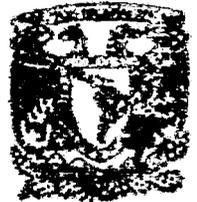




# Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química

**"ESTUDIO POSTCOITAL DE LA FLORA CERVICO-  
VAGINAL Y SU ACCION SOBRE LA MOTILIDAD  
Y VITALIDAD DE LOS ESPERMATOZOOS"**



EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUIMICA

## Tesis Mancomunada

Que para obtener el Título de  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

p r e s e n t a n

JUANA MARTHA MIRELES ROCHA  
BEATRIZ SANTAMARIA RAMIREZ

México, D. F.

1983



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# C O N T E N I D O

	Pág.
I. INTRODUCCION	1
II. OBJETIVOS	3
III. GENERALIDADES	4
III.1. Flora del tracto genital femenino	4
III.2. Bacteriología del líquido seminal	8
III.3. Espermatobioscopia	10
III.3. a) Espermatobioscopia directa	11
III.3. b) Espermatobioscopia indirecta	16
IV. PARTE PRACTICA	23
IV.1. Toma de muestra	23
IV.2. Procesamiento de la muestra	23
V. RESULTADOS	31
VI. CONCLUSIONES	44
VII. APENDICES	48
VIII. BIBLIOGRAFIA	70

## I. INTRODUCCION

Cuando por razones socioeconómicas los estados o las sociedades persuaden para llevar el control de la natalidad, esto no se aplica a aquellos seres con problemas para concebir un hijo. En un matrimonio el deseo de procrear un hijo y no lograrlo, puede acarrear hostilidad entre la misma pareja y hacia otros seres, angustias y frustraciones, sentimientos que generan agresión. En estos casos siempre encontramos a la pareja inmersa en la impaciente búsqueda de la concepción deseada.

Estas situaciones provocan que la pareja estéril se constituya como un problema social, de ahí, la importancia de brindar la ayuda necesaria a estos matrimonios.

En la actualidad alrededor del 10% de los matrimonios se enfrentan al problema de esterilidad conyugal.

Hasta ahora la esterilidad conyugal continúa como un problema desconcertante y complejo, al cual contribuyen la gran multiplicidad de factores etiológicos que la provocan, siendo en ocasiones de origen masculino y en otras, femenino; algunos de estos factores ya han sido bien explorados, sin embargo, -- hay casos en los cuales se diagnostica esterilidad inexplicada.

Existen antecedentes en los que se enfatiza lo importante que puede ser la presencia de bacterias en la vagina, el cér--

vix y el semen, al grado de que algunas cepas bacterianas han -  
llegado a ser consideradas como espermatocidas.

Numerosos investigadores se han dedicado al estudio de las causas que provocan la esterilidad conyugal, por nuestra parte, deseamos contribuir con el presente trabajo que consiste, fundamentalmente, en investigar la presencia de bacterias en contenidos post-coitales y su efecto sobre los espermatozoos, con lo que podremos determinar si esto puede ser una causa de esterilidad conyugal y la aplicación de los estudios microbiológicos para su resolución.

Sin importar el origen de la esterilidad conyugal, la pareja tiene igual responsabilidad durante el tratamiento, ya que para poder proporcionar ayuda al matrimonio se le debe considerar como unidad reproductora.

## II. O B J E T I V O S

1. Aislamiento e identificación de la flora bacteriana presente en:
  - a) el contenido vaginal recogido 15 minutos después de un coito normal,
  - b) el contenido endocervical recogido alrededor de dos horas después de efectuado el coito.
2. Relacionar los distintos tipos de flora bacteriana encontrados con la vitalidad cinética de los espermatozoos presentes en la muestra.
3. Inocular muestras seminales ricas en espermatozoos, con motilidad mayor del 50%, con algunas de las cepas bacterianas ya identificadas. Observar el efecto de estas cepas sobre la motilidad de los espermatozoos.
4. Determinar la posible aplicación práctica de los estudios microbiológicos en la resolución de casos de esterilidad conyugal.

### III. GENERALIDADES

#### III.1. Flora del Tracto Genital Femenino

Siempre ha existido gran interés en conocer la naturaleza de la flora microbiana vaginal. En 1892 fue publicado el primer estudio efectuado por Döderlein, en el cual refiere que la flora vaginal de mujeres saludables está constituida principalmente por bacilos Gram-positivos -Bacilo de Döderlein-, siendo considerada como una entidad homogénea. A partir de entonces y hasta la fecha, han sido realizadas numerosas investigaciones acerca de la flora vaginal, que, con el desarrollo de nuevas técnicas de cultivo e identificación, han revelado que la vagina puede estar habitada por una gran variedad de microorganismos (25).

Actualmente se considera que la flora bacteriana del tracto genital femenino está constituida por bacilos Gram-positivos (lactobacilos) y Staphylococcus epidermidis. El pH vaginal varía considerablemente de acuerdo con la flora bacteriana y la cantidad de glucógeno presente en el epitelio, este factor, a su vez, depende de la función ovárica; en la mayoría de los casos predominan lactobacilos (Bacilo de Döderlein), junto con bacilos intestinales aerobios, especies de Bacteroides y -Haemophilus, Streptococcus faecalis y Staphylococcus epidermi-

dis.

Después del nacimiento, la flora normal de la vagina está constituida por lactobacilos, los que persisten mientras el pH de la vagina está ácido, el cual se mantiene así mientras dura el efecto de los estrógenos que pasivamente pasaron de la sangre de la madre a la niña. En las niñas, antes de la pubertad, la flora vaginal está compuesta por cocos y bacilos, en la pubertad y durante los años de fertilidad, predominan los lactobacilos que contribuyen a mantener la acidez de las secreciones vaginales, impidiendo el establecimiento de muchos otros microorganismos en la vagina; tras la menopausia disminuye el número de lactobacilos y la flora bacteriana se hace de nuevo mixta.

Mediante el uso de drogas antimicrobianas y otros medicamentos, la flora bacteriana se modifica y el pH de la vagina cambia, los lactobacilos desaparecen y son sustituidos por estreptococos y bacilos coliformes.

El cérvix normal, generalmente es estéril o contiene algunas bacterias, que son idénticas a las encontradas en la porción alta de la vagina.

