

# Evaluación de la eficacia de la levofloxacin comparando dos esquemas terapéuticos y estudio de la capacidad oxidante del plasma seminal en pacientes con infección del tracto genital

*Evaluation of the effectiveness of levofloxacin comparing two therapeutic schemes and study of the oxidative capacity of the seminal plasma in patients with seminal tract infection*

Claudio Terradas, Marcelo Rodríguez Peña, Ernesto Grasso, Alberto Nagelberg

Capítulo de Fertilidad Masculina de la Sociedad Argentina de Urología.

**Introducción:** Nos proponemos determinar la eficacia de la levofloxacin en la erradicación de patógenos del tracto genital en pacientes infértiles con dos regímenes de duración diferente y evaluar los cambios en los parámetros seminales inducidos por el tratamiento y su correlación con marcadores de stress oxidativo.

**Materiales y métodos:** Estudiamos de manera prospectiva 50 varones infértiles con infección seminal. Se realizaron espermogramas antes y después del tratamiento antibiótico. Se evaluaron los parámetros seminales así como también la concentración de óxido nítrico en plasma seminal.

**Resultados:** Observamos diferencias significativas entre ambos esquemas de tratamiento en la tasa de cura bacteriológica, siendo del 84,7% para el esquema de 28 días y del 91,7% para el esquema de 56 días. El recuento y la movilidad espermáticas mejoraron significativamente luego del tratamiento antibiótico. Por el contrario, la morfología espermática y la leucocitospermia no sufrieron cambios significativos. El índice de necrozoospermia descendió significativamente luego del tratamiento. Observamos una correlación directa entre la concentración de óxido nítrico y necrozoospermia e inversa con la movilidad espermática translativa.

**Conclusión:** El tratamiento antibiótico con levofloxacin mejora los parámetros seminales en pacientes infectados, siendo mayor la tasa de cura bacteriológica cuando se prolonga el tiempo de tratamiento. El stress oxidativo se relaciona con disminución de la motilidad y aumento de la necrozoospermia en pacientes infectados.

**PALABRAS CLAVE:** Infección vía seminal, levofloxacin, óxido nítrico, infertilidad masculina.

**Introduction:** Antibiotics are the principal treatment of seminal tract infections. Our objective is to determine the efficacy of levofloxacin in the eradication of genital tract pathogens in infertile patients by two different duration of treatment and to elucidate changes in different seminal parameters as well of presence of markers of oxidative stress.

**Materials and Methods:** We studied prospectively 50 males patients with seminal tract infections. All patients were treated with levofloxacin 500 mg orally along 28 or 56 days. Seminograms were performed before and after treatment and seminal parameters and nitric oxide levels in seminal plasma were measured.

**Results:** We observed significative differences between both diagrams of treatment. Sperm count and motility increased significantly after treatment. But sperm morphology does not improve after antibiotic treatment. Necrosperry index but not leukocytospermia had been reduced after levofloxacin. Nitric oxide levels have a direct correlation with sperm count and inverse with motility.

**Conclusion:** Treatment with levofloxacin improves seminal parameters in infertile patients with spermatric tract infection with better results in the patients with 2 months of treatment. Oxidative stress affects motility and necrosperry in infected patients.

**KEY WORDS:** Seminal tract infections, levofloxacin, nitric oxide, male infertility.

## INTRODUCCIÓN

Se considera que las infecciones agudas y crónicas y la consecuente inflamación del aparato genital masculino pueden alterar las funciones de los espermatozoides y comprometer la fertilidad. Los antibióticos constituyen el tratamiento principal de las infecciones de testículos y glándulas seminales anexas. Sin embargo, no hay una estrategia uniforme en cuanto a la duración de este tratamiento tomando en cuenta evidencia clínica de tasas de curación iniciales, recaídas y persistencia bacteriana. La indicación de un antibiótico puede variar según el médico prescriptor así como la duración del mismo, siendo necesario considerar adecuadamente la amplitud del espectro antibacteriano, los patrones de resistencia, el tiempo necesario para erradicar el patógeno y la capacidad de alcanzar niveles bactericidas en el tracto genital. Se ha sugerido que la supervivencia bacteriana en tejido prostático se establece en un medio protegido por biofilms, permitiendo resistir por tiempo prolongado el ataque antibiótico, lo que condiciona la duración del tratamiento.

