibiótico. Sin embargo, es lícito cuestionar si toda infección no aguda del tracto genital debe manifestarse, obligadamente, por una eliminación crónica y permanente de leucocitos en el semen a niveles supranormales. Si pensamos que ésto no es necesariamente cierto, podemos inferir que para detectar el total de pacientes con infección genital que podría afectar la capacidad fecundante en parejas infértiles, deberíamos indicar un estudio microbiológico adecuado en todo varón infértil con alguna alteración en su espermograma. Algunos datos promueven esta controversia. Diferentes series dan como valores habituales de leucocitospermia a niveles por debajo de $0,5 \times 10^6$ PMN/ ml (18, 19). Algunos MO como por ejemplo , *Chlamydia trachomatis*, pueden no constituir un estímulo antigénico suficiente como para lograr la migración leucocitaria (20). Por otra parte, los leucocitos pueden no llegar al eyaculado por haber obstrucción ductal. Estudios ultrasonográficos han podido evidenciar imágenes compatibles con prostatovesiculitis en pacientes asintomáticos (21). Incluso, estos estudios realizados durante la fase aguda de epididimitis han logrado demostrar, en un número importante de pacientes, cambios compatibles con prostatitis crónica, la que precedió a la diseminación intracanalicular de patógenos hacia el epidídimo (22). Exámenes bacteriológicos realizados en varones infértiles en forma consecutiva lograron demostrar índices de 44% de infección en el tracto seminal (23). **Por ello, ante un espermograma alterado, con o sin leucocitospermia , cabe interrogarse si existe una etiología infecciosa subyacente, o si estamos frente a los efectos persistentes de una infección silenciosa previa.**

Sin embargo, los estudios publicados presentan discrepancias en cuanto a :

- 1- la relevancia de efectuar estudios sistemáticos de pesquisa microbiológica
- 2- la metodología diagnóstica mas correcta
- 3- los parámetros que permiten atribuir patogenicidad a determinados MO
- 4- los fármacos y esquemas terapéuticos mas útiles
- 5- la eficacia última en términos de fertilidad que tiene la detección y el tratamiento de las infecciones genitales en la pareja infértil.

Con el propósito de lograr acuerdos en algunos de estos puntos de controversia, convocamos a los colegas a participar en este Consenso.

FLORA NORMAL DEL APARATO GENITAL MASCULINO

Para poder interpretar la etiología de las infecciones que pueden afectar las vías espermáticas y glándulas anexas, es necesario conocer la flora normal del tracto genital masculino, cómo se regula y cuáles son los factores que pueden modificarla.

MECANISMOS DE COLONIZACION Y FACTORES DE PATOGENICIDAD DE LOS MICROORGANISMOS (25, 26)

- **Adhesividad y adhesinas**
- **Invasividad e invasinas**
- **Toxigenicidad y agresinas**
- **Modulinas y superantígenos**
- **Impedinas y evasión de las defensas del huésped**

ESTABLECIMIENTO DE LA FLORA NORMAL

El establecimiento de la flora en una mucosa depende de factores de los MO y del huésped (24, 25, 26).

- **Factores de los microorganismos:** estructurales y metabólicos.

- **Factores estructurales**

- **Adhesinas:** facilitan la adherencia y son de tres tipos:

- 1- Fimbrias constituidas por fimbrilina
- 2- Proteínas no fimbriales
- 3- Estructuras no proteicas

Las adhesinas son componentes de los MO que les facilitan el anclaje en las células que disponen de **receptores específicos** para los mismos. Uno de los enigmas concernientes a la flora normal es hasta qué número de MO puede persistir en íntima asociación con la superficie mucosa sin inducir una respuesta inflamatoria o una respuesta inmune por parte del huésped. Hay experiencias que sugieren que la reactividad del huésped, o los anticuerpos frente a los componentes de la flora normal son género dependiente mas que especie dependiente. Esto es más notable entre los miembros gram positivos de la flora. La tolerancia del huésped frente a los MO de la flora normal es materia de especulación y podría explicarse a través de la actividad del complejo mayor Ib de histocompatibilidad que presentaría los péptidos derivados de la microflora normal a los linfocitos intraepiteliales. Se produciría una restricción de dichos linfocitos por secreción de citoquinas con posibilidades de prevenir o reducir el nivel de activación de las células inmunocompetentes de la lámina propia.

Las **fimbrias**, apéndices de naturaleza proteica en cuyo extremo distal se encuentran las adhesinas capaces de unirse a los receptores específicos de la célula huésped, predominan en las bacterias gram negativas. Las **proteínas no fimbriales** se localizan en la membrana externa de las bacterias gram negativas y existen también algunas en las bacterias gram positivas.

En estas últimas, las adhesinas más importantes, particularmente dentro del grupo de los estreptococos, son las **estructuras no proteicas** como los ácidos lipoteicoicos que tienen capacidad de unirse a la fibronectina (28).

- **Cápsula:** esta estructura puede estar presente en bacterias gram positivas y negativas. En general es de naturaleza polisacárida y su función dentro de la constitución de la flora es evitar la fagocitosis. Existen otros MO que no poseen una verdadera cápsula pero tienen una capa mucosa que cumple la misma función. Hay un hecho interesante entre ciertas especies de estreptococos del grupo “viridans” que son capaces de rodearse de un **polímero** de glucano o dextrano favorecido por la presencia de ciertas proteínas en la superficie (*glicosiltransferasas*) y componentes del medio que favorecen la síntesis de dicho polímero. Esto ha sido bien demostrado en la cavidad oral pero también en las vías urinarias. Todas estas sustancias que dificultan la fagocitosis y a su vez promueven la adherencia, facilitan el fenómeno de la **coagregación** (*adherencia entre bacterias y con otras superficies*), que es uno de los factores importantes en el establecimiento de la flora normal.

Otros cocos gram positivos, como muchas de las especies del género *Staphylococcus*, una vez adheridos al uroepitelio tienen la capacidad de secretar un exopolisacárido o glicocálix (*slime*), que también contribuye a la coagregación, es decir a la formación de microcolonias que crecen, se consolidan y constituyen un biofilm capaz de tapizar y obstruir la luz de los conductos prostáticos, tal como sucede en los catéteres vesicales. Este es uno de los mecanismos que explica la persistencia de ciertos MO, que perpetúan y dificultan el tratamiento de algunas infecciones genitourinarias, ej. las prostatitis crónicas.

- **Factores metabólicos**

Existen productos metabólicos que contribuyen al equilibrio de la flora normal. Entre ellos la producción de: H_2O_2 , ciertos ácidos, hemolisinas que les permiten a las bacterias obtener el hierro de la hemoglobina y luego incorporarlo para su propio metabolismo mediante los **sideróforos** (*aerobactinas* y *enteroquelinas*), o proteínas transportadoras de hierro que en determinadas circunstancias pueden actuar como un factor de virulencia eficaz.

Otro grupo de sustancias que se conocen con el nombre de bacteriocinas, ejercen un balance entre los numerosos integrantes de la flora. Son péptidos, proteínas o complejos proteínas-carbohidratos, producidos por varias especies bacterianas, con un espectro relativamente reducido de actividad inhibitoria sobre otros MO. Ejemplo: estafilococinas, micrococinas, colicinas, etc. Estas sustancias suprimen o limitan poblaciones microbianas que son potencial o claramente competidoras, de MO con capacidad patógena.

Agresinas y toxigenicidad

- **Agresinas: macromoléculas que actúan directamente sobre las células y tejidos facilitando la invasión o daño**
- **Generalmente son exotoxinas**
- **Metabolitos**
- **LPS: agresina y modulina**

Impedinas y evasión de las defensas del huésped

- **Las impedinas son macromoléculas que facilitan la evasión microbiana de los mecanismos de defensa del huésped. Actúan sobre sustancias que hacen efectiva la fagocitosis. Reducción de la inmunogenicidad por unión a proteínas (estreptococos a fibronectina) (27)**

- **Unión a fracción Fc de la IgG**
- **IgA proteasa (Ej. de *Ureaplasma urealyticum*)**
- **Sideróforos vs. moléculas transportadoras de hierro del huésped.**

Recordemos que la **fibronectina** se encuentra presente en las mucosas colonizadas del organismo y que los **sideróforos** son proteínas transportadoras del hierro producidas por bacterias que son capaces de adquirir el hierro exógeno transportado por las proteínas humanas para utilizarlo en su propio metabolismo. Los sideróforos se consideran un factor de virulencia importante de ciertas bacterias que producen patología en el tracto genital masculino como *Neisseria gonorrhoeae*.

Modulinas inductoras de citoquinas: macromoléculas capaces de modular el sistema inmune estimulándolo o inhibiéndolo.