La flora bacteriana de la vulva es una mezcla de los microorganismos presentes en la piel de esa área y las bacterias de la vagina.

Los microorganismos que se encuentran más comunmente en-

el tracto genital femenino son los que se agrupan en el Cuadro A.

La vaginitis es un cuadro infeccioso que puede aparecer -- cuando hay un desequilibrio frecuentemente de origen hormonal, -- y cuando hay presencia de microorganismos que se agrupan como -- flora patógena o potencialmente patógena y que forman parte del Cuadro A. Las vaginitis que con mayor frecuencia se presentan son las ocasionadas por Trichomonas vaginalis (trichomoniasis), Candida albicans (candidiasis) y las denominadas no específicas. Entre las vaginitis inespecíficas se han diferenciado las producidas por Haemophilus vaginalis y algunas causadas por microorganismos anaerobios. El gonococo y el treponema producen también serias enfermedades en la mujer.

La gran variedad de microorganismos que pueden encontrarse en el tracto genital femenino ha despertado mucho interés por -- saber si estos tienen participación en problemas de fertilidad. Debido a esto se han realizado investigaciones con el fin de determinar si la presencia de bacterias puede o no afectar la motilidad y viabilidad de los espermatozoos.

Matthews y Buxton (31) recalcaron la importancia de realizar un estudio bacteriológico del cérvix, ya que consideraron -- que organismos como Escherichia coli, Streptococcus viridans, -- Streptococcus haemolyticus, Clostridium welchii y Proteus vulgaris actúan como espermaticidas.

Microorganismos	Flora patógena o potencialmente patógena	Flora no patógena
Gram negativos	<u>Neisseria gonorrhoeae</u>	<u>Neisseria catarrhalis</u>
	<u>Haemophilus vaginalis</u>	<u>Neisseria flava</u>
	<u>Haemophilus ducreyi</u>	<u>Neisseria lactamicus</u>
	Bacilos coliformes	<u>Bacteroides</u>
Gram positivos	<u>Staphylococcus aureus</u>	<u>Lactobacillus sp.</u>
	<u>Streptococcus beta</u>	<u>Bacillus subtilis</u>
	<u>haemolyticus</u>	Difteroides
	<u>Peptostreptococcus</u>	<u>Streptococcus</u> no
	<u>Streptococcus</u>	hemolítico
	<u>faecalis</u>	<u>Staphylococcus</u>
		<u>epidermidis</u>
Hongos	<u>Candida albicans</u>	Levaduras
		saprófitas
Protozoarios	<u>Trichomonas vaginalis</u>	
Mycobacteria	<u>Mycobacterium</u>	<u>Mycobacterium</u>
	<u>tuberculosis</u>	<u>smegmatis</u>
Espiroqueta	<u>Treponema pallidum</u>	

Cuadro A. Microorganismos que se encuentran más comunmente en el tracto genital femenino.

En estudios recientes se ha comparado la presencia de bacterias en exudados cervicovaginales de mujeres fértiles e infértiles (14, 15), encontrándose que existe mayor incidencia de especies bacterianas en estas últimas.

Recientemente se piensa que la presencia o ausencia de ciertos microorganismos no es tan importante como la concentración que se encuentre de estos (25).

### III.2. Bacteriología del Líquido Seminal

Se considera necesario hacer una breve descripción de lo que es el semen y su bacteriología, ya que éste forma parte del material biológico empleado en el presente trabajo.

El semen incluye los líquidos del conducto deferente, vesículas seminales, glándula prostática y glándulas mucosas, especialmente las bulbouretrales. La mayor parte del esperma está formada por líquido vesicular seminal (aproximadamente 60%), el último en ser eyaculado, que sirve para mandar los espermatozoos fuera del conducto eyaculador y de la uretra. El líquido prostático de reacción alcalina neutraliza la ligera acidez de otras porciones del semen, confiriéndole un pH ligeramente alcalino, igualmente da al semen el aspecto lechoso, mientras que el líquido de las vesículas seminales y las glándulas mucosas le dan su consistencia peculiar. La enzima coagulante del líquido prostático hace que el fibrinógeno del líquido de la vesí

cula seminal forme un coágulo débil, que se disuelve por la lisis que origina la fibrinolisis formada a partir de la profibrinolisis prostática. En los primeros minutos después de la eyaculación los espermatozoos están relativamente inmóviles, - probablemente por la viscosidad del coágulo, sin embargo, cuando el coágulo se ha disuelto los espermatozoos se vuelven muy-móviles.

Aunque los espermatozoos pueden vivir varias semanas en - las vías genitales masculinas, una vez eyaculados con el semen la máxima duración de su vida es de 24 a 72 horas a la temperatura corporal.

Rodríguez Villa (35) considera que no se puede hablar de una flora huésped habitual del semen puro, ya que éste es estéril al igual que testículos, epidídimo y próstata en condiciones normales. En la próstata (de hombre de edad madura) y en la uretra se pueden encontrar bacterias en condiciones normales, siendo las más frecuentes Staphylococcus epidermidis y bacilos difteromorfos.

El microorganismo más frecuentemente aislado, por medio - de estadística, es Staphylococcus epidermidis; es por esto que muchos investigadores lo consideran como flora normal del semen, sin embargo, existe la cuestión de que si siempre se le - debe considerar como un microorganismo no patógeno (8).

En la actualidad hay investigadores (35, 40), que conside

ran al líquido seminal puro como una entidad estéril, sin embargo se han reportado casos en los que se encuentran cultivos positivos de hombres saludables. Se han realizado estudios comparativos de la flora encontrada en el líquido seminal de hombres fértiles e infértiles; en una de estas investigaciones (34) se aislaron mayor número de especies bacterianas y en mayor cantidad, en muestras de hombres infértiles que en las de hombres -- fértiles. Toth y Lesser (40) dicen que la bacteriospermia asintomática sólo se desarrolla después de una sintomatología clínica o una enfermedad asintomática en el tracto genital.

Makler et al (29) encontraron que no existe interrelación entre la infección del semen y la baja motilidad del espermatozoo, sin embargo, no descartan la idea de que el crecimiento -- bacteriano pueda afectar la fertilidad.

