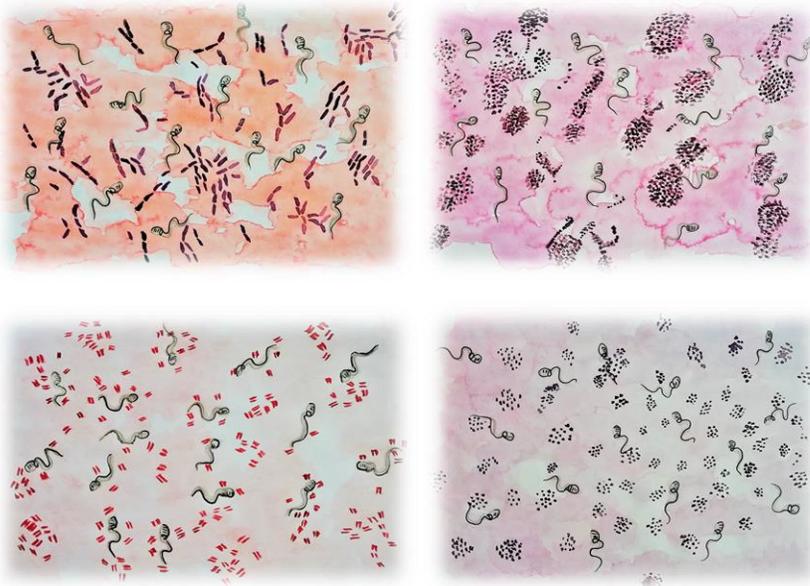




Universidad de Oviedo  
*Universidá d'Uviéu*  
University of Oviedo

**MÁSTER UNIVERSITARIO DE BIOLOGÍA Y TECNOLOGÍA DE LA  
REPRODUCCIÓN.**

**“Principales géneros bacterianos encontrados en la  
microbiota seminal de pacientes fértiles e infértiles”.**



**AUTOR DEL TRABAJO FIN DE MÁSTER:  
JARED SOTELO TASCON**

**TUTOR: ABEL GAYO LANA**

**Julio 2020**

ABEL GAYO LANA, Director del Laboratorio de Embriología CLÍNICA ERGO BIOTECH, y Profesor del Máster Oficial en Biología y Tecnología de la Reproducción de la Universidad de Oviedo.

### CERTIFICA:

Que el trabajo presentado por Sr. JARED SOTELO TASCÓN, titulado: “PRINCIPALES GÉNEROS BACTERIANOS ENCONTRADOS EN LA MICROBIOTA SEMINAL DE PACIENTES FÉRTILES E INFÉRTILES”, realizado bajo su dirección, dentro del programa de Máster en “Biología y Tecnología de la Reproducción”, reúne a su juicio las condiciones necesarias para ser admitido como Trabajo Fin de Máster, y por ello autoriza la presentación de este.

Para que así conste donde convenga, firma la presente certificación en Oviedo a 15 de junio de 2020.

*“He observado suficiente fluido proveniente de una persona enferma, pero también de una persona sana, inmediatamente después de la eyaculación.*

*He visto tal multitud de animálculos vivos, más de un millón, con el tamaño de un grano de arena y moviéndose en un espacio. Esos animales eran más pequeños que los glóbulos rojos.*

*Para mi sorpresa, contiene una gran cantidad de animales que se mueven de forma extravagante. Son tantos, que el número supera a los habitantes de un reino.*

*Tenían un cuerpo redondo y espuma en la parte delantera y la parte posterior terminada en un punto. Estaban equipados con una cola de cinco a seis veces la longitud del cuerpo. Avanzaban con un movimiento de serpiente ayudados por sus colas”.*

*Anton van Leeuwenhoek.*

## INDICE.

LISTA DE FIGURAS.....	5
LISTA DE TABLAS.....	5
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>6</b>
<b>1.1 Tránsito de los espermatozoides hasta su eyaculado. ....</b>	<b>9</b>
<b>1.2 Microbiota del tracto reproductor masculino en la salud. ....</b>	<b>11</b>
<b>1.3 Microbiota seminal en la reproducción humana.....</b>	<b>12</b>
<b>1.4 Papel de la microbiota del tracto reproductor masculino en la calidad seminal.....</b>	<b>14</b>
<b>1.5 Alteración del estrés oxidativo por parte de la microbiota seminal. ....</b>	<b>15</b>
<b>1.6 Disfunción de la capacitación espermática por parte de la microbiota seminal.....</b>	<b>16</b>
<b>2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....</b>	<b>18</b>
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>19</b>
<b>3.1 Estrategia de búsqueda.....</b>	<b>19</b>
<b>3.2 Criterios de inclusión y exclusión. ....</b>	<b>19</b>
<b>3.3 Extracción de datos.....</b>	<b>20</b>
<b>3.4 Análisis de los datos.....</b>	<b>20</b>
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>22</b>
<b>5. DISCUSIONES.....</b>	<b>32</b>
<b>5.1 <i>Lactobacillus</i>.....</b>	<b>32</b>
<b>5.2 <i>Gardnerella</i>. ....</b>	<b>34</b>
<b>5.3 <i>Prevotella</i>. ....</b>	<b>35</b>
<b>5.4 <i>Staphylococcus</i>. ....</b>	<b>36</b>
<b>5.5 Microbiota seminal y su relación con la fertilidad e infertilidad masculina.....</b>	<b>39</b>
<b>5.5.1 Metabolismo bacteriano. ....</b>	<b>39</b>
<b>5.5.2 Estrés oxidativo. ....</b>	<b>41</b>
<b>5.5.3 Alteración en la capacitación y funcionamiento del espermatozoide. ....</b>	<b>43</b>
<b>5.6 Perspectivas a futuro.....</b>	<b>44</b>
<b>6. CONCLUSIONES.....</b>	<b>46</b>
<b>7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>47</b>

## **LISTA DE FIGURAS.**

FIGURA 1. Factores importantes que pueden modificar la composición de la microbiota en un individuo.

FIGURA 2. Representación del trayecto de los espermatozoides desde los testículos hasta el orificio uretral en el sistema reproductor masculino.

FIGURA 3. Diagrama de flujo de la estrategia de búsqueda.

FIGURA 4. Representación gráfica de los principales géneros bacterianos que componen la microbiota del sistema reproductor masculino.

## **LISTA DE TABLAS.**

TABLA 1. Efectos de los hábitos de vida en los 4 principales parámetros de la calidad seminal.

TABLA 2. Principales componentes y estructuras anatómicas donde se aislaron microorganismos.

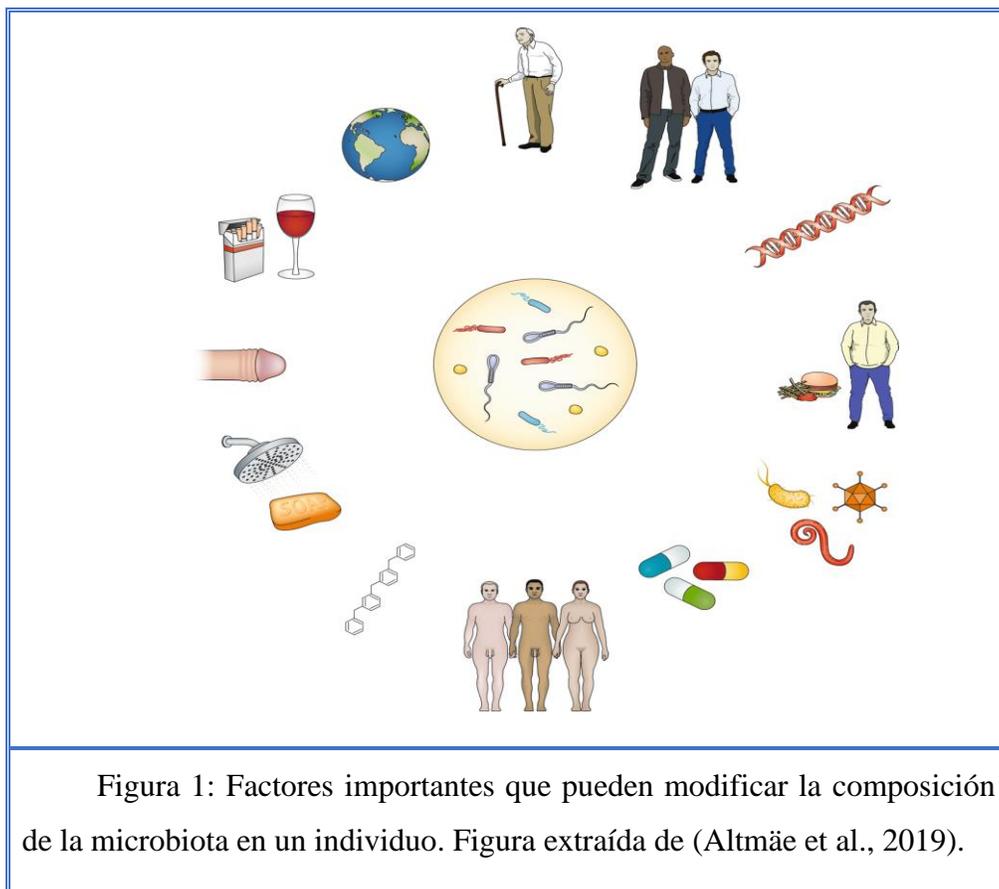
TABLA 3. Principales componentes bioquímicos del semen y tiempo de exposición de los espermatozoides a estos fluidos.

TABLA 4. Distribución de diagnósticos en pacientes infértiles del Hospital Universitario de Friburgo.

TABLA 5. Estudios con los principales géneros bacterianos encontrados.

## 1. INTRODUCCIÓN.

En el cuerpo humano existe una gran variedad de microorganismos (microbiota), los cuales nos ayudan en procesos del metabolismo de nutrientes, fácil remodelación de células epiteliales muertas, así como también, nos defiende de aquellas infecciones por agentes patógenos. Esta barrera, compuesta por una gran cantidad de microorganismos llamada “microbiota corporal”, difiere entre hombres y mujeres, ya que, por las diferencias anatómicas y fisiológicas, la microbiota varía en cuanto a mayor o menor expresión según la parte corporal de hombres como en mujeres. (Altmäe et al., 2019; Berdugo et al., 2009; Hou et al., 2013; Keck et al., 1998; La Vignera et al., 2013). Sumado a esto, hay otros factores importantes que pueden modificar la composición de la microbiota en un individuo (factores genéticos, epigenéticos, diferencia de razas, ubicación geográfica, nutrición, alimentación, estilos de vida, tratamientos médicos y edad) (Agarwal et al., 2018; Berdugo et al., 2009; R. Mändar et al., 2018) generando una diversidad del microbioma humano.



	Concentración	Movilidad	Morfología	Nivel de testosterona
Ejercicio físico moderado	↑	↑	↑	
Ejercicio físico intenso	↓	↓	↓	
Estrés	↓	↓	↓	
Tabaco	↓/=	↓/=	↓/=	↓
Alcohol	↓	↓	↓	↓
Cafeína	↓/=	↓/=	↓/=	↑
Marihuana	↓	↓	↓	↓
Cocaína				↓

TABLA 1: Efectos de los hábitos de vida en los 4 principales parámetros de la calidad seminal. Tabla extraída de (ASEBIR. 1 Edición., 2017).

A nivel reproductivo, diferentes estudios respaldan el hecho de que la microbiota tanto del tracto genital masculino como femenino, está determinada por factores fisiológicos; como la madurez en la etapa de la pubertad, factores externos como la actividad sexual, el número de compañeros(as) (R. Mändar et al., 2018) y el tipo de relación sexual que se pueda practicar (vaginal, anal y oral), llevando de esta manera a un intercambio y/o modificación de la microbiota genital, el cual se cree que puede ser de forma unidireccional es decir, de hombre a mujer, de mujer a hombre, de hombre a hombre) o bidireccional, modificando de esta manera la composición de la microbiota en los tractos reproductivos tanto de hombres como mujeres, ya sea en forma transitoria o prolongada (Barbonetti et al., 2011; Baud et al., 2019; Hou et al., 2013; R. Mändar et al., 2018; Reet Mändar et al., 2015, 2017).

A lo largo de la historia de la investigación sobre microbiología, gran parte de los estudios en humanos están enfocados en aquellos microorganismos que pueden causar enfermedades, dejando a un lado aquellos que traen beneficios en la salud, creando de esta manera un vacío de información sobre el papel fundamental del microbioma humano para su beneficio, ya que al igual que en todos los componentes de la tierra, los

microorganismos están integrados en el ecosistema; lo cual ocurre de igual manera en el ser humano, creando así, una relación estrecha entre el microorganismo y el huésped (Altmäe et al., 2019; R. Mändar et al., 2018).

Con las investigaciones realizadas en el “*Proyecto Microbioma Humano en el 1990 (MNH)*”, inició un avance exponencial sobre las funciones, beneficios y consecuencias de la alteración del microbioma corporal (Peterson et al., 2009). Aunque la mayoría de los estudios y documentos publicados hasta la fecha tratan sobre el microbioma humano, estos solo hacen énfasis en aquellas poblaciones microbianas obtenidas a nivel intestinal, piel, boca y el sistema reproductor femenino (Peterson et al., 2009), dejando a un lado la importancia de la microbiota del sistema reproductor masculino (R. Mändar et al., 2018), así como también sus beneficios, efectos y consecuencias en el líquido seminal y, por ende, en la fertilidad y reproducción masculina.