- **LPS (lipopolisacárido) y LOS (lipooligosacárido): presentes en la membrana externa de las bacterias gram negativas. Ejemplos: *E.coli* y *Haemophilus parainfluenzae*, respectivamente, ambos posibles integrantes de la flora normal y con capacidad de producir patología**
- **Porinas (proteínas de la membrana externa de las bacterias gram negativas que permiten el paso de sustancias hidrófilas con determinado peso molecular)**
- **Proteínas asociadas al Lípido A**
- **Proteínas estafilocócicas de superficie**
- **Proteína A de *Staphylococcus***
- **Lipoproteínas y glicoproteínas**
- **Exotoxinas**
- **Lipoarabinomano de *Mycobacterium* spp.**
- **Peptidoglicano**
- **Ácido teicoico**
- **Superantígenos**
- **HSP: proteínas de choque calórico (“heat shock proteins”): las producen los MO en situaciones de estrés**

- **Factores del huésped:** el número de receptores, la presencia de inmunoglobulinas, enzimas como la lisozima, el complejo de citoquinas y las células responsables de la respuesta inmune, son factores que modulan y regulan la composición de la flora genital. La espermina, el factor prostático antibacteriano con el cinc (PAF-Zn: potente proteína catiónica antiadherente y antibacteriana), el ácido cítrico, la fructosa, entre otros, son algunos de los mecanismos de defensa locales de las vías espermáticas.

Se detallan a continuación los distintos tipos de receptores celulares para las adhesinas microbianas:

- ❑ **Azúcares:** ácido siálico, galactosa, galactosilcerebrósido
- ❑ **Superfamilia de las Inmunoglobulinas:** ICAM-1, CD4
- ❑ **Factores de crecimiento:** EGF (*epidermal growth factor*), eritropoyetina,
- ❑ **Integrinas**
- ❑ **Componentes o matriz extracelular:** laminina, fibronectina
- ❑ **Proteínas de transporte:** aminoácidos básicos y transportadores de fosfato
- ❑ **Anticuerpos o complemento que favorecen la adherencia**

El uso de determinadas sustancias concomitantemente con los preservativos como el nonoxinol 9, determina muchas veces la desaparición o disminución de algunas de las especies colonizantes ya que no sólo ejerce actividad espermicida sino que posee también actividad bactericida precisamente sobre los MO integrantes de la flora normal (29).

Interacción microorganismo-huésped

**Antagonismo del huésped
hacia el microorganismo**



**Antagonismo microbiano
hacia el huésped**

Transmisibilidad (27): propiedad que poseen los MO que integran la flora o colonizan las mucosas de propagarse. Depende de:

- **Avidez por las mucosas (ETS) (32, 33)**
- **Formación de endosporos**
- **Capacidad de sobrevivir en condiciones adversas de pH y osmolaridad**

Adaptación: es la capacidad que tienen los MO para subsistir en las mucosas a pesar de condiciones que les puedan ser desfavorables. Depende de:

- **Atenuación de la virulencia**
- **Evasión**
- **Competencia por nutrientes**
- **Sistema de señales para activar o regular genes apropiados**

Proliferación o crecimiento microbiano: cuanto mayor es la proliferación de un MO, menor es la capacidad defensiva del huésped.

CLASIFICACION DE LA FLORA DEL APARATO GENITAL MASCULINO

Se pueden distinguir dos grupos de MO integrantes o asociados a las mucosas y a la piel (24, 25, 26):

1. Aquellos que excepcionalmente producen patología y que sólo se pueden recuperar como acompañantes de una lesión producida por otros patógenos. Estos MO son capaces de generar una infección sistémica en pacientes con patologías inmunosupresoras severas o bien sometidos a algún tipo de inmunosupresión.
2. Aquellos que están dotados de factores de virulencia y que ya sea por la concentración de los mismos, el medio (acidez, presencia de sustancias microbicidas) no desarrollan su potencial patogénico y sólo lo hacen cuando las condiciones del medio se modifican. Por el contrario, algunos miembros de la flora normal pueden transformarse en patógenos por la adquisición de factores de virulencia adicionales (cualquier MO puede adquirir factores de virulencia mediante los distintos procesos de recombinación genética), o cuando los mismos se introducen en sitios normalmente estériles como *Staphylococcus aureus* al alcanzar la próstata. La adquisición de ADN exógeno representa un hito importante en la transformación de una bacteria (que forma parte de la flora habitual de una mucosa) a patógeno potencial, en la medida que las condiciones del medio le permitan la expresión de los factores de virulencia adquiridos. Este hecho también es importante en la incorporación de factores de resistencia a los antibióticos. Un ejemplo característico es la adquisición de **transposones** (ADN móvil que puede insertarse en el cromosoma o en plásmidos bacterianos), que codifican resistencia a las tetraciclinas, por parte de los estreptococos de la flora uretral y su pasaje a otras bacterias, como *Ureaplasma urealyticum*, que de esta manera **pasa de sensible, a ser resistente** a este grupo de drogas.

Resumiendo, se puede hablar de MO potencialmente patógenos (o patógenos oportunistas) y MO netamente patógenos (ej. *Chlamydia trachomatis*, *Mycobacterium tuberculosis*, etc.). Cualquier miembro de la flora normal, residente o habitual de las diferentes mucosas es un patógeno potencial, en la medida que adquiera factores de virulencia y pueda expresarlos, o alcance sitios normalmente estériles y prolifere (24, 26, 30).

En el caso del tracto genital masculino la única zona colonizada, habitualmente, es la uretra distal o anterior. Desde allí los MO que constituyen la flora normal, en circunstancias determinadas, pueden ascender o migrar hacia otras zonas del aparato urogenital y desencadenar una infección. Los MO 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, de tal manera que aún en bajo número, les permiten desarrollar patología. Los ejemplos clásicos son: *Neisseria gonorrhoeae* y *Chlamydia trachomatis* (31).

- Composición de la flora

La uretra masculina contiene MO variados que en general son similares a los que se encuentran en la zona de la piel adyacente, particularmente, en la zona balano prepuccial (24, 27)

La proporción de los MO presentes depende de los factores mencionados.

Cocos gram positivos

Staphylococcus aureus

Staphylococcus coagulasa negativos

Streptococcus del grupo *viridans*

Streptococcus beta hemolíticos: *Streptococcus agalactiae*

Streptococcus no hemolíticos

Enterococcus faecalis

Enterococcus spp.

Bacilos gram positivos

Corynebacterium spp. (especies lipofílicas y no lipofílicas)

Brevibacterium spp.

Bacilos gram negativos

Enterobacterias : *Escherichia coli*

Bacilos gram negativos no fermentadores

Acinetobacter baumannii

Bacterias anaerobias

Propionibacterium spp.

Micoplasmas

Ureaplasma urealyticum

A este grupo de MO que existe en más del 50% de los individuos asintomáticos, hay que sumar otros, cuya presencia depende de los hábitos sexuales:

Haemophilus spp.

Moraxella catarrhalis

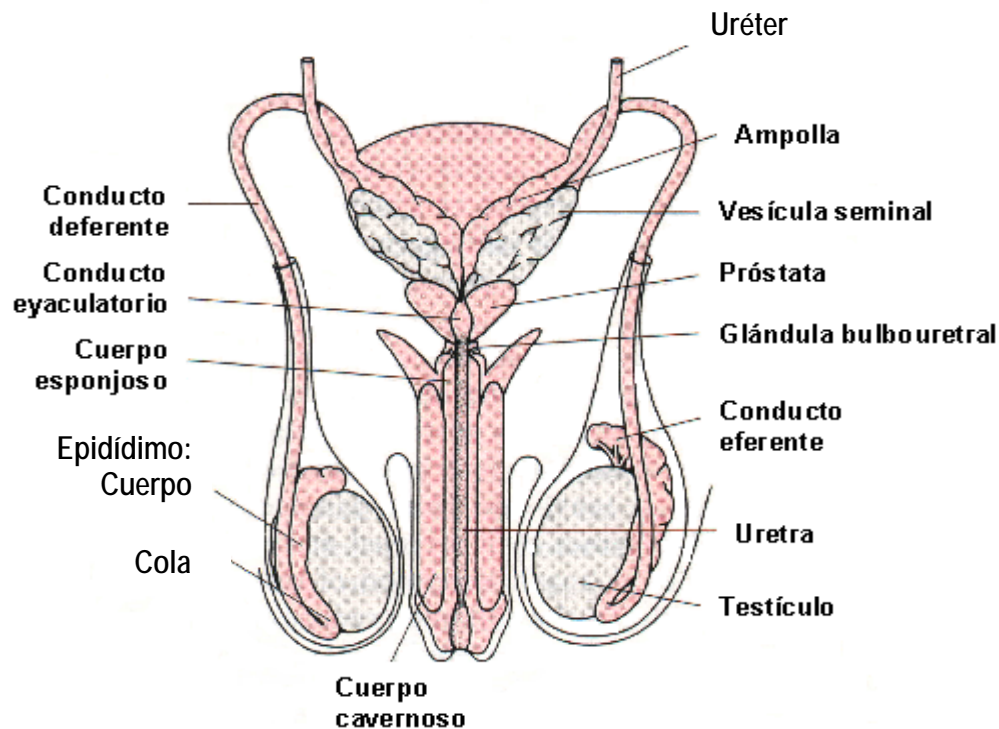
Bacteroides spp.