En un trabajo previo multicéntrico comparativo se pudo establecer que con un mes de tratamiento la tasa de eficacia clínica fue del 75% para la levofloxacina y del 72,8 % para la ciprofloxacina, con tasas de recidiva similares para ambos tratamientos. Queda por evaluar entonces si tratamientos más prolongados pueden conseguir mejores resultados<sup>1</sup>.

Son objetivos del presente trabajo:

- 1) Determinar la eficacia de la levofloxacina en la erradicación de patógenos del tracto genital en pacientes infértiles con dos regímenes de diferente duración utilizando levofloxacina.
- 2) Evaluar los cambios en los parámetros bioquímicos seminales que se correlacionen con la cura bacteriológica.
- 3) Estudiar los niveles de óxido nítrico (ON) en el semen de estos pacientes antes del tratamiento antibiótico y correlacionarlo con las variables espermáticas de los pacientes infectados.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Criterios de inclusión

El estudio fue prospectivo y multicéntrico. Se incluyeron 50 varones infértiles con infección seminal determinada bacteriológicamente, con edad entre 28 y 50 años. El reclutamiento y estudio inicial de los pacientes se llevó a cabo en los centros asistenciales en donde

ejercen los distintos profesionales que participan en el estudio, quienes son miembros del Capítulo de Fertilidad Masculina de la SAU.

### Criterios de exclusión

Azoospermia, HIV, insuficiencia renal, alergia a quinolonas, diabetes no compensada, tratamiento previo con antibiótico o antioxidantes.

### Análisis del semen

Por cada paciente se realizaron dos espermogramas antes y después del tratamiento antibiótico. Las muestras fueron recolectadas por masturbación, en un frasco estéril luego de 48 a 72 hs. de abstinencia sexual. Fueron incubadas en estufa de cultivo a 37° C por 30 minutos hasta la completa licuefacción seminal. Luego se evaluaron las características espermáticas (concentración, motilidad y morfología). La morfología espermática se evaluó siguiendo ambos criterios (OMS y Kruger) (WHO, 1999; Kruger y cols., 1986).

### Determinación de la concentración de ON

Como índice de la producción de ON en las vías espermáticas se determinó la concentración de nitritos en el plasma seminal de todos los pacientes y en controles normales utilizando la técnica de Griess (Tracey y cols., 1995). Brevemente, alícuotas de 100 µl de los medios de incubación se reaccionaron con 50 µl de ácido sulfanílico al 1% y luego con 50 µl de clorhidrato de N-(1-naftil) etildiamina (NEDA) al 0,1%. Las incubaciones se realizaron por triplicado en placas de 96 hoyos y la densidad óptica fue leída a los 10 minutos de la adición de los reactivos, en un espectrofotómetro de placa en una longitud de onda de 600 nm. La concentración de nitritos (µM) fue determinada empleando nitrito de sodio como Standard.

### Bacteriología

Se recolectaron muestras en frascos estériles de primer chorro miccional y de semen por masturbación, previas 72 hs. de abstinencia sexual. Se consideró el semen positivo cuando el recuento de colonias era  $\geq 1$  log<sub>10</sub> con respecto al recuento de la orina de la primera porción, siguiendo las pautas del Consenso Argentino sobre Infecciones del tracto genital<sup>2</sup>.

## Tratamiento

Los pacientes fueron asignados en forma randomizada en dos esquemas de tratamiento:

Grupo a: 25 pacientes con Levofloxacina 500 mg por 28 días.

Grupo b: 25 pacientes con Levofloxacina 500 mg por 56 días.

## Análisis estadístico

Se aplicaron test para analizar todas las variables utilizando un programa informático (Graphpad- Instat, USA). Se consideró significativo un valor de  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

Se observaron diferencias significativas entre ambos esquemas de tratamiento con tasa de curación del 84,7% para el esquema de 28 días y del 91,7% para el esquema de 56 días.

El recuento espermático mejoró significativamente luego del tratamiento antibiótico (Pretrat:  $6,84 \pm 8,83$  vs. Postrat:  $29,1 \pm 18,32 \times 10^6/\text{ml}$ ;  $p: 0,043$ ).