Los primeros estudios de investigación sobre la microbiota seminal utilizaron técnicas de detección de microorganismos como cultivo bacteriano (Cooper et al., 2009; La Vignera et al., 2013; Reet Mändar et al., 2017; Motrich et al., 2018; Neri-vidaurri et al., 2018; Olivera Ángel et al., 2006) y la Reacción en Cadena Polimerasa (PCR) (Weidner et al., 2013), concluyendo de esta manera que la mayor cantidad de microorganismos en el semen no eran microorganismos comensales; sino, eran los causantes de la mayoría o alguna infección (Merino et al., 1995).

Actualmente con el uso de técnicas de New Generation Sequencing (NSG) ARN16s, ha cambiado completamente el concepto que se ha estado empleando hasta la fecha, donde se estipulaba que el tracto genital masculino interno era estéril, abriendo nuevas puertas a la investigación sobre aquellas comunidades microbianas que habitan en el semen (Baud et al., 2019; Hou et al., 2013; Reet Mändar et al., 2015, 2017; Monteiro et al., 2018; Weng et al., 2014).

A pesar de una mayor comprensión de la presencia de estos microorganismos a nivel del tracto reproductor masculino, no se tiene claridad sobre sus orígenes, así como también, no hay claridad sobre si la variabilidad bacteriana presente son microorganismos a nivel transitorios o persisten por períodos prolongados en el huésped.

### 1.1 Tránsito de los espermatozoides hasta su eyaculado.

Durante el proceso de eyaculación en hombres sin ningún tipo de obstrucción anatómica, los espermatozoides maduros provenientes de la cola del epidídimo pasan a través del conducto deferente, se mezclan con el líquido de las vesículas seminales, líquido prostático y líquido de las glándulas bulbouretrales, posteriormente llegar a formar un líquido viscoso llamado semen, el cual es transportado a través de la uretra y expulsado por el orificio uretral.

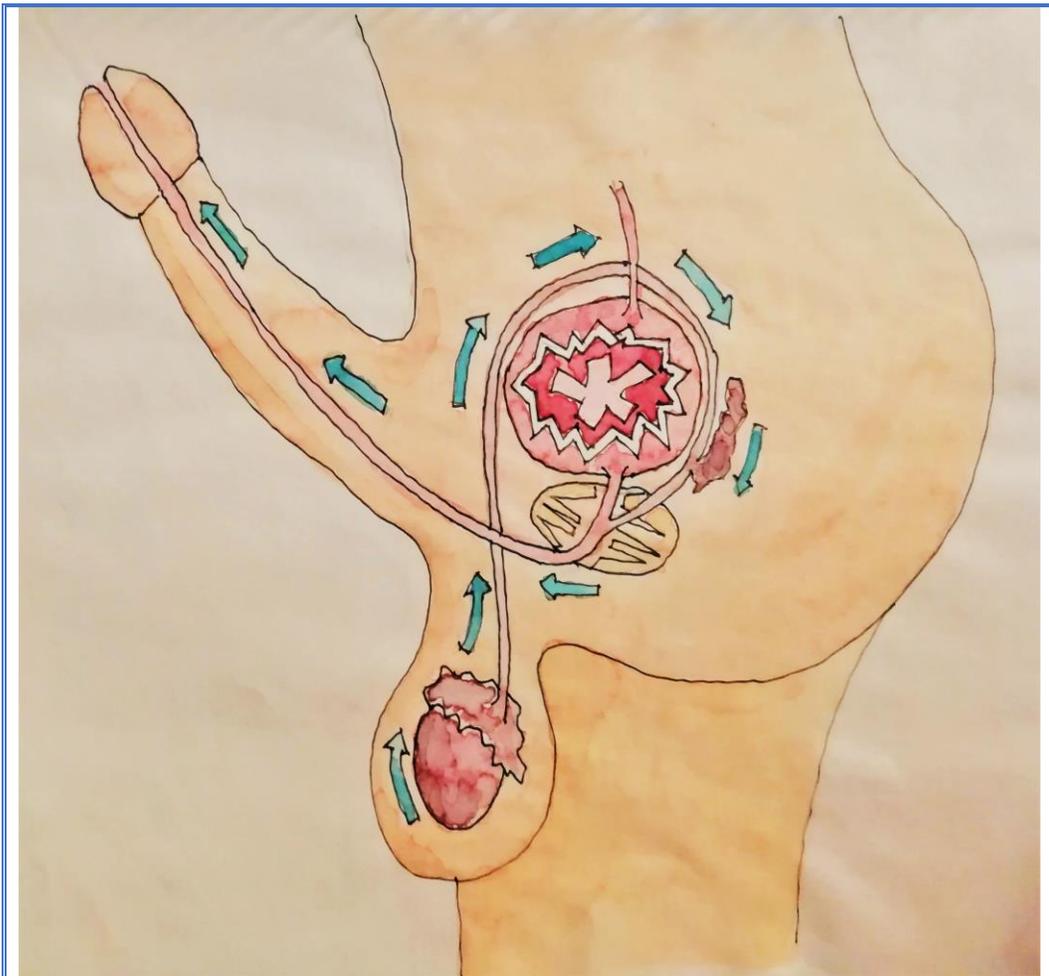


Figura 2: Representación del trayecto de los espermatozoides desde los testículos hasta el orificio uretral en el sistema reproductor masculino. (Ilustración realizada por el autor).

Al igual que con otras partes del cuerpo humano donde una gran cantidad de microorganismos pueden producir neurotransmisores como serotonina, dopamina y GABA (Altmäe et al., 2019), los cuales interactúan con el sistema nervioso, estableciendo de esta manera una comunicación bidireccional entre la microbiota, el intestino y el cerebro; de igual manera, en el semen durante el proceso de eyaculación a través de la uretra explicado anteriormente (ver figura 2), el líquido seminal contiene o adquiere una microbiota específica durante los pocos segundos que entra en contacto con alguno de los fluidos de las glándulas accesorias del sistema reproductor masculino (ver tabla 1), o con las estructuras anatómicas que ayudan a conducir el semen al orificio de la uretra externa (ver tabla 2), adquiriendo de esta manera uno o varios agentes microbianos específicos, ya bien sea de carácter perjudicial (Keck et al., 1998; Willén et al., 1996), o todo lo contrario; necesario para la función normal de los espermatozoides y su viabilidad durante el tiempo que estará en contacto con la microbiota y demás secreciones vaginales el proceso de fecundación.

No of species isolated	Semen <sup>1</sup>	Prostate secretion <sup>1</sup>	Urethra <sup>1</sup>	Sulcus coronarius <sup>1</sup>	First void urine <sup>1</sup>	Postmassage urine <sup>1</sup>
0	12	54	10	8	62	66
1	3	12	14	16	10	5
2	12	7	22	19	9	8
3	14	10	13	11	7	2
4	12	6	10	11	2	1
5	6	1	13	12	1	
6	6	4	3	8		
7	4	3	5	8		
8	3		3			
9	2		2	3		
10			1			
11						
12			1	1		
NS <sup>2</sup>	22				17	17

<sup>1</sup>Figure denotes number of individuals  
<sup>2</sup>NS, not studied

Tabla 2. Principales componentes y estructuras anatómicas donde se aislaron microorganismos. Tabla extraída de (Willén et al., 1996).

## 1.2 Microbiota del tracto reproductor masculino en la salud.

Actualmente se sabe poco sobre aquellos microorganismos que hacen parte de la microbiota seminal en el tracto reproductor masculino, así como también sobre la importancia de la microbiota en hombres con alteración de la fertilidad y en aquellos sin ningún tipo de cambio en los parámetros seminales estipulados por la OMS 2010.

El semen es un fluido corporal cuyo PH es de composición básico (PH 7,2–8) (ASEBIR. 1 Edición., 2017; Cooper et al., 2009; Vásquez et al., 2007), el cual está enriquecido con componentes esenciales para la viabilidad de los espermatozoides (lípidos, sacáridos, glucosa, iones inorgánicos, componentes inmunes, enzimas, ácidos nucleicos, proteínas y péptidos) (tabla 3) (ASEBIR. 1 Edición., 2017; Jungwirth et al., 2012), creando de igual manera un microambiente ideal para que algunos microorganismos prosperen. De hecho, la fructosa producida por las vesículas seminales proporciona una de las principales fuentes de energía metabólica para los espermatozoides, así como también sirve como nutriente para la proliferación de microorganismos de carácter tanto patógeno como comensal.

	Function	Percentage of total ejaculate volume (%)	Biochemical markers in seminal plasma	pH of ejaculate fractions	Duration of germ cell/sperm exposure
Testis	Spermatogenesis	-	-	-	74 days
Epididymis	Sperm maturation	5	$\alpha$ -glucosidase (L-carnitine)	-	7-14 days
Seminal vesicles	Accessory secretion	50-80	Fructose	7.2-7.5	Seconds
Prostate	Accessory secretion	15-30	Zinc (PSA; citrate; acid phosphatase)	6.4	Seconds

PSA, prostate-specific antigen

Tabla 3: Principales componentes bioquímicos del semen y tiempo de exposición de los espermatozoides a estos fluidos. Tabla extraída de (Schuppe et al., 2017).

Hasta la fecha se ha evidenciado que en el tracto genitourinario masculino, la microbiota tiene diferentes mecanismos de defensa frente a microorganismos (segregación de péptidos antimicrobianos como urea, IgA y factores antiadhesinas como la proteína de Tamm-Horsfall) (Keck et al., 1998; Motrich et al., 2018), los cuales evitan la colonización de microorganismos patógenos u oportunistas que pueden ser perjudiciales. También se ha evidenciado que la microbiota del tracto genital masculino interno ayuda a crear un aumento en la concentración de zinc, fosfolipasa A, espermina y espermidina (las cuales están presentes en secreciones prostáticas), evitando el crecimiento e invasión de microorganismos patógenos (Motrich et al., 2018; Vásquez et al., 2007; Zeyad et al., 2018).

Se ha establecido que, en el sistema reproductor masculino, la orina actúa como uno de los principales medios de eliminación de potenciales microorganismos patógenos invasores en el tracto genitourinario, así como también, ayuda en la descamación por remodelación epitelial de la uretra, evitando de esta manera la adhesión de potenciales agentes invasores.

En la actualidad, se comprende que muchos microorganismos tanto aeróbicos, anaeróbicos y microaerofílicos forman parte de la microbiota a nivel de uretra y el surco coronal (Reet Mändar et al., 2015, 2017; Willén et al., 1996), lo cual sugiere que a nivel anatómico, el microbioma seminal podría originarse específicamente en la uretra. Sin embargo, un estudio realizado en Estonia, comparó las comunidades bacterianas en semen de 116 pacientes y en muestras de la primera orina de la mañana en pacientes sin ningún tipo de infección diagnosticada, cuyos resultados han demostrado que la carga bacteriana fue significativamente más alta en el semen que en la primera orina de la mañana, y el recuento total de bacterias fue menor (mediana  $10^2$  unidad formadora de colonias(UFC)/ml versus  $10^4$ UFC/ml) en la primera orina de la mañana que en el líquido seminal, lo cual justifica el hecho de que hay comunidades bacterianas que habitan en el tracto reproductor masculino interno y no solo a nivel de la uretra (Kermes et al., 2003).

### **1.3 Microbiota seminal en la reproducción humana.**

La infertilidad humana puede considerarse como una condición fisiopatológica, la cual es cada vez más común en la población. Varios factores intervienen de manera

importante en aproximadamente el 40% -50% de las parejas infértiles (Altmäe et al., 2019; Keck et al., 1998; Ricci et al., 2018; Weng et al., 2014., Schuppe et al., 2017).

A pesar de los nuevos avances en las técnicas y tecnologías de la reproducción asistida, las cuales han contribuido a aumentar indudablemente la probabilidad de concepción en aquellas personas que padecen alguna alteración asociadas a la reproducción, a menudo pasan por alto la ausencia de un diagnóstico etiológico o fisiopatológico definitivo, llevando a pensar que en casos donde la infertilidad proviene a partir del hombre, se pueda considerar como infertilidad masculina por causas idiopáticas en aproximadamente el 28% de los hombres infértiles (tabla 4) (Keck et al., 1998).

Diagnosis	%
Idiopathic infertility	28.4
Varicocele	18.1
Hypothalamic/pituitary disorders	5.9
Seminal tract infections	11.6
Maldescended testes	7.6
Erectile dysfunction	2.8
Metabolic disorders	8.2
Testicular cancer	1.4
Others	16.0

Tabla 4: Distribución de diagnósticos en pacientes infértiles del Hospital Universitario de Friburgo. Tabla extraída de (Keck et al., 1998).

En estudios realizados en pacientes masculinos con parámetros seminales normales según la OMS (Cooper et al., 2009; Willén et al., 1996), la microbiota seminal detectada en estos pacientes provenía en gran medida de la uretra (Hou et al., 2013; Keck et al., 1998), mientras que en aquellos pacientes masculinos con incapacidad de poder fecundar, así como aquellos hombres con alguna enfermedad bacteriana a nivel del sistema reproductor masculino, se aislaron microorganismos no solo de la uretra; sino también del estructuras anatómicas internas como próstata, glándulas seminíferas y glándulas bulbouretrales.