Lewis et al (26), consideran que aún cuando la presencia -- de bacterias no juegue un papel importante en la infertilidad -- masculina, la erradicación de éstas puede mejorar la calidad -- del semen así como la motilidad y la penetrabilidad de los es--permatozoos al cérvix.

### III.3. Espermatobioscopia.

La espermatobioscopia es un estudio que se incluye en toda investigación de esterilidad conyugal.

Etiológicamente espermatobioscopia significa sperma-sper-

matos: semilla; bios: vida y scopeo: observar, es decir, es la observación microscópica de los espermatozoos.

De acuerdo con el método de recolección del semen, para su estudio en el laboratorio, se distinguen dos tipos de espermato**bi**oscopía: la directa y la indirecta. En la recolección de la muestra para espermato**bi**oscopía directa se obtiene el líquido seminal puro, empleando el coito interrumpido o la masturbación. El método indirecto consiste en recuperar el semen de la vagina después de realizado un coito normal, pero en esta muestra hay una mezcla de líquido seminal y secreción vaginal.

### III.3. a) Espermato**bi**oscopía directa

Un estudio completo del semen incluye lo siguiente:

1. Recolección de la muestra

2. Examen físico

Macroscópico: volumen, pH, viscosidad, licuefacción y aspecto

Microscópico (Espermato**bi**oscopía): conteo de espermatozoos, morfología, motilidad y vitalidad de los mismos.

3. Examen químico: fructosa, ácido cítrico, fosfatasas y otras determinaciones

4. Examen bacteriológico

5. Estudio inmunológico

Recolección de la muestra. Para obtener una muestra significativa debe existir un reposo sexual. Se recomienda una abstinencia sexual de 3 a 7 días o bien respetando el hábito sexual del paciente, este período deberá ser determinado por el médico. No se aconseja una abstinencia menor de tres días ya que el eyaculado puede tener disminuidos su volumen y la cantidad y calidad de espermatozoos. Una abstención prolongada provocará un elevado porcentaje de formas inmóviles y morfológicamente alterados.

La muestra se recogerá en frascos de vidrio de boca ancha, perfectamente limpios y estériles. Queda a elección del médico el método de recolección que deberá ser empleado: masturbación, coito interrumpido o empleo de preservativo. Este último método tiene el inconveniente de la acción que sus componentes químicos puedan ejercer sobre los espermatozoos.

Si la recolección de la muestra no se realiza en el laboratorio, la entrega de ella deberá efectuarse lo más pronto posible, en ningún caso dos horas después de ser emitida.

Examen físico. El semen está constituido por espermatozoos suspendidos en los productos de secreción de diversas glándulas.

Examen macroscópico. El volumen del líquido seminal varía entre 1.5-5.0 ml. con un promedio de 3.5 ml. El semen recién eyaculado es un coágulo opaco, blanco o grisáceo, que se desintegra después de transcurridos 15 a 30 minutos, formándose un

líquido translúcido u opalescente, de color blanco grisáceo o blanco amarillento. La concentración de iones hidrógeno (pH) varía normalmente de 7.1 a 7.7. La viscosidad es normal cuando el semen gotea libremente.

Examen microscópico. La espermatobioscopía consiste en determinar la cantidad de espermatozoos presentes en el eyaculado, la morfología, motilidad y vitalidad espermática. También debe incluirse la investigación de leucocitos y eritrocitos, reportándose el número por campo (400X); así como la presencia de trofozoítos, protozoarios, esporas, hifas y micelios de hongos. En el semen normal no debe haber trofozoítos, ni elementos celulares. Los límites del recuento de espermatozoos en un semen normal suelen ser de 51 a 120 millones/ml. La morfología espermática determina el porcentaje de formas normales y anormales, admitiéndose un máximo del 30% de estas últimas, en las cuales se clasifican las diferentes anormalidades que pueden presentar los espermatozoos. En un semen normal, generalmente se encuentra alrededor del 70% de espermatozoos móviles; también se clasifican el tipo de movimiento del espermátocoo. La vitalidad es el tiempo que permanecen vivos los espermatozoos desde el momento de la eyaculación. En un semen normal la vitalidad es -- (37) :

A las 2 horas de emitido el semen	más de 70%
A las 4 horas	más de 60%

A las 8 horas	más de 40%
A las 24 horas	más de 10%

Examen químico. El análisis químico del líquido seminal - revela que está compuesto por una gran variedad de compuestos - químicos orgánicos e inorgánicos; hasta la actualidad sólo ha - sido demostrada la presencia de la mayoría de estos, pero no -- así sus funciones biológicas. En el Cuadro B se enumeran los - componentes químicos del líquido seminal y los valores normales.

Examen bacteriológico. Consiste en realizar un espermocul tivo con el fin de determinar si hay presencia de especies bac- terianas. En caso de obtener un cultivo positivo, después de - la identificación, es recomendable hacer un antibiograma, que - puede orientar en los casos en los que se vaya a seguir un tra- tamiento terapéutico.

Estudios inmunológicos. El espermatozoo tiene capacidad - antigénica y se ha probado que ésta es debida, en gran parte, a componentes del plasma seminal que recubren al gameto y que es- adquirida en su paso por el tracto genital; otros componentes - antigénicos son proporcionados por el mismo espermatozoo.

Tanto en la cola como en la cabeza de la célula espermáti- ca puede probarse la presencia de antígenos lo cual daría lugar a distintos tipos de aglutinación (41).

Se investigan anticuerpos antiespermáticos a nivel del sue

Componente químico	Zona de Normalidad
Fructosa	851.6 - 4943.3 $\mu\text{g/ml}$ (generalmente 1200-3500)
Fosfatasa ácida	770 - 3750 U.K.A./ml (generalmente 1000-3500)
Acido cítrico	338 - 2203 mg/100 ml
Fosfatasa alcalina	30 - 200 U.K.A./100 ml
Acido ascórbico	13 mg/100 ml
Colesterol	70 - 120 mg/100 ml
Espermina y espermidina	90 - 200 mg/100 ml
Cinc	470 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$
Proteínas	1.58 - 1.80 g/100 ml
Sodio	104 - 138 mEq/L
Potasio	14 - 27 mEq/L
Cloruros	28 - 57 mEq/L
Calcio	10 - 14 mEq/L
Magnesio	10 - 11 mEq/L

Tomado de Bioquímica (37)

Cuadro B. Componentes químicos del líquido seminal y valores -  
normales.

ro sanguíneo, denominándolos autoanticuerpos cuando están presentes en el hombre del cual procede el semen e isoanticuerpos cuando se identifican en el suero de la mujer. En el moco cervical se investigan anticuerpos frente a los espermatozoos del cónyuge o también con espermatozoos de diferente procedencia.