Fusobacterium spp.

Mycobacterium smegmatis

AGENTES ETIOLÓGICOS DE LAS INFECCIONES DE LAS VÍAS ESPERMÁTICAS Y GLÁNDULAS ANEXAS

CONTROVERSIAS SOBRE LA PARTICIPACIÓN DE LOS MISMOS



El acceso de los microorganismos hasta la próstata, el epidídimo y el resto de las vías espermáticas y glándulas anexas se realiza a través de alguna de las siguientes vías (34):

- 1. Canalicular ascendente:** implica el ascenso de los MO responsables de la infección /colonización uretral, o el reflujo de la orina infectada hacia los conductos prostáticos y epididimales, principalmente luego de la cateterización uretro-vesical u otros procedimientos invasivos. Es la ruta seguida por los géneros y especies de enterobacterias, *Pseudomonas* spp. , por los agentes asociados a las enfermedades de transmisión sexual (ETS), especies de estafilococos coagulasa negativos (ECN), *Enterococcus faecalis*, etc.

2. **Diseminación hematógica:** desde un foco infeccioso distal llegan los MO al tracto genitourinario, ej: durante las infecciones agudas por *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *S. pyogenes*, *Mycobacterium tuberculosis* (secuela de tuberculosis miliar), micosis sistémicas endémicas y oportunistas (ej: por *Histoplasma capsulatum*, *Cryptococcus neoformans*, etc.)
3. **Extensión directa:** de los MO desde el recto a través de los canales linfáticos. Es la más discutida y puede ser seguida por las enterobacterias y las bacterias anaerobias.

En los últimos 150 años, múltiples fueron los intentos para clasificar y definir a las infecciones de las vías seminales. En diciembre de 1995 y luego en 1998, el *National Institutes of Health* (NIH) elaboró, por consenso, un SISTEMA DE CLASIFICACION DE LOS SINDROMES PROSTATICOS, con el objeto de alcanzar un lenguaje común y cierto marco regulatorio para los futuros estudios y líneas de investigación, es decir para mejorar el diagnóstico y las estrategias terapéuticas (35).

SISTEMA DE CLASIFICACION DE LOS SINDROMES PROSTATICOS (NIH)

CATEGORIA	TIPO
I	Prostatitis bacteriana aguda
II	Prostatitis bacteriana crónica
III	Prostatitis crónica (no bacteriana) o síndrome de dolor pelviano crónico
IIIA	Síndrome de dolor pelviano crónico INFLAMATORIO
IIIB	Síndrome de dolor pelviano crónico NO INFLAMATORIO
IV	Prostatitis asintomática inflamatoria

A pesar de los múltiples estudios, métodos diagnósticos y pruebas terapéuticas administradas, en muchos casos la etiología, patogenia y patofisiología de las prostatitis quedan sin resolver. Sin embargo, algunas consideraciones pueden ser realizadas.

PROSTATITIS BACTERIANA AGUDA (PBA) (categoría I)

Infección aguda y generalizada de toda la glándula prostática. Aunque relativamente poco frecuente, sin el tratamiento adecuado, puede evolucionar hacia la formación de abscesos, con orquiepididimitis, vesiculitis seminal, bacteriemia, sepsis y la prostatitis bacteriana crónica residual.

Los pacientes se presentan con fiebre, malestar general, dolor pelviano y perineal, asociados a síntomas urinarios como frecuencia y urgencia miccional, disuria y, ocasionalmente, retención urinaria.

Existe una clara asociación entre PBA e infecciones del tracto urinario (ITUs), que incluye la respuesta inflamatoria del huésped con gran cantidad de leucocitos polimorfonucleares y macrófagos en las secreciones prostáticas. Los agentes etiológicos más frecuentes son los mismos uropatógenos responsables de las ITUs. Es decir: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Providencia rettgeri* y otras enterobacterias.

Pseudomonas aeruginosa y *Staphylococcus aureus* se observan en pacientes añosos con catéteres vesicales, o luego de cirugías, biopsias, u otra instrumentación de la vía genitourinaria.

Raras son las prostatitis agudas por *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma* spp. o *Trichomonas vaginalis* (36).

Los materiales útiles para el diagnóstico etiológico son:

- urocultivo
- hemocultivo seriado (2 – 3 muestras)

El masaje prostático NO debe ser realizado ante el riesgo de bacteriemia y shock séptico (por otra parte resultaría extremadamente doloroso).

El tratamiento antibiótico oral y/o endovenoso (según el estado clínico del paciente), debe ser iniciado rápidamente una vez extraídas las muestras aludidas, modificado según la sensibilidad del agente causal y la biodisponibilidad de los antibióticos (ATBs) útiles en la próstata y administrados por 4 semanas para evitar la progresión hacia la prostatitis crónica (37). (Los esquemas terapéuticos serán motivo de otro documento).

La PBA es la entidad clínica más clara en cuanto a su reconocimiento, métodos diagnósticos y tratamiento.

PROSTATITIS BACTERIANA CRONICA (PBC) (categoría II)

Enfermedad insidiosa, a veces subclínica, recidivante, que se confirma mediante la demostración de MO en el líquido prostático, o en la orina post-masaje prostático, con conteos de colonias al menos 10 veces superiores respecto de los obtenidos en la orina uretral (primer chorro miccional). (Ver metodología de estudio). También pueden ser demostrados, en forma más exhaustiva y compleja, mediante biopsias de próstata (38) y por métodos moleculares (39, 40).

La reacción inflamatoria suele ser una característica acompañante, aunque NO excluyente (41, 42).

Los pacientes suelen tener antecedentes de ITUs a repetición, ETS o instrumentación genitourinaria, con persistencia de los MO en el sistema prostático excretor, a pesar de los múltiples esquemas antibióticos recibidos.

Los síntomas, episódicos y fluctuantes (se mantienen al menos x 3 meses), incluyen: dolor abdominal bajo, perineal o pelviano, en el pene, testículos, áreas inguinal y suprapúbica, con trastornos en la micción y malestar durante la eyaculación. También existen formas mucho menos sintomáticas y asintomáticas (41).

J. C. Nickel (37), clasificó a los MO asociados a prostatitis crónica publicados en la literatura internacional de la siguiente manera:

PATOGENOS PROSTATICOS

1. Reconocidos

- Diferentes géneros y especies de *Enterobacteriaceae*: *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Morganella morganii*, *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., etc.
- *Pseudomonas* spp.

2. Probables

- *Staphylococcus aureus*
- *Enterococcus* spp.

3. Posibles

- Diferentes especies de ECN
- *Ureaplasma urealyticum*
- *Chlamydia trachomatis*
- *Trichomonas vaginalis*
- *Gardnerella vaginalis*
- *Candida* spp.
- Bacterias anaerobias

4. Función desconocida

- Bacterias corineformes
- *Corynebacterium* spp.
- *Lactobacillus* spp.

5. ¿MO viables NO cultivables?

- Bacterias en biofilms
- Virus
- MO exigentes y/o metabólicamente deficientes
- Otros

En el Instituto de Investigaciones Médicas ALFREDO LANARI, sobre un total de 282 hombres de parejas infértiles, estudiados con la técnica de las 4 muestras de Stamey y Meares (43) con el agregado de semen (41), la etiología de la infección de las vías espermáticas fue la siguiente (datos no publicados):

ETIOLOGIA DE LAS INFECCIONES PROSTATO - SEMINALES EN HOMBRES INFERTILES (IDIM A. LANARI)

MICROORGANISMO	PORCENTAJE
<i>Enterococcus faecalis</i>	36
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	22
E C N *	9
<i>Streptococcus</i> grupo viridans **	7
<i>Escherichia coli</i>	5
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	5
<i>Staphylococcus aureus</i>	4
<i>Streptococcus agalactiae</i>	3
Otros ***	9
T O T A L	100

Referencias: *, *Staphylococcus epidermidis*, *S. hominis*, *S. warneri*, *S. haemolyticus* y *S. xylosus*. **, *Streptococcus mitis* y *S. sanguis*.

***, *Chlamydia trachomatis*, *Morganella morganii*, *Enterobacter cloacae*, *Gardnerella vaginalis*, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *Lactococcus lactis* y *Corynebacterium* sp.