En algunos casos a nivel del factor masculino, las infecciones causadas por agentes bacterianos pueden llegar a causar aproximadamente el 15% de los casos de infertilidad (Keck et al., 1998; Monteiro et al., 2018; Ricci et al., 2018; Weidner et al., 2013). En varias circunstancias, la infertilidad masculina se ha relacionado con infecciones bacterianas del tracto genital (Monteiro et al., 2018; Motrich et al., 2018), las cuales pueden causar inflamación de los tejidos, obstrucción de los conductos genitales, epididimitis y orquitis (Keck et al., 1998; Kermes et al., 2003; Ricci et al., 2018; Weidner et al., 2013), así como también, llegar a tener efectos negativos directamente sobre la condensación de cromatina espermática y alterar la relación P1 / P2 de protamina entre otras (Zeyad et al., 2018). Estas inflamaciones suelen estar relacionadas con la invasión de microorganismos oportunistas o patógenos dependiendo del estado inmune del hombre, lo cual conlleva a una calidad reducida del semen a través de varias vías, incluida la disminución de la capacidad secretora, evidenciando el deterioro de las glándulas accesorias, el estrés oxidativo y la obstrucción anatómica del tracto seminal (Keck et al., 1998; Ricci et al., 2018; Weidner et al., 2013), generando un impacto negativo directo en la anatomía y fisiología de los espermatozoides, reduciendo de esta manera la viabilidad y motilidad.

#### **1.4 Papel de la microbiota del tracto reproductor masculino en la calidad seminal.**

En cuanto a la calidad seminal, algunos microorganismos encontrados han sido asociados con anomalías en los espermatozoides; especialmente con parámetros como la motilidad, deficiencia en la función mitocondrial (Reet Mändar et al., 2017; Neri-vidaurri et al., 2018; Pergialiotis et al., 2018; Weng et al., 2014) y pérdida de integridad del ADN (Hou et al., 2013; Reet Mändar et al., 2015, 2017; Motrich et al., 2018; Zeyad et al., 2018), mientras que otros microorganismos se consideran infecciones de transmisión sexual (Motrich et al., 2018). Además, algunos estudios sugieren que el semen es más que solo un marcador de fertilidad, ya que en realidad, es un marcador de salud masculina en general, con la capacidad de influir en la salud de parejas y sus hijos (Agarwal et al., 2018). De hecho, lo establecido en los parámetros de la OMS y escritos en guías de sociedades especializadas en andrología (ASEBIR. 1 Edición., 2017; Jungwirth et al., 2012), un bajo

recuento de espermatozoides (<39 millones/eyaculado) se ha asociado posiblemente con problemas de osteoporosis, mayor riesgo cardiovascular (presión sistólica más alta) y salud metabólica (25% más de riesgo de tener síndrome metabólico) (Agarwal et al., 2018).

Hasta la fecha, las implicaciones clínicas de la detección de glóbulos blancos en muestras de semen aún no se han determinado con exactitud. Según lo estipulado por la OMS, la presencia mayor de  $1 \times 10^6$  leucocitos/ml está definida como leucocitospermia, la cual puede ser causada por bacterias, virus, hongos parásitos, o por reacciones inflamatorias (Cooper et al., 2009; La Vignera et al., 2013; Schulz et al., 2019). Algunos autores consideran que este límite es demasiado alto, mientras que otros autores creen que un resultado en el recuento de leucocitos por debajo del índice biológico de referencia puede estar asociado con el deterioro de la calidad espermática (Agarwal et al., 2018; ASEBIR. 1 Edición., 2017; Jungwirth et al., 2012; La Vignera et al., 2013; Monteiro et al., 2018).

### **1.5 Alteración del estrés oxidativo por parte de la microbiota seminal.**

La gran mayoría de las células leucocitarias son polimorfonucleares, los cuales en muestras de semen se identifican después de un procedimiento histoquímico, haciendo reaccionar los leucocitos con la enzima peroxidasa (leucocito peroxidasa positiva) (Jungwirth et al., 2012; Keck et al., 1998; La Vignera et al., 2013; Schulz et al., 2019).

Hasta hoy, el papel de los macrófagos en la eyaculación no es realmente claro, ya que un tercio de todos los leucocitos son macrófago (Agarwal et al., 2018; La Vignera et al., 2013; Schulz et al., 2019), los cuales son células especializadas en fagocitar bacterias y componentes patógenos, evidenciando de esta manera el posible mal estado y la calidad seminal del hombre. Cabe aclarar que dependiendo del grado de activación y la cantidad de polimorfonucleares, estas células leucocitarias son capaces de producir cierta cantidad de citocinas y especies reactivas de oxígeno (ROS), así como también peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y nitrógeno reactivo, activando componentes enzimáticos que suelen disminuir la capacitación y la motilidad de los espermatozoides, así como también ser altamente tóxicos para viabilidad, y morfología de los espermatozoides (Agarwal et al., 2018; ASEBIR. 1 Edición., 2017; Camejo et al., 2001; Dousset et al., 1997; Eggert-Kruse et al., 2001; Jungwirth et al., 2012; La Vignera et al., 2013; Monteiro et al., 2018; Schulz et al., 2019).

El impacto de los leucocitos en la infertilidad depende de las etapas y los sitios en los que los glóbulos blancos hacen contacto con el líquido seminal, ya que solo en prostatitis bacteriana comprobada, la concentración de polimorfonucleares suele ser muy alta (Agarwal et al., 2018; Camejo et al., 2001; Dousset et al., 1997; Eggert-Kruse et al., 2001; Hou et al., 2013; Reet Mändar et al., 2015, 2017), siendo este, un ejemplo específico; donde hay una disminución del volumen del eyaculado, el cual es evidenciado por medio del espermograma, donde el profesional accede a profundizar más sobre el estado y calidad espermática del paciente, utilizando métodos de laboratorio como cultivo bacteriano, siendo este último, un examen con poca sensibilidad para poder clasificar alteraciones en la microbiota seminal, puesto que solo se centra en la detección específica de aquellos microorganismos que pueden ser patógenos, o que se encuentran en mayor cantidad en el semen, sin llegar a descartar si son o no parte de la microbiota seminal.

#### **1.6 Disfunción de la capacitación espermática por parte de la microbiota seminal.**

En la cola del epidídimo, los espermatozoides sufren cambios en los dominios de los esteroides de membrana tanto en la cabeza como en la cola que les confiere una distribución heterogénea de los mismos a lo largo de toda la membrana. Estos dominios conocidos como complejos de colesterol-caveolina, sirven como andamio en la membrana para acoplar proteínas que posteriormente pueden llegar a inducir diferentes rutas de señalización en el espermatozoide.

En condiciones normales, los espermatozoides llegan a adquirir la capacidad de poder mover el flagelo durante su tránsito por el epidídimo. Esta etapa es reconocida como activación del esperma; ya que, en el momento de tener relaciones sexuales, este proceso finaliza cuando los espermatozoides son retenidos en las criptas oviductales de las trompas de Falopio del sistema reproductor femenino. En estas criptas oviductales, los espermatozoides pierden los factores decapacitantes (mucopolisacáridos y proteínas), iniciando un proceso conocido como capacitación, el cual determina el potencial que pueden llegar a adquirir los espermatozoides para poder hiperactivarse, y así lograr la reacción acrosomal (Olivera Ángel et al., 2006).

Esta capacitación espermática se caracteriza principalmente por la salida del colesterol de la membrana del espermatozoide y el ingreso de  $\text{Ca}^{++}$  y  $\text{HCO}_3$  al citosol (Olivera Ángel et al., 2006), donde el ion bicarbonato llega a producir un aumento del PH y de calcio.

No se sabe si al haber un proceso de competición por parte del espermatozoide con diferentes bacterias de la microbiota seminal, se puede llegar a afectar a la reacción cortical, ya que ésta en gran medida depende de los depósitos de calcio para evitar la polispermia., así como tampoco, no se tiene conocimiento de cómo las bacterias pueden disminuir los niveles de PH, ya que estas para poder sobrevivir, necesitan un ambiente en un PH básico, lo cual da cabida para que, al ser este parámetro afectado por la invasión bacteriana pueda disminuir la calidad seminal.

En general, la evaluación microbiológica hasta la fecha ha jugado un papel menor en el diagnóstico de infertilidad masculina, puesto que, en los exámenes de rutina, no se profundiza más sobre este parámetro. Además, debería de establecerse un pool de pruebas específicas para poder determinar cuáles componentes de la microbiota están alterados y así poder establecer causas de la infertilidad masculina a mayor profundidad, así como también, establecer un mejor diagnóstico para la calidad seminal del paciente.

## **2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.**

### **2.1. Hipótesis.**

1. Dilucidar cuáles son los principales géneros bacterianos que componen la microbiota seminal.
2. Su papel fundamental en la calidad espermática.
3. Su posible asociación con la fertilidad e infertilidad masculina.

### **2.2 Objetivo general:**

Analizar los principales géneros de microorganismos de la microbiota seminal y su efecto en la calidad del semen en pacientes con fertilidad e infertilidad masculina, de acuerdo con los estudios realizados hasta la fecha.

### **2.3 Objetivos específicos:**

1. Clasificar y recopilar información sobre cada uno de los géneros bacterianos que componen la microbiota seminal en los diferentes estudios.
2. Identificar cuáles son los posibles efectos de la presencia de estos géneros de microorganismos en el semen de hombres fértiles e infértiles.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS.**

#### **3.1 Estrategia de búsqueda.**

En primer lugar, se hizo una búsqueda de estudios originales consultados a través de las bases de datos *Medline*, mediante las siguientes ecuaciones de búsqueda “microbiota” and “seminal microbiota, “sperm” y “infertility”. No se limitó por año de publicación. Además, se analizaron las referencias bibliográficas de los artículos seleccionados con el fin de rescatar otros estudios potencialmente incluíbles para la revisión. Dichos artículos fueron localizados a través de *PubMed* y *SciELO* y *Lilacs*. Posteriormente, se realizó una búsqueda de revisiones sistemáticas de la literatura científica en la biblioteca *Cochrane Plus* mediante la ecuación de búsqueda “microbiota seminal” y “microbiota” “sperm” y “infertility”, sin límite de fecha, incluyendo artículos tanto en inglés como en español.

Por último, se llevó a cabo una investigación de estudios científicos de sociedades profesionales del área sanitaria especializadas en el área de microbiología y reproducción asistida, especialmente sobre microbiota humana en reproducción asistida tanto en España como en el contexto internacional, donde se explica algún ensayo sobre la detección de microbiota seminal.

#### **3.2 Criterios de inclusión y exclusión.**

En la búsqueda de los estudios científicos originales y revisiones sistemáticas, se aplicó como criterio de inclusión que fuesen realizados en hombres adultos con y sin ningún tipo de infertilidad descrita hasta la fecha por las guías de la OMS, que no presentaran patologías asociadas a enfermedades de transmisión sexual, estudios relacionados con cualquier patología de base que pudiera alterar el comportamiento del sistema inmune y, por ende, la microbiota corporal.

El principal criterio de exclusión fue que los artículos no incluyeran información sobre parámetros de microbiota seminal. Adicional a lo anterior, se excluyeron todos los artículos que relacionaban el término “microbiota seminal” con enfermedades transmisión sexual. Los estudios en animales también fueron excluidos.

### **3.3 Extracción de datos.**

Tras la búsquedas realizadas en *PubMed* y *Scielo* y *Lilacs* en marzo del 2020, el término de “microbiota” arrojaba resultados de 57,428 publicaciones, de las cuales 43 hacían referencia al término “microbiota seminal”, 1.112 para el término “microbiota” y 1 para “microbiota seminal” y 1.367 para el término “microbiota” y 2 para “microbiota seminal” respectivamente en cada buscador.