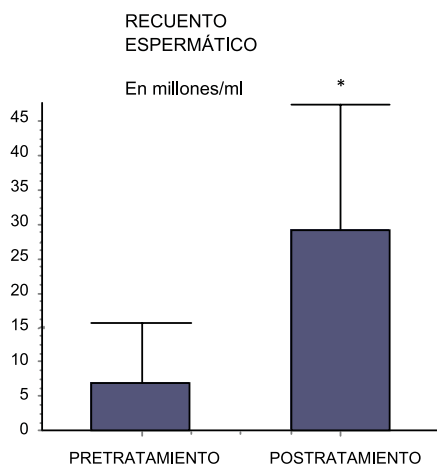


Figura 1. Incremento del recuento de espermatozoides postratamiento.

De la misma manera la movilidad translativa espermática (movilidad A+B) mejoró en forma significativa luego del tratamiento antibiótico (Pretrat:  $29,71 \pm 30,10$  vs. Postrat:  $60,5 \pm 17,76\%$ ;  $p: 0,029$ ).

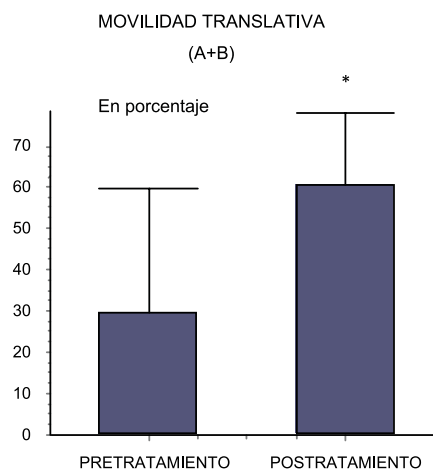


Figura 2. Movilidad translativa de los espermatozoides.

Por el contrario, la morfología espermática no sufrió cambios significativos luego del tratamiento antibiótico (Pretrat:  $5,16 \pm 6,99$  vs. Postrat:  $7,16 \pm 6,99\%$  de formas normales según criterio de Kruger;  $p: 0,63$ ).

El índice de necrozoospermia (porcentaje de espermatozoides muertos) descendió significativamente luego del tratamiento con levofloxacina (Pretrat:  $61,5 \pm 34,57$  vs. Postrat:  $16,33 \pm 11,29\%$ ;  $p: 0,05$ ).

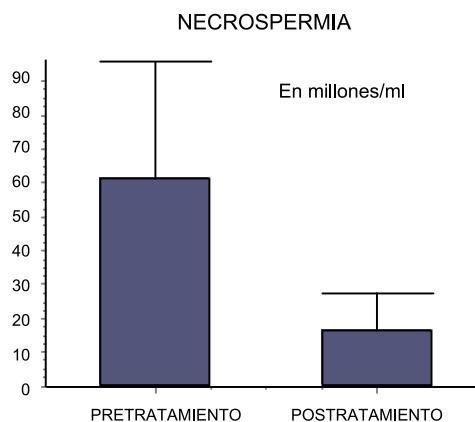
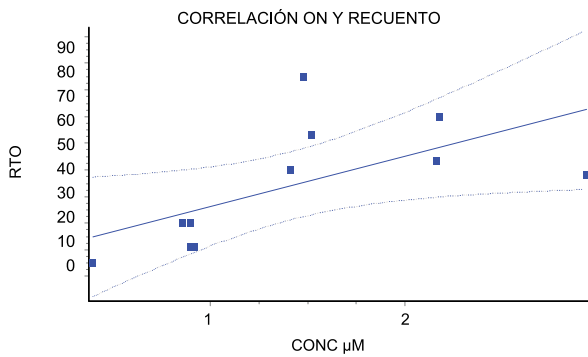


Figura 3. Necrozoospermia pre y postratamiento.

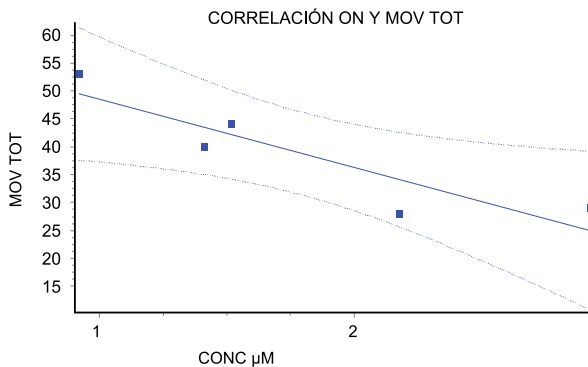
Sin embargo, los parámetros de leucocitospermia no se modificaron significativamente (Pretrat:  $1,50 \pm 1,32$  vs. Postrat:  $1,76 \pm 1,52 \times 10^6/\text{ml}$ ;  $p: 0,78$ ).