### III.3.b) Espermatobioscopia indirecta

La espermatobioscopia indirecta también es conocida como prueba post-coito de Sims-Hühner. Este estudio tiene como objeto el conocer la capacidad de penetración del espermatozoo en el moco cervical y la receptividad de éste hacia el espermatozoo.

La prueba de Sims-Hühner se realiza en la fase ovulatoria, es decir a la mitad del ciclo menstrual. En esta fase la cantidad del moco cervical es máxima, mientras que la viscosidad está disminuida, permitiendo esto último la máxima penetrabilidad en el moco por parte de los espermatozoos.

Para este estudio se instruye al matrimonio para que después de realizado el coito, y dentro de las primeras horas después de efectuado éste, la mujer acuda al laboratorio para la toma de una muestra del moco cervical.

Una buena prueba de Sims-Hühner implica: 1) buena técnica de coito; 2) moco normal para transporte y conservación del esperma; 3) función ovárica estrogénica adecuada, así como: -

4) por lo menos, posible fertilidad masculina normal.

Ni Sims ni Hühner determinaron una forma concreta para reportar los resultados.

A través del tiempo se le han hecho innovaciones a la técnica por diversos autores, con el fin de estandarizarla para -- que sea reproducible.

Para este trabajo se utilizaron muestras obtenidas por la técnica de Sims-Hühner-Modificación Rodríguez Villa, la cual a continuación se describe:

El autor denomina su técnica espermato-bioscopia funcional, debido a que en ella se aprovechan funciones biológicas normales como son el coito y la migración espermática intragenital - femenina.

Previo al estudio, se le explica al matrimonio la forma en que va a colaborar. La prueba será practicada en la fase ovulatoria; el varón deberá tener una abstinencia sexual que será fijada de acuerdo a su edad y su frecuencia sexual. El reposo sexual lo determina el autor considerando el hábito sexual del paciente y la frecuencia sexual teórica (36).

Al término de 15 minutos de reposo post-coital la mujer recolecta la muestra seminal-vaginal en una caja de petri estéril. La señora acude al laboratorio dentro de la hora u hora y media después de efectuado el coito, sin haberse realizado ningún tipo de aseo, llevando consigo la caja petri. En el laboratorio-

se coloca a la paciente en posición ginecológica habitual, se le inserta un espejo bivalvo seco y sin lubricantes; por medio de una pipeta de Ayre o alguna otra semejante, se toma la secreción endocervical post-coito y se toma la muestra residual del fondo de saco posterior de la vagina.

La terminología que se emplea en esta técnica es la siguiente: "contenido vaginal post-coito" para denominar la muestra seminal-vaginal, el "contenido endocervical post-coito" es la muestra endocervical y el "contenido del fondo de saco posterior de la vagina" es la muestra residual seminal-vaginal.

Los estudios que se realizan en el contenido vaginal post-coito son: número, morfología, motilidad y vitalidad espermáticas.

Número de zoospermos. El conteo se hace en una cámara cuenta-glóbulos y la muestra se emplea diluída 1/10, 1/20 o 1/100. Se reporta como número de zoospermos por mililitro.

Morfología. Se determina el por ciento de formas normales y anormales; además, se realiza una cuenta diferencial que abarca el tipo de formas normales (ovales, piriformes, en flama de vela, en las que se conserva la relación núcleo-acrosómica) y el tipo de formas anormales a nivel de cabeza, cuello, pieza intermedia y cola.

Motilidad. En este estudio se realiza la determinación del por ciento de formas móviles e inmóviles y además se tipifica -

la motilidad. Para la tipificación, el autor propone la siguiente clasificación:

Movimientos de traslación

Rápidos (4+)

Normoquinesia

Moderados (3+)

Lentos (2+) . . . . .

Bradiquinesia

Movimientos in situ (1+)

Pendulares (cefálicos)

De reptación

Disquinesia

Vibrátiles (caudales)

Ausencia de movimiento . . . . .

Aquinesia

Vitalidad. Consiste en observar el tiempo que duran con vida los espermatozoos. Comprende la determinación de vitalidad cinética y vitalidad estática. En la vitalidad cinética se determina el por ciento de formas móviles al recibo de la muestra, luego a las 3, 6, 12, 24 horas y a partir de este momento cada 12 horas hasta que cese el movimiento. En la vitalidad estática se emplean colorantes vitales que sólo tiñen a los zoospermos muertos, reportándose el por ciento de formas vivas. Las lecturas se efectúan al mismo tiempo que las de vitalidad cinética, hasta que todos los espermatozoos estén teñidos.

A la muestra se le determina la concentración de iones hi

drógeno (pH).

En el contenido endocervical post-coito se efectúan los siguientes estudios: número, morfología, motilidad y vitalidad espermáticas, concentración de iones hidrógeno, cuenta de leucocitos, piocitos y eritrocitos por campo (400X) y observación de la cristalización de la secreción endocervical post-coital.

Número de zoospermos. En esta muestra se reporta el promedio de zoospermos por campo microscópico (400X).

Morfología. Solo se determina el por ciento de formas normales y anormales.

Motilidad. Se reporta el por ciento de formas móviles e inmóviles y el tipo de motilidad.

Vitalidad. Se realiza y se reporta en la forma señalada para el contenido vaginal post-coito.

El estudio del contenido del fondo de saco posterior de la vagina tiene como finalidad observar la presencia o ausencia de espermatozoos y como ha afectado su motilidad, la acidez de la secreción vaginal. En él se hacen las siguientes determinaciones: número de zoospermos por campo microscópico (400X), por ciento de formas móviles e inmóviles, acidez iónica, presencia de trofozoítos, protozoarios, esporas, hifas y micelios de hongos.