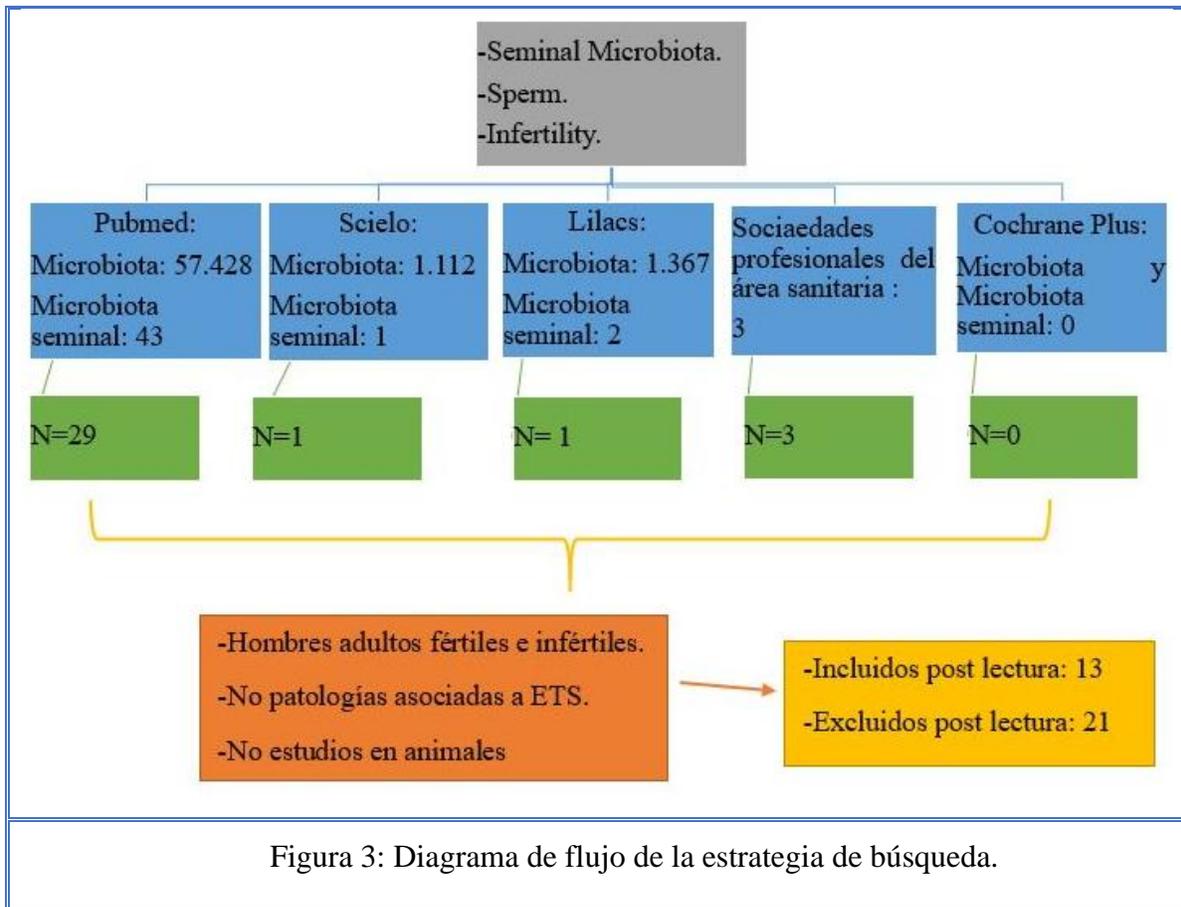
Para proceder a la selección, se revisaron los artículos completos con el fin de decidir si la información que contenían estaba o no relacionada con nuestro objetivo.

Posteriormente, se localizaron 18 publicaciones de estudios originales; aunque se excluyeron 2 que no fueron relevantes para el objetivo de esta revisión. Finalmente se seleccionaron 13 estudios originales los cuales cumplían todos los criterios de selección. Las revisiones bibliográficas (12), estudios de metaanálisis (1) y artículos en los cuales aparecían recomendaciones de diversas sociedades profesionales (3), no fueron seleccionadas para este estudios, pues no cumplían los criterios de inclusión.

### **3.4 Análisis de los datos.**

De los artículos originales se extrajo información sobre autoría, revista en la que estaba publicado y año de publicación, país donde se realizó el estudio, tipo de estudio, sujetos, origen, resultado, y conclusiones. De igual manera, se hizo una revisión de la bibliografía en cada artículo original, para poder aseverar la información que los autores estipulaban.

A continuación, se detalla el proceso de selección de los artículos, mediante un diagrama de flujo.



#### 4. RESULTADOS.

Uno de los primeros estudios enfocados en la detección de variantes de microbiota seminal fue realizado en población Latinoamericana, específicamente en México (Merino et al., 1995). En este estudio, se evaluaron muestras de semen de 190 hombres, de los cuales fueron descartados 7 por no cumplir criterios establecidos por los investigadores. En el parámetro de intervalo de edades, en este estudio se seleccionaron hombres mayores de edad que comprenden los 20 y 49 años, cuyos resultados eran: 64 negativos para cultivo bacteriano; tomándose estos como control y los restantes 119 que dieron positivo para los cultivos, fueron tomados como los casos. Los principales géneros bacterianos encontrados fueron *Staphylococcus*, siendo la especie de *S. epidermis* el de mayor relevancia en el 63% de los muestras, seguido de *S. aureus* en 5%. También de detectaron *Streptococcus viridans* en 28%, *E. coli* en 8%, y *E. agglomerans* en 4%.

Aunque en este estudio no aportan mucha información sobre otros géneros bacterianos encontrados, revisando los resultados, se pudo observar que la especie *Gardnerella* se encontraba en el 44% del total de las muestras analizadas en los pacientes de este estudio.

Un año después, investigadores suizos (Willén et al., 1996) en un estudio realizado durante 3 años en 97 hombres sanos sin ninguna alteración en los parámetros de fertilidad alterado.

Los investigadores clasificaron las muestras de acuerdo con el lugar de obtención, encontrando resultados en cada uno de los sitios anatómicos géneros bacterianos como *Staphylococcus* como el principal género bacteriano tanto en muestras de semen, liquido prostáticos, uretra y surco coronal, seguido de *Gardnerella*, *Prevotella* y *Lactobacillus* . además de los datos anteriores, establecieron que a medida que se obtenían muestras de cada uno de los sitios, estas arrojaban resultados donde la cantidad de microorganismos eran mayor a nivel del surco coronal y uretra, tapizadas principalmente por microorganismos como *Staphylococcus*, y *Gardnerella*.

Ocho años después, investigadores de Estonia (Kermes et al., 2003) realizaron un estudio sobre la microbiota seminal de 116 hombres, de los cuales 84 tenían prostatitis crónica/síndrome de dolor pélvico crónico y 34 de ellos eran leucocitospérmicos, siendo estos referidos como los casos. Para el parámetro de los controles, se obtuvieron 32 muestras de hombres asintomáticos. Estos investigadores encontraron una alta frecuencia de bacterias anaerobias tanto en el parámetro de controles, así como en los casos. Aunque no especifican los géneros bacterianos encontrados, estipulan que en los pacientes que padecían prostatitis no inflamatoria, así como los controles, la presencia de *Gardnerella*, *Staphylococcus* y *Streptococcus*, fue significativamente mayor, siendo estos datos respaldados por investigadores suizos (Willén et al., 1996).

En el grupo de los que padecían prostatitis con y sin leucocitospermia, se encontró un aumento de Anaerobios Gram Negativos, siendo *Prevotella*, el género bacteriano que mayor representación tenía en estos pacientes, seguido de *Peptostreptococcus* y *Enterococcus*.

Otro estudio realizado en el Hospital Universitario Tartu de Estonia durante los años 2003-2005, que posteriormente fue publicado en el 2018 (R. Mändar et al., 2018) incluyó 68 hombres jóvenes sanos de 17 a 22 años. Ellos dividieron a los participantes en tres grupos según su experiencia sexual (12 hombres sin experiencia sexual (MWSE), 11 hombres con una sola pareja sexual de por vida (MSSP) y 45 hombres con múltiples parejas sexuales (MMSP). Los resultados arrojan información sobre el aumento del recuento de glóbulos blancos en el semen de los hombres MWSE en comparación con los hombres MMSP. De igual manera, se pudo establecer que hay una disminución en la diversidad bacteriana en hombres MWSE comparado con aquellos hombres MMSP.

En cuanto a los géneros bacterianos encontrados, se pudo establecer que ninguna muestra era estéril, puesto que todos los cultivos dieron positivo para el crecimiento bacteriano, siendo los géneros bacterianos más comunes *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Corineformes*.

Posteriormente en el mismo país, estudios realizados en los periodos de 2010 -2013 por los anteriores investigadores, los cuales fueron publicados en el 2017 (Reet Mändar et

al., 2017), se realizó la detección de microbiota seminal en 67 hombres, entre ellos 21 hombres con prostatitis crónica (10 hombres con inflamación y 12 hombres con prostatitis no inflamatoria) y 46 controles sanos. Los resultados arrojan una variedad de géneros, entre los cuales el más abundantes incluyen *Lactobacillus*, *Gillisia*, *Prevotella*, *Corynebacterium* y *Gardnerella*. Posteriormente en la clasificación de especies bacterianas, incluyen a *Lactobacillus iners*, *Lactobacillus crispatus*, *Gardnerella vaginalis* y *Corynebacterium seminale* como los taxones más relevantes en todas las muestras.

Este es fue el primer estudio en usar NGS ARN16s para detectar el microbioma de hombres con prostatitis, También se determinó que *Lactobacillus* se encontraban en menor proporción en el parámetro de los casos que en los controles, especialmente *Bacillus iners*, así como también, se evidencia que *Lactobacillus* estaba presente en todas las muestras de los pacientes control.

De igual manera, al comparar los resultados de los casos con los controles, se concluyó que había mayor diversidad de microorganismos en pacientes con prostatitis que aquellos pacientes sanos, donde las *Proteobacterias* se encontraban en mayor abundancia en los casos que en los controles.

En ese mismo año, investigadores Asiáticos (Hou et al., 2013) dan a conocer el comportamiento de los parámetros microbiológicos a nivel seminal por medio de un estudio el cual realizó en 77 muestras. Luego de ser cultivadas, se eligieron aleatoriamente 30 muestras, las cuales se analizaron en el microscopio después de la tinción de Gram, obteniendo resultados cuyos parámetro de los donantes (control) tenían una mayor variabilidad y cantidad bacteriana. En este estudio, los resultados obtenidos por los autores determinaban que de los controles tenían una mayor proporción de bacterias, destacándose principalmente *Lactobacillus* y *Streptococcus*. Estos estudios concuerdan con los establecidos por otros investigadores (Reet Mändar et al., 2017; Merino et al., 1995; Motrich et al., 2018). De igual manera en las muestras de los casos, ellos obtuvieron como resultado una menor cantidad de *Lactobacillus* y en mayor proporción *Prevotella*, cuyo parámetro era en menor cantidad en los controles, coincidiendo de igual manera con los estudios realizados por científicos de Estonia (Kermes et al., 2003).

Aunque los autores establecen que no hay diferencias entre la microbiota seminal de pacientes fértiles y los infértiles, un parámetro para tener en cuenta es que *Anaerococcus* se encontraba en aquellos pacientes con peor pronóstico o baja calidad seminal.

Al año siguiente, investigadores de Taiwán (Weng et al., 2014) realizaron un estudio de casos y controles en un total de 96 muestras de semen, de las cuales, 36 se definieron como las muestras normales ya que no se encontraron ningún parámetro alterado, y las 60 restantes fueron establecidas como casos. En este estudio, utilizando la tecnología NGS ARN16s, obtuvieron resultados que posteriormente fueron clasificados por los investigadores como G1, G2 y G3, cuyos géneros fueron: el más abundante G2 *Lactobacillus* (19.9%), seguido de G1 *Pseudomonas* (9.84%) y G3 *Prevotella* (8.51%). Estos resultados fueron hallados solamente en los casos, pero al comparar los resultados con los controles, evidenciaron que, en dichos pacientes, el género detectado en mayor cantidad fueron *Lactobacillus* (13.8%), seguido de *Prevotella* (11%), posteriormente *Pseudomonas* (9.3%).

Al sumar todos los resultados tanto de controles como de casos, obtuvieron que el género que predominaba en la mayoría de las muestras era G2 *Lactobacillus* (32%), seguido de G1 *Pseudomona* (16%) y por último G3 *Prevotella* (26%). Hay que resaltar que G1 y G2 se detectó en pacientes controles sin ningún tipo de infección o sintomatología, cuya diferencia radica en la cantidad, ya que G2 era en mayor proporción en los controles, mientras que en la clasificación G3, concordaba más en el rango de los pacientes con parámetros anormales. Estos resultados están en concordancia con los arrojados por otros investigadores (Hou et al., 2013; Kermes et al., 2003; Reet Mändar et al., 2017), estableciendo con severidad un patrón de concordancia de los principales microorganismos de la microbiota bacteriana.

Por otra parte, los autores resaltan el hecho de que *Gardnerella* se encontró en gran proporción en el grupo G2, así como también, establecen que en un alto número de muestras de los controles *Gardnerella* estaba presente junto con *Lactobacillus*, respaldado de esta manera por los estudios encontrados en otras investigaciones (Reet Mändar et al., 2017; Merino et al., 1995), arrojando información sobre su posible papel en la calidad

seminal, o su posible asociación con *Lactobacillus* como microbiota favorecedora de la reproducción masculina.

Al verificar como se comportaba la microbiota a nivel de parejas infértiles, un estudio realizado por investigadores de Estonia en el Centro de Andrología del Hospital Universitario de Tartu durante los años 2009 a 2012, el cual fue publicado en el 2015 (Reet Mändar et al., 2015), incluyó a 23 parejas, las cuales habían consultado a medicina familiar por problemas de fertilidad. En este estudio se pudo determinar las comunidades bacterianas seminales y vaginales, las cuales tuvieron un alto número de fenotipos compartidos en aproximadamente el 85% de todos los casos detectados, siendo *Fimicutes*, el *Phylum* con mayor representación.

Los géneros más abundantes encontrados en estas parejas fueron *Lactobacillus*, *Veillonella*, *Streptococo* y *Porphyromonas*. Hay que destacar que las comunidades seminales arrojadas según los datos de los investigadores, eran significativamente más diversas en comparación con las comunidades vaginales, y al mismo tiempo, se pudo determinar que las muestras de semen tuvieron un menor número *Lactobacillus* en comparación con otros estudios (Hou et al., 2013; Weng et al., 2014), ya que al tratarse de pacientes infértiles, el porcentaje de este género bacteriano está en una proporción baja. También hallaron una disminución taxones bacterianos, comparados con concentraciones bacterianas encontradas a nivel vaginal.

En los resultados, los investigadores hallaron que, en las muestras de parejas que tenían problemas de fertilidad, *Bacteroides* y *Prevotella* estaban presentes en todos los casos, concordando con estudios de anteriores investigadores (Reet Mändar et al., 2017; Weng et al., 2014), donde *Prevotella* era el género bacteriano presente en la mayoría de los pacientes con problemas de infertilidad.