En este grupo de pacientes se observó una correlación directa entre la concentración de ON y el recuento espermático antes de iniciarse el tratamiento antibiótico.



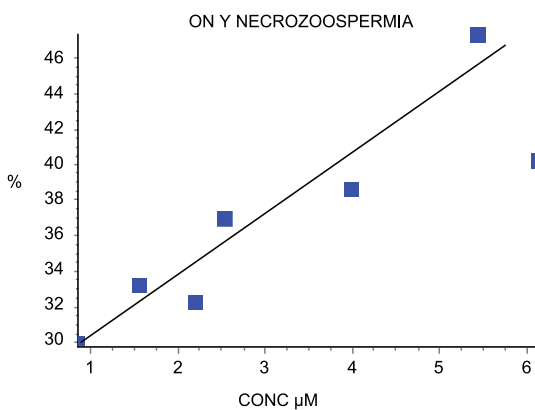
**Figura 4.** Correlación entre niveles de ON en semen y recuento de espermatozoides.

También hubo una correlación inversa entre la concentración de ON y la movilidad espermática A+B.



**Figura 5.** Correlación entre niveles de ON en semen y motilidad total de los espermatozoides.

Observamos una directa correlación entre la concentración de ON y los parámetros de necrozoospermia.



**Figura 6.** Correlación entre niveles de ON en semen y nivel de necrozoospermia.

## DISCUSIÓN

Numerosos estudios se han ocupado de la prevalencia de infecciones seminales en varones infértiles y de los probables mecanismos patogénicos sobre la fertilidad. Ya ha sido establecido el rol de la infección bacteriana en la génesis de citoquinas proinflamatorias que pueden causar efectos deletéreos sobre la calidad seminal<sup>3</sup>. Se han comprobado efectos aglutinantes sobre los espermatozoides con algunas especies bacterianas<sup>4</sup>. También se le ha adjudicado un rol patogénico a la disfunción de glándulas anexas<sup>5</sup>. Asimismo se ha investigado la generación de radicales libres causantes de stress oxidativo en experiencias “in vitro”<sup>6</sup>.

Sin embargo, no hay un standard establecido acerca del antibiótico a utilizar y la duración del tratamiento y el impacto que puede acarrear el stress oxidativo por la presencia bacteriana en el semen en varones infértiles en algunas variables espermáticas. Además, la persistencia bacteriana luego del tratamiento antibiótico configura un problema aun no resuelto en las infecciones genitales masculinas y en el caso del varón infértil presupone la persistencia de un factor condicionante de su infertilidad.

Dentro de los antibióticos que penetran en el medio prostático, las fluoroquinolonas pueden alcanzar una concentración en el medio alcalino seminal varias veces superior al plasma sanguíneo, por lo que se constituyeron en un grupo de probada eficacia. Si bien a causa de su mayor antigüedad, la experiencia acumulada en tratamientos es superior con la ciprofloxacina, en los últimos años ha crecido la evidencia a favor de la levofloxacina. En investigación publicada, la concentración de norfloxacina, ciprofloxacina, ofloxacina y levofloxacina informada en líquido prostático fue de 0,08, 0,18, 0,66 y 1,42 mg/l, respectivamente, con marcada diferencia a favor de esta última<sup>7</sup>. Un dato importante es que la levofloxacina incorpora en su espectro antibacteriano, a diferencia de quinolonas de generaciones previas, su acción efectiva contra *U. urealyticum*, *M. genitalium* y *C. trachomatis*.

Estudios “in vitro” han demostrado que el incremento de los niveles de ON disminuye la motilidad espermática y este hecho ha sido corroborado en patologías específicas como el varicocele<sup>8</sup>. En nuestra serie, hemos podido observar la correlación entre este marcador de stress oxidativo y la alteración en pacientes infectados de la motilidad y la necrozoospermia, lo que configuraría uno de los mecanismos patogénicos en las infecciones genitales.