De los 282 pacientes, el 44% resultó positivo. El 62% lo fue a expensas del semen y/o semen + secreción prostática (SP) y en el 38% restante fueron positivos la SP o la orina post-masaje prostático (OPM), exclusivamente.

Solamente en el 60% de los pacientes infectados se detectó leucocitospermia, como así también en el 11% de los no infectados (algunos con varicocele). Por esto remarcamos que la leucocitospermia no es un marcador confiable de infección crónica de las vías espermáticas (41), como tampoco lo son las citoquinas proinflamatorias interleuquina-6 y el factor de necrosis tumoral $-\alpha$, medidos en el plasma seminal (44, 45).

Tal como ya fuera demostrado (41), el tratamiento antibiótico específico y prolongado (3 meses), mostró la curación microbiológica y la mejoría, estadísticamente significativa, de los parámetros seminales en la mayoría de los pacientes (83%), a saber: concentración espermática, movilidad, viabilidad, número total de espermatozoides móviles en el eyaculado y disminución de los PMN/ ml.

PROSTATITIS CRONICA (NO BACTERIANA) O SINDROME DE DOLOR PELVIANO CRONICO (categoría III)

De todos los síndromes prostáticos que nos ocupan, representa la entidad clínica más frecuente de la práctica urológica. En este grupo de pacientes los estudios microbiológicos resultan negativos. En la categoría IIIA se demuestra leucocitospermia, mientras que en la IIIB no se detecta reacción inflamatoria.

Se desconoce la etiología del síndrome, para la categoría IIIA se postula (37, 46):

- a. reflujo crónico de orina en los conductos prostáticos;
- b. irritación permanente a través de cuerpos extraños (ej: cálculos);

- c. ¿MO exigentes o MO viables no cultivables, u otros?
- d. otras patologías de base, ej: varicocele;
- e. mecanismos autoinmunes.

Para los pacientes en la categoría IIIB podría existir algún tipo de conexión con la cistitis intersticial.

PROSTATITIS ASINTOMATICA INFLAMATORIA (categoría IV)

Los estudios del eyaculado, la SP, la OPM, o biopsias, demuestran reacción inflamatoria sin, aparentemente, una causa que la justifique en la mayoría de los pacientes. En otros subyace la hiperplasia prostática benigna o el cáncer de próstata.

EPIDIDIMITIS

Inflamación del epidídimo, primariamente de etiología infecciosa, responsable de aproximadamente el 20% de las consultas urológicas en las poblaciones militares. Se impone el diagnóstico diferencial con un proceso traumático, el tumor de testículo o la torsión testicular (emergencia quirúrgica).

La epididimitis aguda (inicio en 1-2 días), casi siempre unilateral, se presenta con tumefacción dolorosa del escroto con eritema, disuria, con o sin secreción uretral y fiebre. Al inicio, la tumefacción afecta a una porción del epidídimo, a medida que avanza el proceso es frecuente el compromiso del testículo homolateral, provocando una orquiepididimitis, siendo difícil distinguir el testículo del epidídimo dentro de la masa inflamatoria.

Etiología: en pacientes con menos de 35 años, los principales agentes etiológicos son:

- *Chlamydia trachomatis* (\cong 70% de los casos)
- *Neisseria gonorrhoeae*
- Otros agentes de ETS

En este grupo etario, las anomalías subyacentes del tracto genitourinario son infrecuentes.

En pacientes añosos, por el contrario, la epididimitis bacteriana reconoce una patología urológica subyacente o el antecedente de manipulación del tracto genitourinario (cirugías, cateterismo uretral, etc.). Las PBA y crónica son patologías predisponentes importantes para el desarrollo de epididimitis, o pueden cursar en forma concomitante.

Etiología: en pacientes con mas de 35 años, los principales agentes etiológicos son los uropatógenos, es decir:

- *Escherichia coli*
- *Klebsiella pneumoniae* y otras enterobacterias
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Staphylococcus aureus*
- *Staphylococcus epidermidis* y otros ECN
- Otros

La epididimitis tuberculosa es la manifestación más frecuente de la tuberculosis genital masculina. Existe una tumefacción escrotal característica con agrandamiento “en rosario” del conducto deferente y pueden presentarse fístulas escrotales secretantes crónicas. Otras

micobacterias y los agentes de las micosis sistémicas endémicas pueden comprometer al epidídimo, como lo hacen con la próstata.

Los materiales útiles para el diagnóstico etiológico de la **epididimitis aguda** son:

- secreción uretral (cuando existe): puede ser evidente a la inspección o requiere de la compresión de la uretra. Puede ser escasa y acuosa o purulenta
- urocultivo
- hemocultivo seriado (2 – 3 muestras)

En función de los signos, síntomas, grupo etario y antecedentes que presente el paciente, se extraerán aquellos materiales que más ayuden a confirmar la presunción clínica.

Los materiales óptimos para hacer el diagnóstico definitivo son:

- punción aspirativa
- biopsia epididimaria

los cuales serán extraídos en situaciones extraordinarias. El procesamiento del semen obtenido por masturbación no se recomienda porque al ser positivos el exudado uretral y/o el urocultivo, se invalida su interpretación. Por otra parte, pocos pacientes podrían masturbarse (por dolor en toda el área circundante).

Las complicaciones de la epididimitis incluyen la formación de abscesos, infarto testicular, epididimitis crónica e infertilidad.

La **epididimitis crónica** es una entidad clínica mucho más solapada. Puede realizarse la búsqueda del agente causal a través de la técnica fraccionada de las 4 muestras de Stamey y Meares con el agregado de semen (ver metodología de estudio). En este caso, si existiera la prostatitis crónica acompañante, el cultivo del líquido prostático o de la orina post-masaje prostático y el semen mostrarán conteos de colonias al menos 10 veces superiores, respecto de los correspondientes a la orina uretral. Si la próstata no estuviese comprometida, sólo el semen mostrará un conteo microbiano en exceso respecto de la O1. Estos estudios confirmarán la presunción clínica, NO habiendo manera, por métodos microbiológicos con los materiales mencionados, de localizar la infección epididimaria (ni ninguna otra que no sea la prostática).

Nuevamente, para el diagnóstico definitivo (etiología + localización), se requiere de:

- punción aspirativa
- biopsia epididimaria

las cuales por razones obvias, no pueden ser incluidas en un protocolo de estudio de rutina.

ORQUITIS

Las infecciones agudas del tracto genital masculino que comprometen exclusivamente a los testículos son inusuales, luego las orquitis bacterianas responden a los mismos agentes etiológicos de las epididimitis y se producen por contigüidad, dando lugar a las orquiepididimitis.

El paciente se presenta agudamente enfermo, con tumefacción del testículo afectado, dolor que se irradia al conducto inguinal, náuseas, vómitos e hipertermia. Frecuentemente el tratamiento incluye la cirugía, además de la terapia antibiótica, analgesia, etc.

En cuanto a la etiología y métodos de estudio, hasta aquí son válidas las consideraciones realizadas para epididimitis bacteriana.

El componente casi exclusivo de las orquitis es la etiología viral, en particular la parotiditis epidémica que se observa en un 20% de los varones post-púberes. La orquitis bilateral por parotiditis, en una época, fue asociada con infertilidad hasta en un 25% de los casos.

El virus Coxsackie B también produce una orquitis, clínica e histológicamente muy parecida a la de la parotiditis.

El estudio microbiológico de las infecciones crónicas de las vías espermáticas y glándulas anexas, a través de la técnica fraccionada de Stamey y Meares con el agregado de semen, permite localizar solamente a las prostatitis. Así, en función de cual de las muestras resulta positiva (cuali y cuantitativamente evaluada), se puede inferir si el paciente es portador de una infección crónica en próstata **y/o** en algún otro lugar del aparato genital masculino, sin poder especificar cual.

METODOLOGÍA DE ESTUDIO

Diferentes metodologías han sido propuestas para evitar las causas de error más importantes en la interpretación de los cultivos microbiológicos; es decir la presencia de la flora uretral normal y colonizantes transitorios. La muestra ideal debería ser estéril, y ésto podría lograrse sólo a través de técnicas invasivas tales como biopsias y punción aspiración, donde la muestra del tejido es cultivada.

Dado que la mayoría de los pacientes rechazan estos procedimientos la única forma de hacer el diagnóstico es por medio de métodos indirectos como el cultivo de semen o la técnica de las cuatro muestras descrita por Stamey y Meares (43), con el agregado de semen (41).

Stamey y Meares demostraron que los cultivos bacteriológicos cuantitativos localizan claramente el agente etiológico cuando son confrontados con el cultivo de 10 ml de la orina de la primera porción. Este método es considerado el “gold standard” (46) para la localización de la infección en la glándula prostática, a pesar de lo laborioso y costoso que resulta.