En Suiza durante el transcurso de los años 2014-2016, publicado en el año 2019, se realizó un estudio de casos y controles en 94 hombres, los cuales estaban clasificados como normales e infértiles (Baud et al., 2019). Utilizando la técnica NGS ARN16s, la detección de microorganismos en el semen arrojó resultados donde los *Phylum* bacterianos más predominantes eran los *Actinobacterias*, *Bacteroides*, *Fimicutes* y *Proteobacterias*.

Como la clasificación del estudio eran pacientes normozoospermicos, en la mayoría de los resultados arrojados por la técnica NGS ARN16s, se detectó una mayor cantidad de *Lactobacillus*, seguido de *Staphylococcus*. Estos estudios son respaldados con los diferentes hallazgos encontrados en (Hou et al., 2013; Kermes et al., 2003; Reet Mändar et al., 2017; Merino et al., 1995; Weng et al., 2014).

En los resultados de los pacientes catalogados como casos, los investigadores destacan la presencia de *Prevotella* como microorganismo de mayor relevancia, concordando de esta manera con los resultados obtenidos en los estudios realizados por otros autores (Reet Mändar et al., 2015, 2017; Weng et al., 2014).

Investigadores de la Universidad de Antioquia en la ciudad de Medellín, Colombia, realizaron un estudio en 28 pacientes (sin descartar si eran fértiles e infértiles) durante los años 2007-2013 (Suárez et al., 2015). Este estudio arrojó como resultado la presencia de *Staphylococcus* como el género microbiano en mayor representación de todas las muestras de los pacientes, aseverando información de los estudios realizados por investigadores anteriores (Kermes et al., 2003; Merino et al., 1995).

Aunque el número de muestras no fue representativo, los investigadores establecen que la presencia de microorganismos en el semen no afecta ni beneficia la calidad seminal, concordando con los análisis establecidos por investigadores Europeos y Asiáticos (Baud et al., 2019; Hou et al., 2013).

Otro estudio realizado en la comunidad europea, específicamente en Portugal, se recolectaron muestras de 118 individuos (89 casos y 29 controles) (Monteiro et al., 2018). Los autores clasificaron a los participantes según el parámetro alterado como oligoastenoteratozoospermia, astenoteratozoospermia e hiperviscosidad. Los resultados arrojan una perspectiva amplia de comunidades bacterianas, entre ellas *Enterococcus*, la cual es la bacteria predominante en el plasma seminal, seguido de *Staphylococcus* y otros *Firmicutes*.

En este estudio se pudo determinar que un mayor porcentaje de las muestras de los pacientes presentaban bajas cantidades de *Lactobacillus*, lo cual concuerda con diferentes

autores (Hou et al., 2013; Reet Mändar et al., 2015, 2017), donde establecen que, en pacientes con problemas de fertilidad o alteración en los parámetros seminales, hay disminución de este género.

De forma más específica, de acuerdo con la clasificación dada por los investigadores, en el parámetro de los pacientes con oligoastenoteratozoospermia había una mayor relevancia de *Pseudomonas*, mientras que en el grupo de los pacientes que presentaban hiperviscosidad, las *Proteobacterias* predominaban en mayor proporción, y *Firmicutes*, en los pacientes que fueron clasificados con astenoteratozoospermia.

Estos datos fueron concordantes con los arrojados por otras investigaciones, donde se relacionan a las *Proteobacterias* y *Pseudomonas* predominaban en las muestras de los pacientes con alteración en los parámetros seminales (Hou et al., 2013; Kermes et al., 2003; Reet Mändar et al., 2015; Weng et al., 2014).

Por otra parte, investigadores Mexicanos (Neri-vidaurri et al., 2018) realizaron un estudio en 589 varones que acudían a consulta por inconvenientes de fertilidad. Estos investigadores buscaban determinar en su trabajo la existencia de posibles efectos en los parámetros seminales por medio de la presencia de microorganismos en el espermocultivo.

Los resultados encontrados por estos investigadores demuestran que, del total de 589 muestras, 217 tuvieron crecimiento bacteriano en el espermocultivo. De estos cultivos positivos, *Enterococcus* era el género bacteriano que mayor crecimiento reportó, seguido de *Escherichia* y *Staphylococcus*, siendo este último igual mente reportado en otros estudios científicos (Baud et al., 2019; Kermes et al., 2003; R. Mändar et al., 2018; Merino et al., 1995; Monteiro et al., 2018; Suárez et al., 2015; Willén et al., 1996).

Aunque los investigadores no especifican en qué tipo de pacientes se encontró la presencia de estos géneros bacterianos, ellos reportan en su análisis que posiblemente no existen diferencias significativas en la disminución de los parámetros seminales de los espermocultivos positivos; sin embargo, establecen que hay una ligera tendencia a alterar parámetros como concentración y la motilidad en los espermatozoides, coincidiendo de

igual manera con anteriores investigadores (R. Mändar et al., 2018; Merino et al., 1995; Monteiro et al., 2018; Suárez et al., 2015).

Finalmente, investigadores de la Universidad de Saarland en Alemania, en un estudio de casos y controles con 120 muestras de semen seleccionadas de parejas que consultaron por problemas de infertilidad en la clínica infertilidad y obstetricia (repartidas en 36 casos y 84 controles) (Zeyad et al., 2018), recolectaron un total de 120 muestras de semen, de las cuales 36 dieron positivo para crecimiento bacteriano, encontrando en ellas cinco géneros bacterianos (*Staphylococcus*, *Escherichia*, *Streptococcus*, *Enterococcus* y *Klebsiella*), siendo *Staphylococcus*, el género bacteriano con mayor relevancia en estas muestras, lo cual respalda los datos de otros científicos (Baud et al., 2019; Hou et al., 2013; Kermes et al., 2003; R. Mändar et al., 2018; Merino et al., 1995; Monteiro et al., 2018; Neri-vidaurri et al., 2018; Suárez et al., 2015).

Los resultados arrojados por los autores establecen que en este estudio había mayor cantidad de *Staphylococcus*. También informan de igual manera la presencia de *Enterococcus* (pero en menor proporción) los cuales hacen parte del *Phylum Firmicutes*, siendo estos los que, en casos de baja calidad espermática, están presentes pero en menor cantidad (Hou et al., 2013; Kermes et al., 2003; Reet Mändar et al., 2015; Monteiro et al., 2018; Neri-vidaurri et al., 2018).

En la siguiente tabla se plasman los diferentes estudios con los géneros bacterianos de mayor relevancia.

AUTORES.	ESTUDIO.	PRINCIPALES GÉNEROS BACTERIANOS ENCONTRADOS.	
		Controles.	Casos.
<b>Merino et al., 1995.</b>	Bacterial infection and semen characteristics in infertile men.	- <i>Gardnerella</i> .	- <i>Staphylococcus</i> . - <i>Streptococcus</i> . - <i>Escherichia coli</i> .
<b>Willén et al., 1996.</b>	The Bacterial Flora of the Genitourinary Tract in Healthy Fertile Men.	- <i>Staphylococcus</i> . - <i>Gardnerella</i> . - <i>Prevotella</i> . - <i>Lactobacillus</i> .	
<b>Kermes et al., 2003.</b>	Anaerobic seminal fluid microflora in chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome patients.	- <i>Gardnerella</i> . - <i>Staphylococcus</i> . - <i>Streptococcus</i> .	- <i>Peptostreptococcus</i> . - <i>Enterococcus</i> . - <i>Prevotella</i> .
<b>R. Mändar et al., 2018.</b>	Impact of sexual debut on culturable human seminal microbiota.	- <i>Estafilococos</i> . - <i>Streptococcus</i> . - <i>Corineformes</i> .	
<b>R. Mändar et al., 2017.</b>	Seminal microbiome in men with and without prostatitis.	- <i>Lactobacillus</i> . - <i>Gardnerella</i> . - <i>Prevotella</i> .	- <i>Gillisia</i> . - <i>Corynebacterium</i> .
<b>Hou et al., 2013.</b>	Microbiota of the seminal fluid from healthy and infertile men.	- <i>Lactobacillus</i> . - <i>Streptococcus</i> .	- <i>Prevotella</i> . - <i>Anaerococcus</i> .
<b>Weng et al., 2014.</b>	Bacterial communities in semen from men of infertile couples: Metagenomic sequencing reveals relationships of seminal microbiota to semen quality.	- <i>Lactobacillus</i> . - <i>Gardnerella</i> .	- <i>Pseudomona</i> . - <i>Prevotella</i> .
<b>R, Mändar et al., 2015.</b>	Complementary semino vaginal microbiome in couples.	- <i>Lactobacillus</i> . - <i>Veillonella</i> . - <i>Porphyromonas</i> .	- <i>Prevotella</i> . - <i>Streptococcus</i> .
<b>Baud et al., 2019.</b>	Sperm microbiota and its impact on semen parameters.	- <i>Lactobacillus</i> .	- <i>Prevotella</i> . - <i>Staphylococcus</i> .
<b>Suárez et al., 2015</b>	Espermocultivo: crecimiento bacteriano del eyaculado y su relación con los	- <i>Enterococcus</i> . - <i>Staphylococcus</i> .	

	parámetros seminales		
<b>Monteiro et al., 2018.</b>	Characterization of microbiota in male infertility cases uncovers differences in seminal hyperviscosity and oligoasthenoteratozoospermia possibly correlated with increased prevalence of infectious bacteria		- <i>Enterococcus</i> . - <i>Staphylococcus</i> - <i>Pseudomonas</i> .
<b>Neri-vidaurri et al., 2018.</b>	Efecto del espermocultivo positivo en los parámetros seminales en los varones de un programa de reproducción asistida.		- <i>Staphylococcus</i> - <i>Escherichia</i> . - <i>Enterococcus</i> .
<b>Zeyad et al., 2018.</b>	The effects of bacterial infection on human sperm nuclear protamine P1/P2 ratio and DNA integrity.		- <i>Staphylococcus</i> . - <i>Escherichia</i> . - <i>Streptococcus</i> . - <i>Klebsiella</i> . - <i>Enterococcus</i> .
Tabla 5. Estudios con los principales géneros bacterianos encontrados.			

## 5. DISCUSIONES.

De los artículos encontrados en las bases de datos expuestas en el apartado de metodología, se obtuvieron trece estudios realizados por diferentes autores a nivel internacional, los cuales han detectado y recopilado información sobre los diferentes microorganismos que hacen parte de la microbiota seminal hasta la fecha.

Hay que destacar que todos son estudios de carácter original, los cuales decidimos analizar en esta revisión, ya que son de importancia relevante, puesto que como veremos a continuación, aportan información detallada sobre sus resultados, resaltando y apoyando el papel de la microbiota seminal como factor de vital importancia a la hora de estudiar la microbiota espermática de hombres fértiles e infértiles.

Hasta la actualidad, gran parte de los estudios sobre el microbioma seminal se enfocan en aquellos ensayos exclusivamente en pacientes infértiles, los cuales se detectan principalmente por medio de métodos moleculares.

Actualmente, varios investigadores utilizan la tecnología NGS ARN16s para poder detectar con mayor amplitud, la variedad de géneros microbiológicos en muestras de semen (Hou et al., 2013; Weng et al., 2014).

De todos los artículos, se obtuvo información relevante sobre los resultados obtenidos, evidenciando que las cuatro principales géneros bacterianas que componen la microbiota seminal son: *Lactobacillus*, *Gardnerella*, *Prevotella* y *Staphylococcus*.

### 5.1 *Lactobacillus*.

Han sido de carácter importante en el estudio de la microbiota vaginal, ya que juegan un papel frente a defensas y ayudan a controlar el nivel del PH vaginal, evitando la colonización de microorganismos patógenos. Además, ayuda a la prevención de la peroxidación lipídica, preservando de esta manera la motilidad y viabilidad de los espermatozoides (Reet Mändar et al., 2017).

En las publicaciones analizadas en nuestro estudio, se han encontrado la presencia de este género microbiano en mayor proporción que los restantes géneros bacteriano en todos los pacientes (Reet Mändar et al., 2017; Motrich et al., 2018), en la mayoría de los

pacientes que no padecían ningún tipo de patología (Baud et al., 2019; Reet Mändar et al., 2015, 2017), así como también se ha evidenciado que este género bacteriano está en mayor proporción en aquellos pacientes con mejor calidad seminal (Reet Mändar et al., 2017; Weng et al., 2014).

Los estudios publicados por varios investigadores (Baud et al., 2019; Hou et al., 2013; Monteiro et al., 2018; Willén et al., 1996) descartan cualquier asociación de los *Lactobacillus* con mejor calidad seminal. Aunque los resultados publicados por los anteriores autores difieren de los estudios publicados por Weng et al, estos investigadores, demuestran en sus resultados que encontraron abundantes *Lactobacilos*, *Gardnerella*, *Staphylococcus* y *Streptococcus*, señalando el impacto del intercambio de la microbiota en las relaciones sexuales y como estas pueden variar y modificar la variabilidad de géneros bacterianos en el sistema reproductor masculino.