Asimismo, se ha logrado verificar que el tratamiento antibiótico en el presente trabajo mejora parámetros de concentración, motilidad y necrozoospermia. No

se verificaron cambios significativos en la morfología espermática. Como dato adicional, en nuestra serie, no hemos utilizado fármacos adicionales tales como antiinflamatorios o antioxidantes que según otros investigadores agregados al tratamiento antibiótico pueden mejorar los parámetros seminales en infecciones del tracto seminal<sup>9,10,11,12</sup>.

Finalmente, el tratamiento con levofloxacina 500 mg/d tuvo mejor tasa de cura bacteriológica a los 56 días con respecto al régimen de 28 días.

Este dato cobra relevancia en la medida que la infección seminal está relacionada con la disminución de la capacidad fértil masculina y su erradicación forma parte del correcto manejo terapéutico de esta condición.

## CONCLUSIONES

El tratamiento antibiótico con levofloxacina mejora algunos parámetros en pacientes infectados con cura bacteriológica, tales como el recuento, la motilidad y la necrozoospermia, en tanto no se modifican otros como la leucocitospermia y la morfología seminales. Es significativamente mayor la tasa de cura bacteriológica cuando se prolonga el tiempo de tratamiento de 28 a 56 días. El stress oxidativo se relaciona con disminución de la motilidad y aumento de la necrozoospermia en pacientes infectados.

Dada la limitación del número de casos, se necesitarían estudios de mayor amplitud para corroborar estas conclusiones.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Bundrick W, Heron SP, Ray P, Schiff WM, Tennenberg AM, Wiesinger BA, Wright PA, Wu SC, Zadeikis N, Kahn JB. Levofloxacin versus ciprofloxacin in the treatment of chronic bacterial prostatitis: a randomized double-blind multicenter study. *Urology* 2003; 62(3):537-41.
2. Santoianni J, Terradas C, Smayevsky J, Nageberg A, Farinati A, Mormandi E y Predari S. 1° Consenso Argentino sobre diagnóstico de las infecciones de las vías espermáticas y glándulas anexas en infertilidad. *Revista Bioquímica y Patología Clínica* 2002; 66(1):9-27.
3. Comhaire FH, Mahmoud AM, Depuydt CE, Zalata AA, Christophe AB. Mechanisms and effects of male genital tract infection on sperm quality and fertilizing potential: the andrologist's viewpoint. *Hum Reprod Update* 1999; 5(5):393-8.
4. Wølner-Hanssen P, Mårdh PA. In vitro tests of the adherence of *Chlamydia trachomatis* to human spermatozoa. *Fertil Steril.* 1994; 42(1):102-7.
5. Christianse E, Purvis K. Diagnosis of chronic abacterial prostatic-vesiculitis by rectal ultrasonography in relation to symptoms and findings. *Br J Urol.* 1991; 67.
6. Fraczek M, Szumala-Kakol A, Jedrzejczak P, Kamieniczna M, Kurpisz M. Bacteria trigger oxygen radical release and sperm lipid peroxidation in vitro model of semen inflammation. *Fertil Steril.* 2007; 88(4 Suppl):1076-85.
7. Wagenlehner F, Diemer D, Naber KG, Weidner W. Chronic bacterial prostatitis: diagnosis, therapy and influence on the fertility status. *Andrologia* 2008; 40, 100-104.
8. Ozbek E, Ilbey YY, Simşek A, Cekmen M, Balbay MD. Preoperative and postoperative seminal nitric oxide levels in patients with infertile varicocele. *Arch Ital Urol Androl.* 2009; 81(4):248-50.
9. Vicari E, Calogero A. Effects of treatment with carnitines in infertile patients with prostatic-vesiculo-epididymitis. *Human Reproduction* 2001; 16(11): 2338-2342.
10. Jakob E, Lackner, Ralf Herwig, Jörg Schmidbauer, Georg Schatzl, Christian Kratzik, Michael Marberger. Correlation of leukocytospermia with clinical infection and the positive effect of antiinflammatory treatment on semen quality. *Fertil Steril.* 2006; 86(3):601-5.
11. Murphy AB, Macejko A, Taylor A, Nadler RB. Chronic prostatitis: management strategies. *Drugs* 2009; 69(1):71-84.
12. Vicari E, La Vignera S, Calogero AE. Antioxidant treatment with carnitines is effective in infertile patients with prostatic-vesiculo-epididymitis and elevated seminal leukocyte concentrations after treatment with nonsteroidal anti-inflammatory compounds. *Fertil Steril.* 2002; 78(6):1203-8.