Mobley y col. (47), por otro lado demostraron la utilidad del cultivo de semen en el diagnóstico de la infección prostática y establecieron que la correlación entre cultivo de secreción prostática y cultivo de semen es excelente cuando la orina es estéril.

Otros autores como Mc Gowan y col.(48) , Witkin y col.(49), Naessens y col.(50) y Jarvi y col.(51), usualmente basan el diagnóstico de bacteriospermia significativa en el cultivo de semen.

Santoianni y col. (51) encontraron diferencias estadísticamente significativas comparando los resultados obtenidos por la técnica de cultivo de semen, con aquellos obtenidos por 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, pero cuando una prostatitis crónica es sospechada o cuando es necesario establecer o descartar este diagnóstico, los cultivos del líquido prostático y/u orina post masaje prostático deben ser **siempre** realizados.

INDICACIONES DE TOMA DE MUESTRA

METODO: CULTIVO DE SEMEN – ESPERMOCULTIVO (52)

La muestra la toma el paciente, por masturbación , luego de haber orinado. Previo a la recolección debe lavarse las manos y el pene con jabón, luego enjuagarse y secarse con toalla limpia. Se recoge el esperma en un frasco estéril, pequeño, de aproximadamente 50 ml de capacidad (todo el material), ya que es una secreción heterogénea proveniente de diferentes glándulas. **Enviarla al laboratorio, de inmediato, sin refrigerar.**

Interpretación de resultados: se considera una muestra positiva aquella cuyo conteo de colonias es $\geq 10^3$ UFC/ml de bacterias de patogenicidad reconocida o $\geq 10^4$ UFC/ml de bacterias potencialmente patógenas y solamente una especie aislada (48).

METODO: STAMEY Y MEARES CON EL AGREGADO DE SEMEN

Todas las muestras deben tomarse con 72 hs de abstinencia sexual y retención urinaria mínima de 3 horas. La abstinencia sexual permite detectar la mayor concentración de MO infectantes en las vías espermáticas y glándulas anexas, como así también minimiza la contaminación con los MO de la flora normal o colonizantes transitorios de la compañera sexual. El paciente en el momento de la realización del estudio no debe presentar secreción uretral ni infección urinaria.

PRIMER CHORRO MICCIONAL (O₁)

Realizar higiene de genitales externos, con agua y jabón, tres veces y enjuagar con abundante agua, efectuar previamente retracción del prepucio, ya que ésta es una zona colonizada por gérmenes, secar con gasa estéril o toalla descartable. Después de la higiene indicada, recoger los primeros 10 ml de orina en un recipiente estéril. **No refrigerar, enviar de inmediato al laboratorio.**

CHORRO MEDIO (O₂)

Recoger la orina en un frasco estéril, pero debe indicarse al paciente que **NO** termine de orinar puesto que deberá hacerlo nuevamente luego del masaje prostático. **No refrigerar, enviar de inmediato al laboratorio.**

SECRECION PROSTATICA (SP)

Efectuar masaje prostático y recoger la secreción prostática en un frasco estéril (SP). **No refrigerar, enviar de inmediato al laboratorio.**

ORINA POST MASAJE PROSTATICO (OPM)

Recoger los primeros 10 ml de orina en un recipiente estéril. **No refrigerar, enviar de inmediato al laboratorio.**

ESPERMOCULTIVO (S)

El esperma se recoge por masturbación en un frasco estéril pequeño de aproximadamente 50 ml de capacidad (todo el material), ya que es una secreción heterogénea proveniente de diferentes glándulas. Enviar al laboratorio **la muestra de inmediato, sin refrigerar.**

Interpretación de resultados: Se consideran positivos el líquido prostático o semen cuando: 1- sus conteos de colonias son $\geq 1 \log_{10}$ con respecto a los conteos de la orina de la primera porción, ó 2- cuando la secreción prostática no es obtenida, los conteos de colonias de la orina post masaje prostático son $\geq 1 \log_{10}$ con respecto a los conteos de la orina de la primera porción.

METODO: DE “SCREENING”

Todas las muestras deben tomarse con 72 hs de abstinencia sexual y retención urinaria mínima de 3 horas. La abstinencia sexual permite detectar la mayor concentración de MO infectantes en las vías espermáticas y glándulas anexas, como así también minimiza la contaminación con los MO de la flora normal o colonizantes transitorios de la compañera sexual. El paciente en el momento de la realización del estudio no debe presentar secreción uretral ni infección urinaria.

PRIMER CHORRO MICCIONAL Y ESPERMOCULTIVO

Se procede a la higiene de genitales externos, recolección y transporte de las muestras, tal como ya fue indicado en el método de Stamey y Meares.

Interpretación de resultados: Se considera el semen positivo cuando el conteo de colonias es $\geq 1 \log_{10}$ con respecto al conteo de la orina de la primera porción.

VENTAJAS, DESVENTAJAS Y LIMITACIONES

METODO	VENTAJAS	DESVENTAJAS	LIMITACIONES
CULTIVO DE SEMEN	Se procesa una sola muestra que el paciente puede remitir al laboratorio. Bajos costos. Trabajo normal.	Al no realizarse el estudio de SP y OPM \cong en 1/4 de los pacientes se pierde el diagnóstico de prostatitis.	Se desconoce la flora uretral residente al no realizarse la O ₁ . Esto puede conducir a errores diagnósticos (51).
STAMEY Y MEARES CON EL AGREGADO DE SEMEN	Único método que detecta el 100% de las infecciones prostáticas y seminales.	Se procesan 5 muestras y necesita de un médico para el masaje prostático. Costos elevados y trabajo intensivo.	Las muestras deberían ser obtenidas en el laboratorio. Requiere de microbiólogos experimentados para interpretar los resultados.
“SCREENING”	Se procesan 2 muestras que el paciente puede remitir al laboratorio. Bajos costos y trabajo moderado.	Al no realizarse el estudio de SP y OPM \cong en 1/4 de los pacientes se pierde el diagnóstico de prostatitis.	A pesar de conocerse la flora uretral, un resultado negativo no descarta prostatitis (51).

TÉCNICAS CULTURALES

Las muestras deberán ser procesadas lo antes posible.

- Identificación cualitativa de microorganismos

Los materiales se siembran en placas de agar chocolate, agar Thayer-Martin, agar sangre, medio V (incubados en atmósfera enriquecida con CO₂), agar eosina azul de metileno o CIDE, agar Sabouraud y agar Brucella suplementado (incubado en atmósfera anaeróbica). Aproximadamente 0,1 ml de cada muestra se coloca en medio tioglicolato y caldo infusión cerebro corazón.

Se realizan las coloraciones de Gram y Giemsa a todos los especímenes y Ziehl-Nielsen sólo a las muestras de semen.

- Estudios cuantitativos

Para los conteos de colonias 0,1 ml de O₁, O₂, SP, OPM y S (este último diluido al ½ con solución fisiológica) y las diluciones hasta 10⁻³ son mezcladas con un medio rico (agar base sangre, medio V, etc.) con adición de 2 ó 3 gotas de sangre y vertidos en placas de Petri. También se puede colocar 0,1 ml de cada muestra sobre placas de agar sangre y esparcir con espátula de Drigalsky. Se incuban por 5 días a 35°C en condiciones de aero y anaerobiosis.

DIAGNOSTICO DE INFECCIONES POR *Ureaplasma urealyticum*

Las muestras de orina primer chorro miccional, orina chorro medio, secreción prostática, orina post masaje prostático y esperma están indicadas para efectuar diagnóstico de infección por *U. urealyticum*. En base a nuestra experiencia el método de “screening”, la realización del estudio cuali y cuantitativo de la orina de la primera porción y el semen, brindan un adecuado diagnóstico, pero cuando una prostatitis crónica es sospechada o cuando es necesario establecer o descartar este diagnóstico, el cultivo del líquido prostático u orina post masaje prostático deben ser realizados (51, 53, 54).

- Toma de muestra

Es importante recordar que las muestras deben colocarse en **medios de transporte específicos** para micoplasmas que contienen proteínas, peptonas, agentes de oxidoreducción y antibióticos, para lograr una mayor viabilidad. Se inocula una alícuota (1/10) de cada una de las muestras en el medio de transporte, las cuales deben remitirse de inmediato al laboratorio (no más de 2 horas después de tomadas) o refrigerarse a - 20 °C, dentro de las 24 horas de tomadas. Caso contrario deben congelarse a - 70 °C, siendo ésta la temperatura óptima de conservación de la viabilidad.

- Examen directo

La coloración de Gram **no** es de utilidad, dado que los micoplasmas carecen de pared celular.

- Cultivo

La utilización simultánea de medios líquidos y sólidos mejora la recuperación y permite la confirmación de la presencia de micoplasmas (53).