También observamos que aquellos estudios donde demostraban que existían muestras de semen con morfología normal, fueron significativamente mayores en aquellos cuyo género bacteriano predominaban los *Lactobacillus*. Además, la exposición de espermatozoides a los *Lactobacillus* ha demostrado tener posiblemente un efecto positivo en motilidad y viabilidad (Barbonetti et al., 2011). Estas observaciones están de acuerdo con estudios previos (Reet Mändar et al., 2015, 2017; Weng et al., 2014), donde la microbiota en pacientes normozoospermicos se asoció con la presencia de este género bacteriano.

El hecho de que cuatro estudios identificaran, independientemente de su ubicación geográfica y temporal, al género de *Lactobacillus* en las muestras de pacientes con parámetros seminales normales, respalda que existen taxones bacterianos únicos en el semen, los cuales pueden estar altamente conservados en las diferentes poblaciones mundiales. Su presencia puede orientar al profesional del laboratorio en el momento de la clasificación de las muestras.

Hay que destacar que, aunque todos los estudios anteriormente mencionados respaldan el hecho de que la presencia de este género bacteriano en muestras de semen de pacientes fértiles puede ser un posible parámetro de buena calidad espermática, no se sabe

con exactitud la concentración de estas bacterias en el semen, ya que estas al estar en concentraciones mayores, pueden dejar de ser beneficiosas para la viabilidad espermática y pasar a ser un posible inductor del deterioro de la calidad seminal; o posiblemente, al estar en bajas concentraciones como naturalmente pasa con el desgaste de cualquier barrera de la microbiota corporal, inicie un proceso de colonización por parte de microorganismos patógenos, alterando la morfología y fisiología espermática.

Aunque los estudios anteriormente mencionados son fuertemente respaldados y publicados por investigadores reconocidos, faltan ensayos en mayor número de pacientes y con más variabilidad de etnias, donde demuestren que el género de *Lactobacillus* se encuentre en mayor cantidad y así clasificarlo como un posible inductor y protector de la calidad seminal.

## **5.2 Gardnerella.**

Es un género bacteriano el cual su principal reservorios se encuentra a nivel vaginal, asociado principalmente con mujeres que padecen Vaginosis Bacteriana (BV), pero también, se ha evidenciado que no solo está en las pacientes enfermas de BV, si no que está presente como parte de la microbiota vaginal en pacientes portadoras sanas (Murray et al., 2014).

A pesar de su frecuente relación con los genitales femeninos y su patología, algunos autores establecen que existe una relación patológica en el caso de los hombres, ya que este género bacteriano suele estar asociado con infecciones a nivel del tracto urinario, balanitis, uretritis y hasta prostatitis crónica (Murray et al., 2014).

Actualmente, con los avances en la detección y clasificación de microorganismos como la tecnología NGS ARN 16s, varios investigadores no están del todo de acuerdo con la anterior información, puesto que se han encontrado la presencia de este género bacteriano en gran proporción, principalmente en paciente masculinos sin ningún tipo de patología asociada a las estructuras anatómicas del sistema reproductor masculino. Este grupo de investigadores (Kermes et al., 2003; Reet Mändar et al., 2017; Merino et al., 1995; Weng et al., 2014; Willén et al., 1996) en sus diferentes publicaciones, han observado un

incremento de este microorganismo en aquellos pacientes que no padecen ningún tipo de alteración patológica, evidenciando de esta manera que este microorganismo al ser adquirido por medio del intercambio de la microbiota durante el acto sexual de hombres con mujeres, abre cabida a dilucidar que puede ser un género bacteriano que, al igual que los *Lactobacillus*, formarían parte del grupo de microorganismos predictores de buena calidad seminal en pacientes fértiles.

En la actualidad, no hay estudios que respalden la anterior aseveración; pero, sería de gran ayuda investigar más a fondo sobre el verdadero papel que pueda cumplir la asociación de *Lactobacillus* y *Gardnerella* cuando estos dos géneros bacterianos están en el líquido seminal, así como también, poder establecer en qué cantidades puede ser benéfico y buen inductor de calidad seminal en pacientes sanos, y en aquellos pacientes que presentan infertilidad.

### **5.3 *Prevotella*.**

Es un género bacteriano que colonizan principalmente las vías respiratorias superiores y el tracto genitourinario. Actualmente es considerado como una bacteria de la microbiota corporal (urogenital), sin embargo en algunos casos (enfermedades inmunocomprometidas) puede causar patologías (Murray et al., 2014).

Es un microorganismo el cual se ha visto en aquellas personas cuya dieta es rica en alimentos vegetales, donde su presencia a nivel intestinal y urogenital se ve con mayor frecuencia. También se ha visto que en VB por un desequilibrio en la disminución de *Lactobacillus*, y aumento de *Gardnerella*, puede llegar a causar patologías (Murray et al., 2014).

Los estudios realizados por varios autores (Baud et al., 2019; Reet Mändar et al., 2015; Weng et al., 2014), han establecido una relación directa entre aquellos pacientes con disminución de uno o varios parámetros de fertilidad, así como también, establecen que este microorganismo se encuentran en mayor proporción en aquellos pacientes que sufren de prostatitis de origen desconocido (Kermes et al., 2003).

Cabe destacar que en aquellos pacientes donde se ha encontrado abundancia de este género bacteriano, hay una disminución de microorganismos como *Lactobacillus* y *Gardnerella* (Baud et al., 2019; Hou et al., 2013; Reet Mändar et al., 2015, Weng et al., 2014), estableciendo de esta manera un posible patrón de clasificación microbiológica en aquellos hombres con problemas de fertilidad.

En el estudio elaborado por investigadores suizos (Baud et al., 2019), *Prevotella* fue el género bacteriano que se encontraba en mayor proporción en el parámetro de los casos, ya que al comparar el factor de motilidad con los controles, se pudo establecer que este género microbiano estaba en mayor abundancia en aquellos que tenían motilidad reducida, siendo esta información respaldada por autores Asiáticos (Weng et al., 2014), donde *Prevotella* estaba en la mayoría de los parámetros clasificados como casos, sobre todo en aquellos donde los *Lactobacillus* estaban en menor cantidad.

Aunque los anteriores investigadores respaldan el hecho de que *Prevotella* está presente en mayor proporción en muestras de pacientes por parámetros anormales, estudios realizados por otros investigadores (Hou et al., 2013; Reet Mändar et al., 2017; Willén et al., 1996) dejan en duda el papel que *Prevotella* puede realmente estar ejerciendo en la calidad seminal, pues se ha visto en las publicaciones de estos autores, que este género bacteriano ha estado presente tanto en muestras de controles, como en los casos.

#### **5.4 *Staphylococcus*.**

Este género bacteriano se ha caracterizado por producir ciertas enfermedades de carácter sistémico y en algunos casos llegar a producir infecciones urinarias, así como también, los podemos encontrar formando parte de la microbiota corporal tapizando parte de la piel y anexos.(Murray et al., 2014)

En los estudios realizados por diferentes investigadores (Merino et al., 1995; Monteiro et al., 2018; Zeyad et al., 2018), determinaron que el agente microbiano de mayor relevancia en las muestras de pacientes con déficit en cualquier parámetro de fertilidad era *Staphylococcus*, siendo las especies de *S. aureus* y *S. epidermidis* los que se encontraban en mayor abundancia. Posteriormente, estos estudios fueron respaldados por varios autores

(Reet Mändar et al., 2015; Merino et al., 1995; Neri-vidaurri et al., 2018; Suárez et al., 2015), donde han evidenciado que la presencia de *Staphylococcus*, suele estar asociada a un déficit en la detección de *Lactobacillus* y *Gardnerella*, así como también, en casos donde hay disminución de parámetros seminales como concentración y motilidad, así como también prostatitis, donde éste género bacteriano suele estar en mayor proporción.

Otros investigadores no concuerdan con los estudios arrojados anteriormente, ya que en sus resultados han encontrado que, tanto en los pacientes como en los controles, la presencia de *Staphylococcus* ha sido siempre constante, descartando cualquier asociación patológica de este género microbiano con la infertilidad masculina (Baud et al., 2019; Hou et al., 2013; Kermes et al., 2003; Willén et al., 1996). Estos autores se basan en el hecho de que *Staphylococcus* y su gran variedad de especies, suelen ser parte del microbioma corporal, específicamente de la piel, por lo tanto, en la mayoría de las muestras sería muy común poder encontrarlo.

También hay que tener en cuenta que de acuerdo con la información recopilada por los diferentes estudios (Monteiro et al., 2018; Neri-vidaurri et al., 2018; Suárez et al., 2015; Zeyad et al., 2018), posiblemente exista una relación tipo satélite entre *Staphylococcus* y *Enterococcus*, ya que estos dos géneros bacterianos se detectan mayormente juntos en las muestras de semen de pacientes con problemas de fertilidad, lo cual deja en cuestión si existe una relación que pueda ser favorable para que estos microorganismos lleguen a invadir o tapizar estructuras y componentes anatómicos del sistema reproductor masculino, y llegar perjudicar el buen funcionamiento de los espermatozoides.

Hasta la fecha no se sabe con exactitud cuál es la función que puede estar ejerciendo este género microbiano en la calidad seminal, puesto que al ser parte del microbioma de la piel, da cabida para que muchas de sus detecciones en las muestras de semen puedan estar relacionadas con procesos contaminación en el momento de recolección de las muestras.

A continuación, se detalle en la siguiente imagen los 4 principales géneros bacterianos.

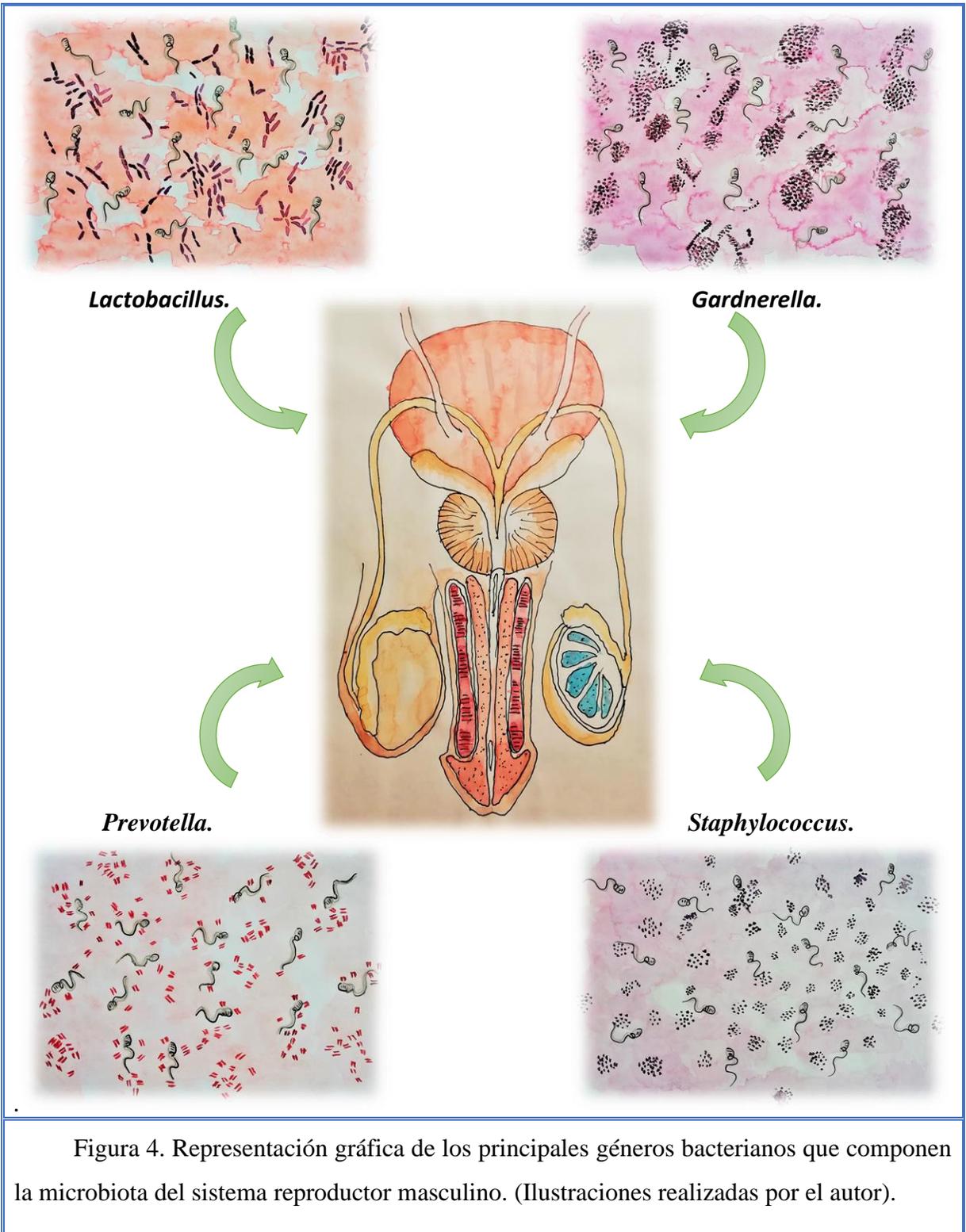


Figura 4. Representación gráfica de los principales géneros bacterianos que componen la microbiota del sistema reproductor masculino. (Ilustraciones realizadas por el autor).