Con la espermatobioscopia funcional, a través de sus resultados, se puede correlacionar lo que el autor denomina "capaci-

dad fecundante masculina" y "capacidad receptiva femenina".

Para la interpretación de los resultados, Rodríguez Villada da cinco tipos de respuesta:

1. Prueba normal. La cantidad y calidad biológica de los - espermatozoos presentes en el contenido vaginal y en el contenido endocervical son normales; lo que indica que el coito fue efectivo y que la espermomigración vaginocervical es normal.
2. Prueba subnormal de origen femenino. Se encuentra una respuesta normal en el contenido vaginal, pero en el -- contenido endocervical la cantidad de espermatozoos está disminuída o es nula, o bien la calidad biológica es muy deficiente; lo que indica espermomigración cuanti o cualitativamente anormal.
3. Prueba subnormal de origen masculino. En el contenido vaginal se observa baja cantidad de espermatozoos y/o - la calidad anatómica y funcional es deficiente, mientras que en el contenido endocervical se observan algunas -- formas móviles y menos formas anormales lo que indica - que hay una buena receptividad y selectividad a este ni vel y la espermomigración, aunque baja, se realiza.
4. Prueba anormal. Aspectos masculinos. En el contenido va ginal la cantidad de espermatozoos es muy baja y/o la - calidad anatómica y funcional es deficiente. En los ca

sos en los que no se encuentra semen en el contenido - del fondo de saco posterior de la vagina, indica que el coito no fue efectivo.

Aspectos femeninos: Existen anatómicamente impedimentos para realizar el coito o para retener el semen, o bien no se efectúa la espermomigración debido a la baja calidad biológica del moco cervical o moco cervical hostil.

5. Azoospermia. Después de minucioso examen no se observan espermatozoos en los tres contenidos (vaginal, endocervical y residual), (36).

#### IV. PARTE PRACTICA

Los estudios se hacen en 100 matrimonios con problemas de fertilidad, que asisten a consulta particular. No se consignan muestras azoospérmicas.

##### IV.1. Toma de muestra

Se realizan dos tomas de muestra, una de ellas la hace la paciente en su domicilio, para lo cual se le proporciona una caja de petri estéril en la que recoge la muestra seminal-vaginal 15 minutos después de efectuado el coito. Esta muestra--seminal-vaginal (contenido vaginal post-coito) es entregada en el laboratorio por la paciente alrededor de dos horas después de efectuado el coito. Para la toma de muestra endocervical, se coloca a la paciente en posición ginecológica habitual y se le inserta un espejo vaginal bivalvo seco, sin lubricante. Una vez visualizado el orificio externo del cuello uterino, se toma de éste con una pipeta vaginal la secreción endocervical --post-coital (contenido endocervical post-coito) y se mide el pH in situ.

##### IV.2. Procesamiento de la muestra

Al recibir en el laboratorio la muestra del contenido vaginal, se le mide el pH y se monta una preparación en fresco, en la cual se observa al microscopio: la motilidad de los es--

permatozoos, expresando en por ciento las formas móviles e --  
inmóviles. En esta misma preparación se investiga la presen -  
cia de parásitos, esporas e hifas de hongos.

Del contenido endocervical se hace una preparación en -  
fresco en la que se observa también la motilidad de los esper  
matozoos.

Estas observaciones microscópicas se hacen utilizando el  
objetivo de mayor aumento (40 X).

Ambas preparaciones se conservan en cámara húmeda para -  
las siguientes observaciones.

En la muestra de contenido vaginal se observa la vitali-  
dad de los espermatozoos a las: 3, 6, 12, 24, 36 y 48 horas.

En el contenido endocervical se observa la vitalidad de-  
los espermatozoos a las: 12, 24, 36 y 48 horas.

La vitalidad expresa el por ciento de espermatozoos que-  
permanecen móviles después de determinado tiempo.

En forma simultánea a los pasos anteriores se inicia el-  
estudio microbiológico.

Del contenido vaginal se inocular a un tubo que contiene -  
caldo cerebro-corazón (BHI), el cual se incuba a 37°C durante-  
24 horas.

Del contenido endocervical se prepara un frote que se --  
tiñe por el método de Gram, para observación bacterioscópica;  
además se inocular en los siguientes medios: caldo cerebro-co-

razón que se incubaba a 37°C durante 24 horas, caldo tioglicolato con capa de nujol que se incubaba a 37°C durante 24 horas, y en una placa de gelosa chocolate adicionada de inhibidor VCN y Polienriquecimiento, ésta se incubaba en una campana con atmósfera de CO<sub>2</sub> a 37°C durante 48 horas.

Después de la incubación de la placa de gelosa chocolate se investiga en ella la presencia de Neisseria gonorrhoeae.

Se marcan los tubos con CV (contenido vaginal) y CE (contenido endocervical). Después de la incubación se hacen frotos de los tres tubos y se tiñen por el método de Gram, para observar el desarrollo bacteriano en general.

El desarrollo obtenido en el tubo con CV se resiembraba por estría en las siguientes placas de: gelosa sangre (GS), eosina azul de metileno (EMB), medio Staphylococcus 110 y Casman.

El tubo con CE en BHI se resiembraba por estría en placas de: gelosa sangre, eosina azul de metileno y medio Staphylococcus 110; el tubo con CE en tioglicolato se resiembraba por estría en agar Casman.

Las placas de GS y EMB se incubaban a 37°C durante 24 horas. Las placas de 110 se incubaban 24-48 horas a 37°C y 24 horas a temperatura ambiente, con el fin de favorecer en la primera incubación el desarrollo y en la segunda la producción de pigmento. Las placas de agar Casman se incubaban en campana con atmósfera de CO<sub>2</sub> a 37°C durante 48 horas.

Después de incubadas las placas de resiembra se realizan frotos de las diferentes colonias aisladas de cada medio, con el-

fin de observar morfología y Gram de las bacterias, para posteriormente realizar las bioquímicas requeridas para su identificación.