Para la investigación de *U. urealyticum* se utiliza un método semicuantitativo, por medio de diluciones seriadas de la muestra en caldo urea. El desarrollo de *U. urealyticum* se expresa en unidades cambiadoras de color (UCC) por mililitro. Para las siembras en medio sólido, se utilizan placas de agar diferencial para *U. urealyticum* (medio A7), las cuales se incuban entre 3 y 5 días, en atmósfera enriquecida en CO₂ (método de la vela).

Se efectúa el recuento diferencial de colonias de *U. urealyticum* por observación microscópica con aumentos de 25X y 100X (54, 55).

Los métodos comerciales pueden ser utilizados. Poseen algunas limitaciones en cuanto a la cuantificación de los MO, metodología utilizada para diagnosticar la infección de las vías seminales.

- **Interpretación de resultados:** Se consideran positivos el líquido prostático o semen cuando: 1- sus conteos de colonias son $\geq 1 \log_{10}$ con respecto a los conteos de la orina de la primera porción, ó 2- cuando la secreción prostática no es obtenida, los conteos de colonias de la orina post masaje prostático son $\geq 1 \log_{10}$ con respecto a los conteos de la orina de la primera porción.

- Estudio de sensibilidad a los antimicrobianos

Los micoplasmas en general responden a patrones de sensibilidad de ahí que no se justifique el estudio de rutina, salvo en situaciones clínicas muy definidas. Responden a tratamientos con tetraciclinas, macrólidos y quinolonas. No existe hasta el momento un método

estandarizado. La mayoría de los trabajos utilizan métodos por dilución en medio líquido ó en medio sólido para determinar la concentración inhibitoria mínima (54).

Smayevsky y col. (56) estudiando la sensibilidad de 94 aislamientos de *U. urealyticum* frente a minociclina, tetraciclina, eritromicina, ciprofloxacina y ofloxacina detectaron 5; 5,5; 1; 9,5 y 0% de resistencia, respectivamente.

INVESTIGACION DE *Chlamydia trachomatis*

- Métodos de diagnóstico

Los métodos se clasifican en:

1. Métodos culturales (cultivo en líneas celulares)
2. Métodos no culturales:
 - a) Métodos de detección de antígeno
 - b) Métodos moleculares (no amplificados y amplificados)

- Toma de muestra

La eficiencia en la toma de la muestra influye directamente en la sensibilidad del resultado.

Dado que *C. trachomatis* (Ct) es un patógeno intracelular obligado, la muestra debe tener alto contenido en células. Muestras de exudados que no contengan células uretrales no son satisfactorias.

Para efectuar cultivo, las muestras uretrales (U), SP y S son aceptables, las muestras de orina no están recomendadas. Las muestras deben colocarse de inmediato en medios de **transporte específicos**, como por ejemplo el 2-sacarosa fosfato (2SP) que contiene suero fetal bovino para mantener la viabilidad del MO y un antibiótico, por ejemplo, gentamicina, para prevenir el desarrollo de otras bacterias. Las muestras deben colocarse de inmediato en heladera a 2-8 °C y transportarse refrigeradas. Si la muestra no se procesa de inmediato, puede mantenerse refrigerada hasta 48 horas, como máximo y después congelarse a -70 °C. Se debe evitar el congelamiento a -20 °C, dado que hay una importante pérdida de viabilidad (57).

Si se utilizan métodos no culturales se deben seguir las instrucciones emitidas por el fabricante para la toma y conservación de las muestras y no se deben utilizar estas metodologías para muestras no indicadas en las instrucciones del equipo. En los casos en que se utilice EIA, generalmente los equipos traen hisopos específicos para la recolección del material, así como también los medios de transporte. Respetar las condiciones de conservación de las muestras indicadas en el equipo.

Las muestras de orina para detección de antígeno ó métodos moleculares (PCR, LCR) deben tomarse de acuerdo a las indicaciones del fabricante. Se debe recolectar el primer chorro de orina (10-20 ml), en un frasco estéril, con 1-3 horas de retención. Estas muestras se conservan en heladera a 2-8 °C, hasta 4 días ó se congelan a -20 °C.

1. Métodos culturales

- Cultivo en líneas celulares

El método tradicional para efectuar diagnóstico de infección por Ct es el cultivo y sigue siendo el método de referencia, pese a que en la actualidad se sabe que tiene una sensibilidad

de alrededor del 70-80 %. El cultivo se realiza en células de McCoy, Hella 229 ó BGMK (36,37). La muestra de esperma en algunos casos ejerce efecto citotóxico sobre la línea celular (57).

2. Métodos no culturales

a) Métodos de detección de antígeno

Estos métodos son accesibles y comúnmente utilizados, pero tienen limitaciones en cuanto a su sensibilidad y especificidad.

a1) Inmunofluorescencia

La sensibilidad y especificidad de la IF, con el uso de anticuerpos monoclonales específicos para el MOMP de Ct, es de 80-90 y 98-99 %, respectivamente.

Se considera que una muestra es positiva cuando se observan como mínimo 10 cuerpos elementales.

a2) Enzimoimmunoensayo

Utiliza anticuerpos que detectan por una reacción inmunoquímica, el lipolisacárido (LPS) específico del género *Chlamydia*, de ahí que puedan reaccionar con el LPS de algunas bacterias gram negativas y dar falsos resultados positivos. Para mejorar la especificidad algunos fabricantes han desarrollado reactivos bloqueantes (BL), que se utilizan para verificar todo EIA positivo.

La sensibilidad y especificidad del EIA para muestras de orina primer chorro oscila entre el 55-83 y 94-98 %, respectivamente.

Chernesky y col. (60) estudiando muestras uretrales demostraron que el 6,3 % de los resultados obtenidos por EIA no fueron confirmados por BL, con una discrepancia entre un primer ensayo de EIA y un segundo del orden del 22 %. En muestras uretrales, Smayevsky y col. (61), sobre una población con una prevalencia de infección por *C. trachomatis* del 12 %, demostraron que el 73 % de las muestras que dieron un resultado de EIA positivo, fueron confirmadas como tales por el BL.

Las pruebas rápidas, sin métodos confirmatorios, no deben usarse en poblaciones de bajo riesgo ni en individuos asintomáticos, por la probabilidad de dar falsos resultados positivos. Por otro lado son de baja sensibilidad. Sólo estarían indicadas **excepcionalmente**, cuando la necesidad clínica requiera un resultado rápido para cambiar una conducta terapéutica y siempre deberán confirmarse por otros métodos (58).

b) Métodos moleculares

b1) Métodos no amplificados, que utilizan hibridización del ADN (sondas)

b2) Métodos de amplificación del ADN

El desarrollo de estas tecnologías representó el avance más importante que se hizo en el diagnóstico de infecciones por clamidias en los últimos años.

El método más ampliamente difundido es la PCR.

En la actualidad existen equipos comerciales, lo que ha permitido mejorar mucho la reproducibilidad de la técnica, pero se pueden utilizar sólo para muestras uretrales y primer chorro de orina. Los métodos no están validados para muestras de esperma ni de secreción prostática.

Algunos autores (62) recomiendan el control sistemático de las muestras de esperma dado que observaron discrepancias entre el hallazgo de Ct en esperma y primer chorro miccional. Los mismos utilizaron una técnica de PCR que les permitió detectar 1 a 10 cuerpos elementales por microlitro de semen.

VENTAJAS, DESVENTAJAS Y LIMITES DE DETECCION

METODOS	VENTAJAS	DESVENTAJAS	LIMITES DE DETECCION
CULTIVO EN LINEAS CELULARES	<ul style="list-style-type: none"> • 100% de especificidad • preserva al microorganismo para estudios adicionales como genotipificación o estudios de sensibilidad • se puede utilizar para todo tipo de muestras 	<ul style="list-style-type: none"> • 70-80 % de sensibilidad en muestras uretrales • dependencia absoluta de la cadena de frío durante el transporte • alta complejidad • tiempo requerido para emitir un resultado 	<p>La sensibilidad analítica es semejante a la IF, permite detectar 10-100 cuerpos elementales de clamidia presente en la muestra.</p>
INMUNO-FLUORESCENCIA	<ul style="list-style-type: none"> • se independiza del transporte • se puede utilizar para una gran variedad de muestras • tiene alta especificidad • se puede utilizar como método confirmatorio de otros métodos, en casos de discrepancia 	<ul style="list-style-type: none"> • necesita un microscopio de fluorescencia de gran resolución • no permite la observación de un alto número de muestras (ocasiona agotamiento) • requiere personal altamente entrenado • requiere reactivos de calidad certificada 	<p>Tiene una sensibilidad analítica dos logaritmos mayor que el EIA y permite detectar 10-100 cuerpos elementales de clamidia</p>