## **5.5 Microbiota seminal y su relación con la fertilidad e infertilidad masculina.**

### **5.5.1 Metabolismo bacteriano.**

La glucosa y el ácido ascórbico al ser producida por las glándulas seminíferas tienen como finalidad servir como fuente de energía a los espermatozoides hasta que estos puedan llegar a la vagina, ya que en esta, se encuentran con mayor cantidad de componentes los cuales los espermatozoides usan para poder adquirir energía y movilidad hasta ascender hacia las trompas de Falopio (ASEBIR. 1 Edición., 2017; Jungwirth et al., 2012; Schuppe et al., 2017; Vásquez et al., 2007).

Al igual que todas muchas bacterias, los *Lactobacillus*, *Gardnerella*, *Prevotella* y *Staphylococcus* usan la glucosa para poder llevar a cabo varias funciones vitales (Murray et al., 2014;), lo cual establece interrogantes sobre cómo afecta el consumo de este carbohidrato tan importante para los espermatozoides por parte de estas bacterias.

Aunque varios investigadores establecen una posible asociación benéfica de bacterias como *Lactobacillus* y *Gardnerella* en la viabilidad y motilidad de los espermatozoides (Barbonetti et al., 2011; Reet Mändar et al., 2015, 2017; Weng et al., 2014), aún no está claro el verdadero papel que puedan desempeñar cuando estos microorganismos se encuentran en altas, medianas y escasas concentraciones en el semen durante los periodos abstinencia, ya que al ser bacterias que usan la glucosa como fuente de energía, posiblemente puedan llegar a usar este compuesto, dejando a los espermatozoides sin “combustible”, reduciendo de esta manera la cantidad de espermatozoides vivos a la hora de llegar a fecundar.

Hay que tener en cuenta que, aunque son bacterias que usan la glucosa para la obtención de energía, el consumo de este importante componente no afecta en gran medida a la movilidad de los espermatozoides cuando estos son eyaculados, pues estos, usan la glucosa del conducto vaginal para obtener energía a la hora de continuar su camino hacia el istmo tubárico, por lo tanto, el posible efecto negativo que se podría determinar, es sobre la disminución de energía, motilidad y vitalidad de los espermatozoides durante el tiempo que

estos están contenidos en los testículos. En la actualidad no hay estudios que logren responder a este interrogante.

Se tiene conocimiento de que el líquido prostático participa en diferentes pasos para el correcto funcionamiento de los espermatozoides (ASEBIR. 1 Edición., 2017; Jungwirth et al., 2012; Schuppe et al., 2017; Vásquez et al., 2007). Este líquido, producto de las secreciones de la próstata, es de suma importancia a la hora del proceso de licuefacción o también llamado mucólisis, pues ayuda a facilitar la dilución del líquido seminal coagulado por acción de una gran variedad de enzimas provenientes de las vesículas seminales, facilitando de esta manera la movilidad de los espermatozoides en el tracto reproductor femenino. Hasta la fecha tampoco hay estudios que determinen en qué medida algunos microorganismos como *Lactobacillus* y *Gardnerella*, pueden llegar a intervenir en el correcto funcionamiento de la mucólisis.

En cuanto a las vesículas seminales, es bien entendido que cumplen un papel importante en la fertilidad masculina y femenina, ya que ayuda a estimular de manera directa la movilidad de los espermatozoides desde la vagina hasta el útero, así como también participa en la formación de la textura del plasma seminal, el cual, gracias a estas vesículas, tiene un grado de viscosidad y PH adecuado para el correcto funcionamiento de los espermatozoides. Hasta la fecha no hay estudios que demuestren en qué grado puede afectar la inflamación de las vesículas seminales al ser invadidas por microorganismos como *Staphylococcus* y *Prevotella*, ya que posiblemente al haber una inflamación, haya una disminución de la función de las vesículas, las cuales pueden influir o estar relacionadas con inestabilidad de la cromatina del ADN de los espermatozoides.

De igual manera, se sabe que el semen del hombre contiene una gran proporción de prostaglandinas las cuales se producen principalmente en las vesículas seminales (Monteiro et al., 2018; Vásquez & Vásquez, 2007; Zeyad et al., 2018). Si bien, al ser las prostaglandinas uno de los tantos componentes que posiblemente estén disminuidos por parte de la invasión de géneros bacterianos como *Staphylococcus*, no se tiene conocimiento sobre estudios que hayan revelado cual es el comportamiento de este género microbiano, principalmente de bacterias del grupo de *Staphylococcus coagulasa positiva*, donde

demuestran como estos microorganismos por medio de la enzima coagulasa (la cual modifica el fibrinógeno en fibrina), puede llegar a impedir que el coágulo se degrade, alterando de esta manera el correcto funcionamiento de la mucólisis por las enzimas de las vesículas seminales, así como también, alterar los mecanismos de movilidad de los espermatozoides por medio del bajo contenido de producción de ATP.

### **5.5.2 Estrés oxidativo.**

No se sabe en con exactitud los niveles de producción de ROS por parte de *Lactobacillus*, *Gardnerella*, *Prevotella* y *Staphylococcus* en las células de Sertoli, ya que cada género bacteriano dependiendo su asociación, pueda ser, benéfica en el caso de *Lactobacillus* y *Gardnerella* (Baud et al., 2019; Hou et al., 2013; Kermes et al., 2003; Reet Mändar et al., 2015; Merino et al., 1995; Weng et al., 2014), u oportunista, en el caso de *Prevotella* y *Staphylococcus* (Baud et al., 2019; Hou et al., 2013; Kermes et al., 2003; Reet Mändar et al., 2015; Merino et al., 1995; Monteiro et al., 2018; Weng et al., 2014; Willén et al., 1996; Zeyad et al., 2018), las cuales pueden llegar a alterar componentes del sistema inmune.

En el caso de los microorganismos oportunistas clasificados en nuestro análisis (*Staphylococcus* y *Prevotella*), al llegar a invadir sectores clasificados como santuarios inmunológicos (células de Sertoli), podrían activar diferentes mediadores inflamatorios, generando una respuesta exacerbada, trayendo consigo un aumento de los niveles de ROS que puede ser altamente tóxico para la viabilidad de los espermatozoides, aumentando las concentraciones de leucocitos, y provocando de esta manera una activación biológica de citoquinas proinflamatorias, las cuales modulan negativamente el sistema antioxidante, pudiendo conllevar una respuesta inflamatoria, con una simultánea disminución de enzimas antioxidantes y de células germinales, que provoca el exceso de ROS, alterando la viabilidad, morfología y fisiología de los espermatozoides.(Agarwal et al., 2018; ASEBIR. 1 Edición., 2017; Camejo et al., 2001; Dousset et al., 1997; Eggert-Kruse et al., 2001; Jungwirth et al., 2012; La Vignera et al., 2013; Monteiro et al., 2018; Schulz et al., 2019).

En cuanto al género de *Prevotella*, se sabe que este microorganismo encontrado mayormente en pacientes con un dieta vegetariana, suele requerir para su crecimiento

vitamina K y componentes ricos en progesterona y estradiol, los cuales ayudan para el crecimiento de este microorganismo (Murray; et al., 2014), evidenciando con ello el posible efecto negativo que puede tener esta bacteria al consumir los depósitos esta vitamina y estradiol, los cuales son esenciales para el correcto funcionamiento espermático.

Para compensar un equilibrio en los excesos de ROS, varios autores han establecido la gran importancia que pueden desempeñar microorganismos como *Lactobacillus* y *Gardnerella* (Reet Mändar et al., 2017; Weng et al., 2014). Durante el periodo de capacitación realizado en la cola del epidídimo, los espermatozoides sufren cambios a nivel de cabeza, cuello y cola, siendo la primera estructura, el lugar donde la región del acrosoma presenta islas de composición ordenada de colesterol y esfingolípidos, y en la región subacrosomal, presentando abundante distribución de fosfolípidos (Olivera Ángel et al., 2006). Posiblemente estas partes, al estar expuestas a microorganismos patógenos, pueden ser objetivo clave para ser invadidos y llegar a generar daños a nivel de la motilidad y viabilidad espermática. Aunque lo anterior no se ha investigado, autores como Olivera Ángel et al., 2006, han estipulado que existe una posible asociación benéfica, donde estos microorganismos (*Lactobacillus* y *Gardnerella*), ayudan a la prevención de la peroxidación lipídica de la membrana de los espermatozoides, pero estos datos aún no están claros, ya que faltan estudios con muestras representativas que lo sustenten.

También hay que tener en cuenta que no solo los niveles de ROS pueden ser alterados cuando existe una respuesta inmunológica, ya que hay varios componentes que suelen modificarse de acuerdo con el tipo de respuesta celular frente a patógenos, siendo las citoquinas proinflamatorias altamente perjudiciales para las células espermáticas, provocando en muchos pacientes patologías crónicas como prostatitis inflamatoria con presencia o no de leucocitos (Agarwal et al., 2018; ASEBIR. 1 Edición., 2017; Baud et al., 2019; Reet Mändar et al., 2015; Schulz et al., 2019).

Algunos autores han establecido que componentes como las interleuquina 1 (IL1) está presente en altas concentraciones en el plasma seminal de pacientes infértiles (Dousset et al., 1997), pero hasta la fecha su presencia no se ha evidenciado como afecta la movilidad espermática, al proceso de reacción acrosomal, y la condensación de la cromatina.

Otros autores han asociado a la IL6 con lipoperoxidación y producción de ROS con mayor frecuencia en hombres infértiles (Camejo et al., 2001; Eggert-Kruse et al., 2001), así como también han establecido que las altas concentraciones de IL8 están asociadas con alteración de la movilidad espermática, y con inhibición de la bomba ATPasa de sodio y potasio, así como también de la enzima superóxido dismutasa, y el aumento en la producción de óxido nítrico (Eggert-Kruse et al., 2001). Estos estudios aún no son claros y faltan más datos para que logren determinar con exactitud en qué medida estos componentes inmunológicos disminuyen la calidad seminal.

### **5.5.3 Alteración en la capacitación y funcionamiento del espermatozoide.**

El bicarbonato produce un aumento del PH y de calcio, el cual posiblemente, al haber un proceso de competición por parte del espermatozoide con bacterias como *Prevotella* y *Staphylococcus*, puede que los niveles de calcio no sean los adecuados para la correcta movilidad del espermatozoides, así como también, puede que llegue a afectar la reacción cortical, ya que esta gran medida depende de los depósitos de calcio para evitar la polispermia,

Hasta la fecha, no se tiene conocimiento de cómo estos géneros bacterianos pueden disminuir los niveles de PH, ya que para poder sobrevivir, necesitan un ambiente en PH básico, lo cual da cabida para que, al ser este parámetro afectado por la invasión bacteriana, este pasa de ser neutro a ser básico, alterando consigo la capacitación espermática, así como también, puede llegar a influir en la fisiología y morfología de los espermatozoides.

Otro componente que puede ser afectado es el Zinc (Zn), el cual es secretado por la próstata, siendo este, uno de los componentes de las defensas frente a microorganismos y el responsable de la estabilidad de la cromatina espermática, favoreciendo de esta manera a la estructura cuaternaria de la cromatina, donde esta, durante el proceso de la espermatogénesis y el paso de los espermatozoides por el epidídimo se compacta (Motrich et al., 2018; Olivera Ángel et al., 2006; Zeyad et al., 2018).

Al ser el Zinc un componente principal para la protección de la cromatina, no hay estudios que determinen con exactitud y en qué medida, algunos microorganismos como

*Lactobacillus*, *Gardnerella*, *Prevotella* y *Staphylococcus* puedan beneficiar, modificar o alterar el contenido de este ion, haciendo que la cromatina de los espermatozoides se altere (en el caso de invasión por *Prevotella* y *Staphylococcus* como posibles oportunistas de la microbiota seminal), produciendo de esta manera daños irreparables, haciendo que el proceso de fecundación no sea adecuado.

### **5.6 Perspectivas a futuro.**

En la actualidad, se tiene conocimiento de que el microbioma del sistema reproductor masculino puede llegar a afectar la calidad seminal y con ello el éxito reproductivo no solamente a nivel del hombre, sino que también, llegar a influir en la salud y reproducción de la mujer.

En esta revisión, resaltamos el hecho de que 4 principales géneros bacterianos pueden estar a favor y en contra de ciertos parámetros de la calidad seminal, pero, hay que destacar que hay otros microorganismos como las *Proteobacterias* (las cuales han sido encontradas en muestras de pacientes que presentan hiperviscosidad (Monteiro et al., 2018)), pueden llegar a influir en el deterioro de la movilidad espermática, lo cual nos deja un interrogante de cómo en realidad puede estar afectando este parámetro seminal la invasión de este microorganismo que generalmente se encuentra en mayor representación a nivel intestinal.

Aunque los autores del anterior estudio acreditan en su metodología el proceso de recolección de las muestras y su asepsia, hay que investigar más a fondo cómo hace este género bacteriano para poder llegar a invadir el sistema reproductor masculino sin causar sintomatología clínica alguna ni, ocasionalmente, llegar a disminuir la calidad seminal por medio del aumentando de la hiperviscosidad. Habría que profundizar más sobre el efecto que tiene este microorganismo en el semen, por medio de estudios de detección como la NGS ARN16s en muestras hiperviscosas, en pacientes con y sin ningún proceso de alteración a nivel de fertilidad masculina.

Por otra parte, hay que resaltar que el género de *Pseudomonas* empieza a generar interrogantes sobre su presencia en cultivos de semen de pacientes con oligoastenoteratozoospermia (Monteiro et al., 2018), ya que si se llegara a demostrar por

medio de diferentes ensayos clínicos en muestras más numerosas, se estaría determinando una posible causa y, por ende, determinar un tratamiento eficaz para los varones que puedan presentar oligoastenoteratozoospermia.