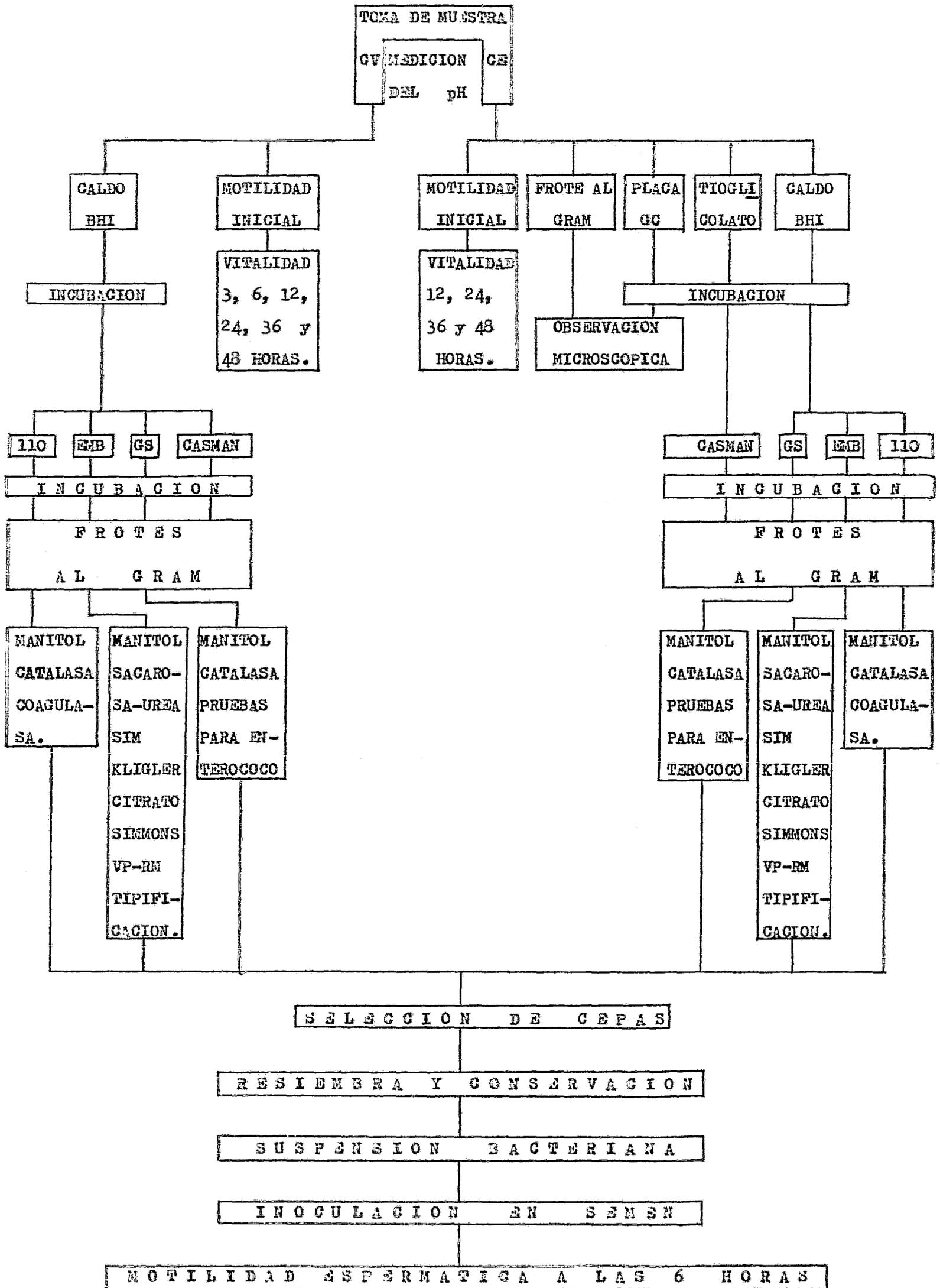
Para identificar el género de los bacilos Gram-negativos desarrollados en EMB se les practicó pruebas bioquímicas utilizando para ello los siguientes medios: caldo sacarosa-urea, caldo manitol rojo de fenol, medio de SIM, agar de hierro de Kligler, agar de citrato de Simmons y caldo de VP-RM; efectuando también pruebas serológicas de aglutinación para determinar especie en algunos casos y en otros patogenicidad. Dentro de los bacilos Gram-negativos (enterobacterias) encontrados, se identificó Escherichia coli, procediendo a determinar patogenicidad por medio de reacciones de aglutinación utilizando sueros polivalentes I y II y monovalentes.

También fué aislado de los cultivos el género Shigella que requirió de sueros antiespecie para su clasificación.

Para la identificación y diferenciación de los cocos Gram positivos, se llevaron a cabo algunas reacciones características que presentan éstos, por su fisiología y metabolismo como son: catalasa, coagulasa, pigmentación, hemólisis.

De acuerdo con la flora bacteriana encontrada, se realizaron pruebas de catalasa para la diferenciación entre Streptococcus y Staphylococcus. Cuando hubo pigmentación dorada y el microorganismo se identificó como Staphylococcus aureus, se hizo la prueba de la coagulasa para investigar la patogenicidad.

DIAGRAMA DE LA PARTE PRACTICA



En GS se observó hemólisis producida por microorganismos identificados como Streptococcus, y aquellos microorganismos identificados también como Streptococcus y que no produjeron hemólisis se les practicó una prueba presuntiva y una confirmativa para enterococos (Streptococcus faecalis) (consultar - apéndices).

Selección de cepas para observar su efecto sobre la motilidad de los espermatozoos.

De los microorganismos aislados se seleccionaron algunas cepas para investigar su efecto sobre la motilidad y vitalidad de los espermatozoos, para la conservación de estas cepas se inocularon tubos con agar BHI inclinado. La selección se hizo en base a diversos criterios.

En base a la bibliografía consultada se eligieron: Escherichia coli que comprende cepas patógenas y no patógenas, Proteus vulgaris y estreptococos alfa y beta hemolíticos, ya que estos han sido reportados como microorganismos espermaticidas (31).

También fue elegida una cepa de Shigella dysenteriae debido a lo extraño de su presencia en estas muestras.