<p>ENZIMO-INMUNO-ENSAYO</p>	<ul style="list-style-type: none"> • se independiza del transporte • permite estudiar muchas muestras simultáneamente • el resultado es independiente del operador 	<ul style="list-style-type: none"> • no se puede utilizar para todo tipo de muestras • puede tener falsos positivos, debe usarse siempre un método confirmatorio, tiene < sensibilidad que la IF 	<p>La sensibilidad analítica es tres logaritmos menor que la IF. El EIA tiene una sensibilidad analítica que le permite detectar entre 10.000-100.000 cuerpos elementales de clamidia</p>
<p>HIBRIDACION DE ADN</p>	<ul style="list-style-type: none"> • se pueden utilizar sondas simultáneas para <i>N. gonorrhoeae</i> y Ct • se independiza del transporte 	<ul style="list-style-type: none"> • no se puede utilizar para todo tipo de muestras • tiene menor sensibilidad que los métodos amplificados • los resultados positivos en población de baja prevalencia deben ser confirmados 	<p>La sensibilidad analítica es un logaritmo mayor que el EIA, permite detectar 1.000 – 10.000 cuerpos elementales de clamidia.</p>
<p>AMPLIFICACION DE ADN</p>	<ul style="list-style-type: none"> • se independiza del transporte • se puede utilizar en muestras no invasivas • muy alta sensibilidad y especificidad 	<ul style="list-style-type: none"> • posibilidad de contaminaciones (falsos positivos) • puede tener falsos resultados negativos por presencia de inhibidores • alto costo 	<p>La sensibilidad analítica es 2 logaritmos mayor que la IF, permite detectar 1 cuerpo elemental de clamidia</p>

A continuación se describe el algoritmo recomendado por Black (58) para realizar un correcto diagnóstico de infecciones por Ct:

Diagnóstico definitivo (requiere los puntos 1 ó 2)

1. Aislamiento de Ct por cultivo celular e identificación de las inclusiones intracelulares características.

2. Identificación de Ct por uno de los siguientes métodos y confirmación por un segundo método cultural o no cultural:
 - a) Inmunofluorescencia
 - b) Enzimoimmunoensayo
 - c) Hibridización del ADN

Diagnóstico presuntivo (requiere 1 y 2)

1. Presencia o ausencia de síntomas
2. Detección de Ct por métodos no culturales

Diagnóstico sugerido

1. Síntomas
2. Haber descartado otras causas de secreción o exudado
3. Contacto sexual con una persona infectada con Ct o con diagnóstico de uretritis no gonocócica.

- **Interpretación de resultados:** dado que no se pueden realizar estudios cuantitativos, como los descriptos para el diagnóstico de los MO anteriormente mencionados, el hallazgo de Ct en cualquiera de las muestras descriptas, requiere del tratamiento específico, independientemente de su localización.

3. Diagnóstico serológico

No es de utilidad para infecciones del tracto genital.

En resumen:

1. En estado de salud, el tracto genital masculino es estéril, exceptuando a la uretra anterior o distal que se encuentra normalmente colonizada.
2. Los MO a través de sus diferentes adhesinas, se unen molecularmente a los receptores celulares específicos de los epitelios. Si logran vencer los mecanismos de defensa del huésped (locales y/o sistémicos) se internalizan, invaden y expresan sus factores de virulencia.
3. Es fundamental aplicar una metodología de estudio estandarizada por consenso, para el diagnóstico etiológico de las infecciones crónicas de las vías seminales. Esto no sólo logra un lenguaje común, sino que permite arribar al tratamiento adecuado en la mayoría de los casos.
4. El estudio microbiológico debe ser indicado en todo varón infértil, con alguna alteración en el espermograma, con o sin leucitospermia.
5. El gran desafío, desde el punto de vista microbiológico, es llegar a determinar el agente causal, el cual como hemos visto, puede corresponder a:

- MO que constituyen parte de la flora entérica normal del paciente, que colonizan la uretra anterior y causan ITUs;
- MO agentes etiológicos de ETS;
- MO que representan la flora endémica hospitalaria y que por instrumentación alcanzan las vías seminales;
- MO que constituyen la flora normal de la mucosa de la uretra anterior, que también pueden alcanzar las vías espermáticas.

Lo importante es estudiar cuali y cuantitativamente el contenido microbiano de cada una de las fracciones propuestas, para detectar a los MO que se excretan **en exceso** en las secreciones prostáticas y/ o en el eyaculado. Es la única manera de poder diferenciar flora normal, contaminantes y colonizantes, de los verdaderos agentes etiológicos.

El estudio mínimo corresponde al método de “screening”, es decir: orina primer chorro miccional + semen (cuali y cuantitativo).

6. Los materiales nobles, es decir, aquellos naturalmente estériles, son siempre los óptimos. Cuando pueden ser obtenidas biopsias de próstata o del área comprometida, deben ser procesadas. Aunque, por razones obvias, no pueden ser incluidas en el protocolo de estudio de rutina.
7. Los métodos moleculares, específicamente la amplificación del genoma bacteriano, (PCR, LCR, etc.), podrán ser aplicados en los centros de referencia y sólo en los materiales obtenidos por punción, o quirúrgicamente, bajo rigurosa técnica aséptica. Jamás en los obtenidos en forma espontánea, dado que invariablemente estarán contaminados con la flora de la uretra anterior. Serán, seguramente, de gran utilidad para el estudio de los síndromes prostáticos categorías III y IV.
8. La detección y localización de la infección por *Chlamydia trachomatis* en las vías seminales continúa siendo una asignatura pendiente. Todo resultado positivo obtenido por los métodos presuntivos, debe ser confirmado. En estos casos es imprescindible el tratamiento antimicrobiano específico, independientemente de su localización.

BIBLIOGRAFIA

1. Gnarpe H, Friberg J. T-micoplasmas on spermatozoa and fertility. Nature 1973; 245: 97-8.
2. Schoysman R. Epididimal causes of male infertility. En Bollack y Clavert (eds): Progress in Reproductive Biology. Karger, Basilea, 102-9, 1981.
3. Purvis K , Christiansen E. The impact of infection on sperm quality. J Brit Fertil Soc 1995; 1: 31-41.
4. Nilsson S, Obrant KO, Persson PS. Changes in the testis parenchyma caused by acute nonspecific epididymitis. Fertil Steril 1968; 19: 748-57.
5. Osegbe DN. Testicular function after unilateral bacterial epididymo-orchitis. Eur Urol 1991; 19: 204-8.

6. Mukasa A, Hiromatsu K, Matzukaki G et al. Bacterial infection of the testis leading to autoaggressive immunology triggers . J Immunol 1995; 155: 2047-56.
7. Cooper TG, Weidner W , Neichslag E. The influence of inflammation of the human male tract on secretions of seminal markers alpha- glucosidase, carnitine, fructose, and citric acid. Int J Androl 1990; 13: 329-36.
8. Gonzáles GF, Kortebani G, Mazzolli AB. Leukocytospermia and function of the seminal vesicles on seminal quality. Fertil Steril 1992; 57: 1058-65.
9. Wolff H, Bezold G, Zebhauser M. Impact of clinical silent inflammation on male genital tract organs as reflected by biochemical markers in semen. J Androl 1991; 12: 331-4.
10. Berger RE, Karp LE, Williamson LA. The relationship of hipospermia and seminal fluid bacteriology to sperm function as reflected in the sperm penetration assyay. Fertil Steril 1982; 37: 557-664.
11. Bar-Chama N, Fisch H. Infection and pyospermia in male infertility. World J Urol 11: 76-81.
12. Wang A, Fanning L, Anderson DJ. Generation of reactive oxygen species by leukocytes and sperm following exposure to urogenital tract infection. Arch Androl 1997; 39: 11-7.
13. Soffer Y, Ron- El, Golan A I. Male genital mycoplasmas and *Chlamydia trachomatis*: its relationship with accessory gland function , sperm quality and autoimmunity. Fertil Steril 1990; 53: 331-6.
14. Barrat CLR, Havelock LM, Harrison PE, Cooke ID. Antisperm antibodies are more prevalent in men with low sperm motility. Int J Androl 1989; 12:110-6.
15. Bronson RA, Cooper W, Rosenfield D. Sperm-specific antibodies inhibit the binding of human sperm to the human zona pellucida. Fertil Steril 1982; 38: 724-9.
16. Haas GG, Sokoloski JE , Wolff DP.The interfering effects of human IGG antisperm antibodies on human sperm penetration of zona-free hamster eggs. Am J Reprod Immunol 1980; 1: 40-6.
17. Lansford B, Haas GG, Wolf DP.Effect of sperm associated antibodies on the acrosomal status of human sperm. J Androl 1990; 11: 532-8.
18. Morton RS. White cells count in human semen. Br J Ven Dis 1968; 44: 72-83.
19. Yanushpolsky EH, Politich JA, Hill JA, Anderson DJ. Is leukocytospermia clinically relevant? Fertil Steril 1996; 5: 822-5.
20. Treharne JD. Chlamydial serology. Br Med Bull 1983; 39: 194-200.
21. Doble A, Carter SS. Ultrasonographic findings in prostatitis. Urol Clin North Am 1989; 16: 762-3.
22. Doble A, Harris JR, Taylor-Robinson D. Acute epididymitis: a microbiological and ultrasonographic study. Proc Eur Soc Chlam Res 1989; 1:161-7.
23. Terradas C; Mormandi E, Rodríguez MC, Aszpis S, Levalle O. Impacto de la infección detectada en semen sobre las variables espermáticas. Bol Soc Arg Androl 1995; 3: 38.
24. Bibel, D Bayles, C, Struss W G y col. Competitive adherence as a mechanism of bacterial interference. Can J Microbiol 1983; 29: 700-3.
25. Tannock G. The normal microflora: an introduction. En: Medical importance of the normal microflora , Ed. Gerald Tannock Kluwer Academic Publishers, 1999.
26. Reid G and Habash. Urogenital microflora and urinary tract infections. En : Medical importance of the normal microflora , Ed. Gerald Tannock Kluwer Academic