En caso de tener más evidencia que demuestre no solamente los efectos de los 4 principales géneros bacterianos en la calidad seminal que proponemos en este estudio, habría que sumar también los efectos que puedan generar la presencia de *Proteobacterias* y *Pseudomonas* en el semen. Para esto, sería ideal llegar a tener en todo laboratorio de reproducción, pruebas o convenios con laboratorios de microbiología clínica para la detección de estas bacterias, y así poder llegar a demostrar posibles causantes de disminución de parámetros seminales en pacientes con problemas de fertilidad.

También, sería de gran ayuda que las diferentes instituciones señeras en reproducción asistida puedan establecer índices biológicos de referencia sobre cada uno de los géneros bacterianos aquí mencionados, ya que con esto se empezarían a clasificar las muestras de estos pacientes. Estos índices biológicos de referencia se podrían establecer por medio de exámenes como la coloración de Gram y la detección microbiológica directa. La primera sería para llegar a establecer tablas equivalentes a las de los parámetros de Nugent, donde se puntúa de acuerdo con el tipo de variación del microbioma (en este caso, aplicaría para la puntuación del microbioma seminal detectado en la coloración de Gram). Y la segunda sería para la detección de el microorganismo causante del problema, como las técnicas del cultivo seminal, PCR y NGS ARN16s. No obstante, la presencia de un microorganismo detectada por NGS ARN16s o PCR, no significa que ese organismo esté ejerciendo alguna acción. Las dos técnicas referidas detectan sólo la presencia de los microorganismos, pero faltan estudios sobre cuáles de ellos géneros bacterianos aquí mencionados estarían ejerciendo el papel patógeno, y cuáles el benéfico.

## 6. CONCLUSIONES.

- Microorganismos como *Lactobacillus* y *Gardnerella*, en niveles no alterados pueden ser indicio de buena calidad espermática.
- Una alta prevalencia de *Prevotella*, suele ir acompañada de una baja presencia de *Lactobacillus* y *Gardnerella*, por lo que puede ser inductora de mala calidad seminal. El género *Staphylococcus*, ejerce en las muestras de semen una influencia indeterminada hasta el momento, al ser integrante de la microbiota corporal.
- La evaluación microbiológica del semen manejado en las clínicas de reproducción asistida ayudaría a determinar las alteraciones de la microbiota y su influencia en la infertilidad masculina.

## 7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Agarwal, A., Rana, M., Qiu, E., AlBunni, H., Bui, A. D., & Henkel, R. (2018). Role of oxidative stress, infection and inflammation in male infertility. *Andrologia*, *50*(11), 1–13. <https://doi.org/10.1111/and.13126>
- Altmäe, S., Franasiak, J. M., & Mändar, R. (2019). The seminal microbiome in health and disease. *Nature Reviews Urology*, *16*(12), 703–721. <https://doi.org/10.1038/s41585-019-0250-y>
- ASEBIR. 1 Edición. (2017). *CUADERNOS DE ANDROLOGÍA. Contaminación ambiental y manejo del estrés oxidativo en el factor masculino.*
- Barbonetti, A., Cinque, B., Vassallo, M. R. C., Mineo, S., Francavilla, S., Cifone, M. G., & Francavilla, F. (2011). Effect of vaginal probiotic lactobacilli on in vitro-induced sperm lipid peroxidation and its impact on sperm motility and viability. *Fertility and Sterility*, *95*(8), 2485–2488. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.03.066>
- Baud, D., Pattaroni, C., Vulliemoz, N., Castella, V., Marsland, B. J., & Stojanov, M. (2019). Sperm microbiota and its impact on semen parameters. *Frontiers in Microbiology*, *10*(FEB), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00234>
- Berdugo, J., Andrade, F., & Cardona, W. (2009). Grupo Reproducción. Universidad de Antioquia. Medellín. Colombia. Unidad de Investigación Seminal. Laboratorio Homero Soares. Petrópolis. RJ. Brasil. *Andrologia*, *62*(8), 646–650.
- Camejo, M. I., Segnini, A., & Proverbio, F. (2001). Interleukin-6 (IL-6) in seminal plasma of infertile men, and lipid peroxidation of their sperm. *Archives of Andrology*, *47*(2), 97–101. <https://doi.org/10.1080/014850101316901280>
- Cooper, T. G., Noonan, E., von Eckardstein, S., Auger, J., Baker, H. W. G., Behre, H. M., Haugen, T. B., Kruger, T., Wang, C., Mbizvo, M. T., & Vogelsong, K. M. (2009). World Health Organization reference values for human semen characteristics. *Human Reproduction Update*, *16*(3), 231–245. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmp048>
- Dousset, B., Hussenet, F., Daudin, M., Bujan, L., Foliguet, B., & Nabet, P. (1997). Seminal

- cytokine concentrations (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, sR IL-2, sR IL-6), semen parameters and blood hormonal status in male infertility. *Human Reproduction*, 12(7), 1476–1479. <https://doi.org/10.1093/humrep/12.7.1476>
- Eggert-Kruse, W., Boit, R., Rohr, G., Aufenanger, J., Hund, M., & Strowitzki, T. (2001). Relationship of seminal plasma interleukin (IL) -8 and IL-6 with semen quality. *Human Reproduction*, 16(3), 517–528. <https://doi.org/10.1093/humrep/16.3.517>
- Hou, D., Zhou, X., Zhong, X., Settles, M. L., Herring, J., Wang, L., Abdo, Z., Forney, L. J., & Xu, C. (2013). Microbiota of the seminal fluid from healthy and infertile men. *Fertility and Sterility*, 100(5), 1261–1269. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.07.1991>
- Jungwirth, A., Giwercman, A., Tournaye, H., Diemer, T., Kopa, Z., Dohle, G., & Krausz, C. (2012). European association of urology guidelines on male infertility: The 2012 update. *European Urology*, 62(2), 324–332. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2012.04.048>
- Keck, C., Gerber-Schäfer, C., Clad, A., Wilhelm, C., & Breckwoldt, M. (1998). Seminal tract infections: Impact on male fertility and treatment options. *Human Reproduction Update*, 4(6), 891–903. <https://doi.org/10.1093/humupd/4.6.891>
- Kermes, K., Punab, M., Lõivukene, K., & Mändar, R. (2003). Anaerobic seminal fluid micro-flora in chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome patients. *Anaerobe*, 9(3), 117–123. [https://doi.org/10.1016/S1075-9964\(03\)00085-4](https://doi.org/10.1016/S1075-9964(03)00085-4)
- La Vignera, S., Condorelli, R. A., Vicari, E., Salmeri, M., Morgia, G., Favilla, V., Cimino, S., & Calogero, A. E. (2013). Microbiological investigation in male infertility: A practical overview. *Journal of Medical Microbiology*, 63(PART 1), 1–14. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.062968-0>
- Mändar, R., Türk, S., Korrovits, P., Ausmees, K., & Punab, M. (2018). Impact of sexual debut on culturable human seminal microbiota. *Andrology*, 6(3), 510–512. <https://doi.org/10.1111/andr.12482>
- Mändar, Reet, Punab, M., Borovkova, N., Lapp, E., Kiiker, R., Korrovits, P., Metspalu, A.,

- Krjutškov, K., Nlvak, H., Preem, J. K., Oopkaup, K., Salumets, A., & Truu, J. (2015). Complementary seminovaginal microbiome in couples. *Research in Microbiology*, *166*(5), 440–447. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2015.03.009>
- Mändar, Reet, Punab, M., Korrovits, P., Türk, S., Ausmees, K., Lapp, E., Preem, J. K., Oopkaup, K., Salumets, A., & Truu, J. (2017). Seminal microbiome in men with and without prostatitis. *International Journal of Urology*, *24*(3), 211–216. <https://doi.org/10.1111/iju.13286>
- Merino, G., Carranza-Lira, S., Murrieta, S., Rodriguez, L., Cuevas, E., & Moran, C. (1995). Bacterial infection and semen characteristics in infertile men. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, *35*(1), 43–47. <https://doi.org/10.3109/01485019508987852>
- Monteiro, C., Marques, P. I., Cavadas, B., Damião, I., Almeida, V., Barros, N., Barros, A., Carvalho, F., Gomes, S., & Seixas, S. (2018). Characterization of microbiota in male infertility cases uncovers differences in seminal hyperviscosity and oligoasthenoteratozoospermia possibly correlated with increased prevalence of infectious bacteria. *American Journal of Reproductive Immunology*, *79*(6), 1–9. <https://doi.org/10.1111/aji.12838>
- Motrich, R. D., Salazar, F. C., Breser, M. L., Mackern-Oberti, J. P., Godoy, G. J., Olivera, C., Paira, D. A., & Rivero, V. E. (2018). Implications of prostate inflammation on male fertility. *Andrologia*, *50*(11), 1–7. <https://doi.org/10.1111/and.13093>
- Murray Patrick R.; Rosenthal Ken S.; Pfaüer Michael A. (2014). *Microbiología médica. Edición en español de la 7 edición de la obra original en inglés Medical Microbiology*. (7th ed., Vol. 53, Issue 9). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Neri-vidaurri, P., Fragoso-cuiruz, F., Rojas-hernández, E. M., & Vielma-valdez, A. (2018). *Efecto del espermocultivo positivo en los parámetros seminales en los varones de un programa de reproducción asistida Effect of positive sperm culture on seminal parameters in males of an assisted reproduction program*. *9*(4), 129–137.
- Olivera Ángel, M., Ruíz, T., Tarazona Morales, A., & Giraldo Echeverri, C. (2006). El

- espermatozoide, desde la eyaculación hasta la fertilización. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 19(4), 426–436.
- Pergialiotis, V., Karampetsou, N., Perrea, D. N., Konstantopoulos, P., & Daskalakis, G. (2018). The Impact of Bacteriospermia on Semen Parameters: A Meta-Analysis. *Journal of Family & Reproductive Health*, 12(2), 73–83.
- Peterson, J., Garges, S., Giovanni, M., McInnes, P., Wang, L., Schloss, J. A., Bonazzi, V., McEwen, J. E., Wetterstrand, K. A., Deal, C., Baker, C. C., Di Francesco, V., Howcroft, T. K., Karp, R. W., Lunsford, R. D., Wellington, C. R., Belachew, T., Wright, M., Giblin, C., ... Guyer, M. (2009). The NIH Human Microbiome Project. *Genome Research*, 19(12), 2317–2323. <https://doi.org/10.1101/gr.096651.109>
- Ricci, S., De Giorgi, S., Lazzeri, E., Luddi, A., Rossi, S., Piomboni, P., De Leo, V., & Pozzi, G. (2018). Impact of asymptomatic genital tract infections on in vitro Fertilization (IVF) outcome. *PLoS ONE*, 13(11), 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207684>
- Schulz, M., Zambrano, F., Schuppe, H. C., Wagenlehner, F., Taubert, A., Ulrich, G., Sánchez, R., & Hermosilla, C. (2019). Determination of leucocyte extracellular traps (ETs) in seminal fluid (ex vivo) in infertile patients—A pilot study. *Andrologia*, 51(9), 1–8. <https://doi.org/10.1111/and.13356>
- Schuppe, H. C., Pilatz, A., Hossain, H., Diemer, T., Wagenlehner, F., & Weidner, W. (2017). Urogenital infection as a risk factor for male infertility. *Deutsches Arzteblatt International*, 114(19), 339–346. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2017.0339>
- Suárez, J. P., Castaño, A. V., Quintana, G. J. S., Martínez, A., Palacio, J. R., Giraldo, M., Cadavid, Á., & Maya, W. C. (2015). Espermocultivo: Crecimiento bacteriano del eyaculado y su relación con los parámetros seminales. *Revista Chilena de Obstetricia y Ginecología*, 80(1), 33–40. <https://doi.org/10.4067/s0717-75262015000100005>
- Vásquez, F. R., & Vásquez, D. E. (2007). Espermograma y su utilidad clínica. *Salud Uninorte*, 23(2), 220–230.
- Weidner, W., Pilatz, A., Diemer, T., Schuppe, H. C., Rusz, A., & Wagenlehner, F. (2013).

Male urogenital infections: Impact of infection and inflammation on ejaculate parameters. *World Journal of Urology*, 31(4), 717–723. <https://doi.org/10.1007/s00345-013-1082-7>

Weng, S. L., Chiu, C. M., Lin, F. M., Huang, W. C., Liang, C., Yang, T., Yang, T. L., Liu, C. Y., Wu, W. Y., Chang, Y. A., Chang, T. H., & Huang, H. Da. (2014). Bacterial communities in semen from men of infertile couples: Metagenomic sequencing reveals relationships of seminal microbiota to semen quality. *PLoS ONE*, 9(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110152>

Willén, M., Holst, E., Myhre, E. B., & Olsson, A. M. (1996). The bacterial flora of the genitourinary tract in healthy fertile men. *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology*, 30(5), 387–393. <https://doi.org/10.3109/00365599609181315>

Zeyad, A., Hamad, M. F., & Hammadeh, M. E. (2018). The effects of bacterial infection on human sperm nuclear protamine P1/P2 ratio and DNA integrity. *Andrologia*, 50(2), 1–9. <https://doi.org/10.1111/and.12841>