Las cepas de Proteus mirabilis, Citrobacter freundii, Staphylococcus aureus coagulasa positiva, Staphylococcus epi-

dermidis y Streptococcus faecalis, fueron introducidas en este estudio por los siguientes motivos, las dos primeras por su similitud a especies reportadas como espermatocidas (Proteus vulgaris y Escherichia coli respectivamente), Staphylococcus aureus por ser un microorganismo patógeno, Staphylococcus epidermidis por su alta incidencia y por la controversia que existe en que si debe ser considerado como un microorganismo oportunista o no patógeno, Streptococcus faecalis por ser un microorganismo que se encuentra fuera de su habitat normal y que además su incidencia no fue tan baja.

#### Inoculación en muestras de semen

Las cepas seleccionadas se resiembran por estría en placas con gelosa sangre en el caso de cocos, y en placas con agar MacConkey para bacilos.

A partir de estos cultivos se hicieron suspensiones de cada microorganismo en agua peptonada al 1%, para obtener una concentración aproximada de  $10^8$  microorganismos por mililitro.

Con respecto a las muestras de líquido seminal, sólo se emplean aquellas con motilidad espermática mayor del 50%.

Al recibo de la muestra seminal se determina el por ciento de formas móviles. En tubos estériles se mezclan 0.3 ml. de la suspensión bacteriana con igual volumen de semen, a la vez que se prepara un control que consiste en 0.3 ml. de agua-

peptonada estéril y 0.3 ml. de semen; todos los tubos se incuban a temperatura ambiente durante seis horas. Transcurrido este tiempo se observa la motilidad de los espermatozoos en cada uno de los problemas y en el control.

Se elige la incubación a temperatura ambiente, debido a que se ha visto que a la temperatura de 37°C la motilidad espermática decrece rápidamente. Se efectúa la lectura a las seis horas ya que se determinó que a este tiempo se observa buen desarrollo bacteriano además de que la vitalidad máxima de los espermatozoos está por encima de este tiempo.

Se han hecho investigaciones para determinar la concentración a la cual un microorganismo (específicamente Escherichia coli) afecta la motilidad espermática (11), obteniendo como resultados que en concentraciones de  $10^6$  microorganismos/ml. hay decremento en la motilidad espermática, y en concentraciones de  $10^7$  a  $10^8$  microorganismos/ml. además de este decremento, hay aglutinación espermática. Siendo esta la razón por la cual, para llevar a cabo este trabajo, se eligió una concentración de  $10^8$  microorganismos/ml.

## V. RESULTADOS

De los cien casos estudiados, las edades fluctuaron de 17 a 42 años en mujeres y de 19 a 54 años en hombres.

### Bacterioscopía

A través del examen de los frotos del contenido endocervical, teñidos por el método de Gram, se pudo observar que los microorganismos que presentaron mayor incidencia en las muestras fueron los cocos Gram-positivos (98%), este porcentaje está dado por el total de Staphylococcus y Streptococcus.

En el 90% de los casos se identificaron bacilos Gram-negativos tipo coliformes y sólo en un caso se observaron bacilos tipo Haemophilus vaginalis. Bacilo de Döderlein y bacilos difteromorfos, considerados como flora normal de la vagina, se identificaron por bacterioscopía cada uno, en el 76% de los casos.

Los resultados de la bacterioscopía se muestran en cantidades porcentuales en el Cuadro No. 1. Con respecto a los diplococos Gram-negativos, estos se buscaron minuciosamente tanto intra como extracelularmente sin obtener resultados positivos.

Cabe mencionar que las preparaciones en fresco, empleadas para observar la motilidad espermática, se aprovecharon para-

investigar la presencia de parásitos, esporas e hifas de hongos. Solo en un caso se encontró Trichomonas vaginalis y en cinco casos se observaron numerosas esporas de monilia.

BACTERIAS		PORCENTAJE
Bacilos Gram - positivos	Bacilo de Döderlein	76.0
	Bacilo difteromorfo	76.0
Bacilos Gram- negativos	Bacilos coliformes	90.0
	Bacilo tipo <u>H. vaginalis</u>	1.0
Cocos Gram-positivos		98.0
Diplococos Gram-negativos		0.0

Cuadro No. 1. Bacterioscopía

Aislamiento e identificación

Acorde con las observaciones hechas en bacterioscopía, no se obtuvieron cultivos positivos de Neisseria gonorrhoeae ni de otra especie. En el caso de Haemophilus vaginalis tampoco se obtuvo cultivo positivo, a pesar de que en un caso, éste se identificó por su morfología, afinidad tinto --

real y localización sobre las células epiteliales.

En el Cuadro No. 2 se enlistan los microorganismos aislados, así como su incidencia porcentual.

Como puede observarse, los microorganismos identificados son cocos Gram-positivos, bacilos Gram-negativos pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae y bacilos Gram-positivos (Bacillus subtilis).

El microorganismo que se encontró con mayor frecuencia fue Staphylococcus epidermidis (73%). Staphylococcus aureus (coagulasa positiva) fue aislado en el 8% de los casos, con respecto a los estreptococos, el más frecuente fue el enterococo (36%) .

Escherichia coli no patógena fue aislada en el 58% de los casos, ocupando el segundo lugar en ocurrencia. Los otros microorganismos pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae fueron encontrados en porcentajes bajos.

Es de importancia señalar la presencia de Escherichia coli patógena (6%) y de Shigella. Escherichia coli se tipificó con sueros polivalentes I y II y monovalentes, identificándose cepas de Escherichia coli O111 y cepas de Escherichia coli O127a. De las siete muestras en que se aisló Shigella, sólo se identificó una cepa de Shigella dysenteriae.

De acuerdo con el desarrollo microbiano obtenido,--

Microorganismos	Incidencia (%)
<u>Staphylococcus epidermidis</u>	73
<u>Staphylococcus aureus</u>	8
<u>Streptococcus alfa haemolyticus</u>	12
<u>Streptococcus beta haemolyticus</u>	2
<u>Streptococcus faecalis</u>	36
<u>Escherichia coli</u> no patógena	58
<u>Escherichia coli</u> patógena	6
<u>Proteus mirabilis</u>	15
<u>Proteus vulgaris</u>	5
<u>Citrobacter freundii</u>	4
<u>Hafnia alvei</u>	8
<u>Shigella sp.</u>	6
<u>Shigella dysenteriae</u>	1
<u>Klebsiella sp.</u>	2
<u>Enterobacter sp.</u>	5
<u>Bacillus subtilis</u>	2

Cuadro No. 2. Microorganismos aislados y su incidencia porcentual.

se determinó el número de especies bacterianas aisladas de cada muestra. Como puede observarse (Cuadro No. 3) no hubo muestras estériles, en el 50% de los casos se aislaron dos especies bacterianas y en un caso hubo cinco especies diferentes.