- Publishers, 1999
27. Roddy R, Zekeng L, Ryan K, Ubald B A. A controlled trial of nonoxinol 9 film to reduce male to female transmission of sexually transmitted diseases. *N Eng J Med* 1998; 339: 504-10.
 28. Boyle M, Faulman E, Otten R, Heath D. Streptococcal immunoglobulin-binding proteins. En: *Microbial determinants of virulence and host response*, Ed. E. Ayoub, G Cassell, W Branche, T Henry, AMS, Washington DC, 1990.
 29. Farinati A, Casellas JM. Infertilidad e infección. En: *El seminograma. Enfoque del factor masculino en el estudio de la pareja estéril*, Ed. Argeri N , Farinati A, Carrere C. Ediciones Sur, la Plata, 1987.
 30. Nickel JC, Weidner W, Justus-Liebig. Chronic prostatitis: current concepts and antimicrobial therapy. *Infect Urol* 2000; 13 5A: s22-8.
 31. Connell H, Sabharwal H, Persson L, Zasloff M. Identification of a novel antibacterial factor from human urine. En: *Urinary tract infections*, Ed. T Bergan , *Infectiology Vol 1*, Karger , Oslo, 1997.
 32. Weidner W, Ludwig M, Schiefer Hans-Georg. Chronic bacterial prostatitis- A clinical reevaluation of old woes. En: *Urinary tract infections*, Ed. T Bergan , *Infectiology Vol 1*, Karger , Oslo, 1997.
 33. Krieger JN , McGonagle LA. Diagnostic considerations and interpretation of microbiological findings for evaluation of chronic prostatitis. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 2240-4.
 34. Warren JW. Clinical presentations and epidemiology of urinary tract infections. In: Mobley HLT and Warren JW (eds). *Urinary tract infections: molecular pathogenesis and clinical management*. ASM Press, Washington, DC, 1996; 3-27.
 35. Krieger JN, Nyberg L, Nickel JC. NIH consensus definition and classification of prostatitis. *JAMA* 1999; 282: 236-7.
 36. Eisenstadt DO, Washington JA. Diagnostic microbiology for bacteria and yeasts causing urinary tract infections. In: Mobley HLT and Warren JW (eds). *Urinary tract infections: molecular pathogenesis and clinical management*. ASM Press, Washington, DC, 1996, 29-66.
 37. Nickel JC. Prostatitis: evolving management strategies. *Infections in urology. Urologic Clinics of North America*. 1999; 26,4: 737-51.
 38. Nickel CJ, Costerton WJ. Coagulase-negative *Staphylococcus* in chronic prostatitis. *J Urol* 1992; 147: 398-401.
 39. Krieger JN, Riley DE, Roberts MC. Prokaryotic DNA sequences in patients with chronic idiopathic prostatitis. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 3120-8.
 40. Jarvy K, Lacroix J M, Jain A, Dumitru I, Heritz D, Mittelman MW. Polymerase chain reaction-based detection of bacteria in semen. *Fertil Steril* 1996; 66: 463-7.
 41. Cardoso EM, Santoianni JE, De Paulis AN, Andrada JA, Predari SC, Arregger AL. Improvement of semen quality in infected asymptomatic infertile male after bacteriological cure. *Medicina (Buenos Aires)* 1998; 58: 160-4.
 42. Gorelick JI, Senterfit LB, Darracott Vaughan E Jr. Quantitative bacterial tissue cultures from 209 prostatectomy specimens: findings and implications. *J Urol* 1988; 139: 57-60.
 43. Stamey TA, Meares EM. Bacteriological localization patterns in bacterial prostatitis and urethritis. *Invest Urol* 1968; 5: 492-518.

44. Arregger A, Santoianni J, De Paulis A, Predari S, Comini E, Cardoso E. Different levels of proinflammatory seminal cytokines in asymptomatic infected infertile males. Endo '99. The 81st Annual Meeting of the Endocrine Societies. Libro de Resúmenes: P3 – 375. San Diego (California), Estados Unidos de Norte América, 1999.
45. Cardoso E, Santoianni J, De Paulis A, Predari S, Comini E, Arregger A. Relationship between proinflammatory cytokines, leukocytospermia and infections in infertile men. European Meeting of Immunology and Reproduction. Libro de Resúmenes: p. 54. Roma, Italia, 1999.
46. Domingue GJ Sr, Hellstrom W J G. Prostatitis. Clin Microbiol Rev 1998; 11: 604 –13.
47. Mobley DF. Semen cultures in the diagnosis of bacterial prostatitis. J Urol 1975; 114: 83-5.
48. McGowan MP, Burger HG, Baker HWG, 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: 657-62.
49. Witkin SS, Toth A. Relationship between genital tract infections, sperm antibodies in seminal fluid and infertility. Fertil Steril 1983; 40: 805-8.
50. Naessens A, Foulon W, Debrucker P, Devroey P, Lauwers S. Recovery of Microorganisms in semen and relationship to semen evaluation. Fertil Steril 1986; 45: 101-5.
51. Santoianni J E, De Paulis A N, Cardoso EM, Gonzalez B N, Predari S C. Assessment in the diagnosis of male chronic genital tract infection. Medicina (Buenos Aires) 2000; 60: 331-4.
52. World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction. 3rd ed. Cambridge University Press, 1992.
53. Smayevsky J, AlonioL, Fiorito S, Teysiee A. Infecciones genitales por micoplasmas, en: Microbiología Clínica, Infecciones genitales, módulo 11. Asociación Argentina de Microbiología, Colegio de Bioquímicos de la Provincia de Entre Rios, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral (ed), 1998; 77-82.
54. Shepard, M.C. Culture media for ureaplasmas. In Razin S., Tully J.G. (eds): Methods in mycoplasmaology, Vol.I. New York, Academic Press, 1983; 397-401.
55. Taylor-Robinson D. Infections due to species of *Mycoplasma* and *Ureaplasma*: un update. Clin Infect Dis 1996; 23: 671-82.
56. Smayevsky J, Relloso S, Pundik M, Lanza A., Weltman G, Bantar C, Bianchini H. In vitro susceptibility of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* isolates in Argentina. Inf. Dis. Obst. Gynecol. 1995; 3: 236-40..
57. Wallace C, Kenny G, Schachter J. Cumitech 19: Laboratory diagnosis of chlamydial and mycoplasmal infections. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1984.
58. Black CM. Current methods of laboratory diagnosis of *C. trachomatis* infections. Clin Microbiol Rev 1997; 10: 160-84.
59. Smayevsky J, AlonioL, Fiorito S, Teysiee A. Infecciones por *C. trachomatis*, en: Microbiología Clínica, Infecciones genitales, módulo 11. Asociación Argentina de Microbiología, Colegio de Bioquímicos de la Provincia

- De Entre Rios, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Del Litoral (ed), 1998; 57-64.
60. Chernesky M, Jang D, Sellors J, Castriciano S et al. Confirmatory testing demonstrates false-positive rates in the Chlamydiazyme assay are influenced by gender and genital specimen types. *Sex Trans Dis*, 1993; 20: 301-6.
 61. Smayevsky J, Lanza A, Bantar C, Weltman G, Bau A. Detección de *Chlamydia trachomatis* en muestras genitales en un centro médico no especializado en ETS. Taller internacional sobre infecciones por *Chlamydia* en humanos y animales. Publicación Oficial de la Asociación Argentina de Zoonosis, 6. Buenos Aires, 1995.
 62. Pannekoef Y, Westenberg S, Vries J, Repping S, Spanjaard L, Eij P, Ende A, Dankert J. PCR assesment of *C. trachomatis* infection semen specimens processed For artificial insemination. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 3763-7.