#### Concentración de iones hidrógeno (pH)

La concentración de iones hidrógeno del contenido vaginal post-coito tuvo una variación de 5.0 a 8.5, en el caso del contenido endocervical post-coito ésta fue de 5.0 a 8.0.

Se hizo un análisis comparativo de los casos con pH igual y la flora bacteriana presente en ellos, sin encontrar alguna relación.

En la técnica empleada, el pH normal para el contenido vaginal post-coito es de 6.7 a 7.7; el pH normal para el contenido endocervical post-coito, es de 6.8 a 7.7.

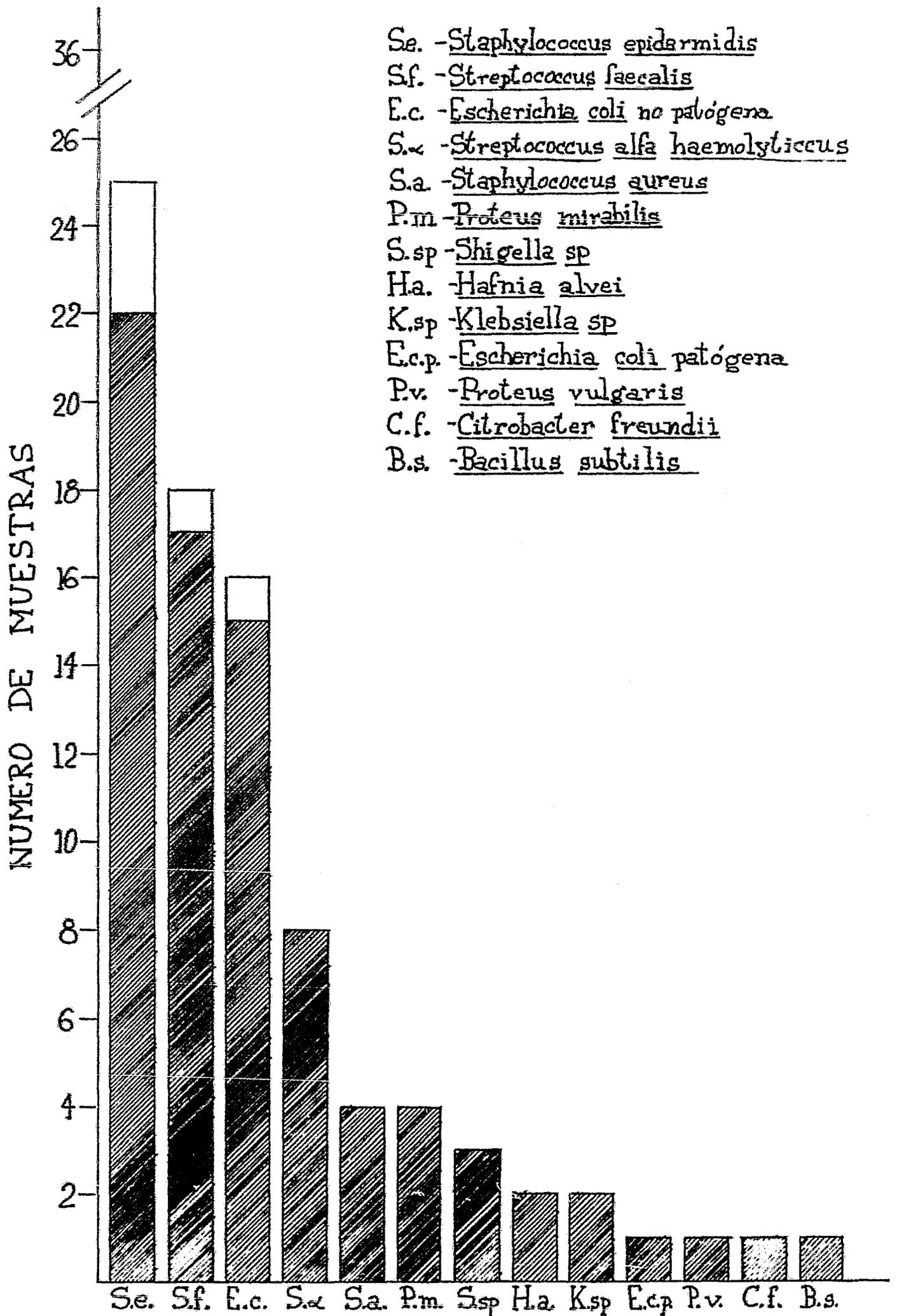
Número de muestras	Especies bacterianas
0	0
8	1
50	2
34	3
7	4
1	5
Total	100

Cuadro No. 3. Número de especies bacterianas  
aisladas por muestra.

Relación entre motilidad inicial y microorganismos aislados

Se encontraron 36 muestras cuya motilidad inicial fue de cero en contenido vaginal y/o endocervical. De estas 36 muestras, 8 presentaron motilidad inicial de cero en ambos contenidos; 5 tuvieron motilidad inicial de cero sólo en contenido vaginal y 23 en el contenido endocervical; teniendo así que el 13% del total de las muestras tuvo motilidad inicial de cero en el contenido vaginal.

En la Gráfica No. 1 se indican los microorganismos aislados en los casos con motilidad inicial de cero y el número de casos en los que estuvieron presentes. La parte sombreada --



GRAFICA No. 1. MICROORGANISMOS AISLADOS DE MUESTRAS CON MOTILIDAD INICIAL DE CERO Y NUMERO DE CASOS EN LOS QUE SE PRESENTARON. SE INDICAN LOS CASOS EN LOS QUE HUBO UNA SOLA ESPECIE BACTERIANA.

ilustra el número de casos en que el microorganismo correspondiente estuvo presente con una o más de las especies bacterianas ahí incluídas, mientras que la parte blanca señala los casos en los que hubo una sola especie bacteriana (5 casos).

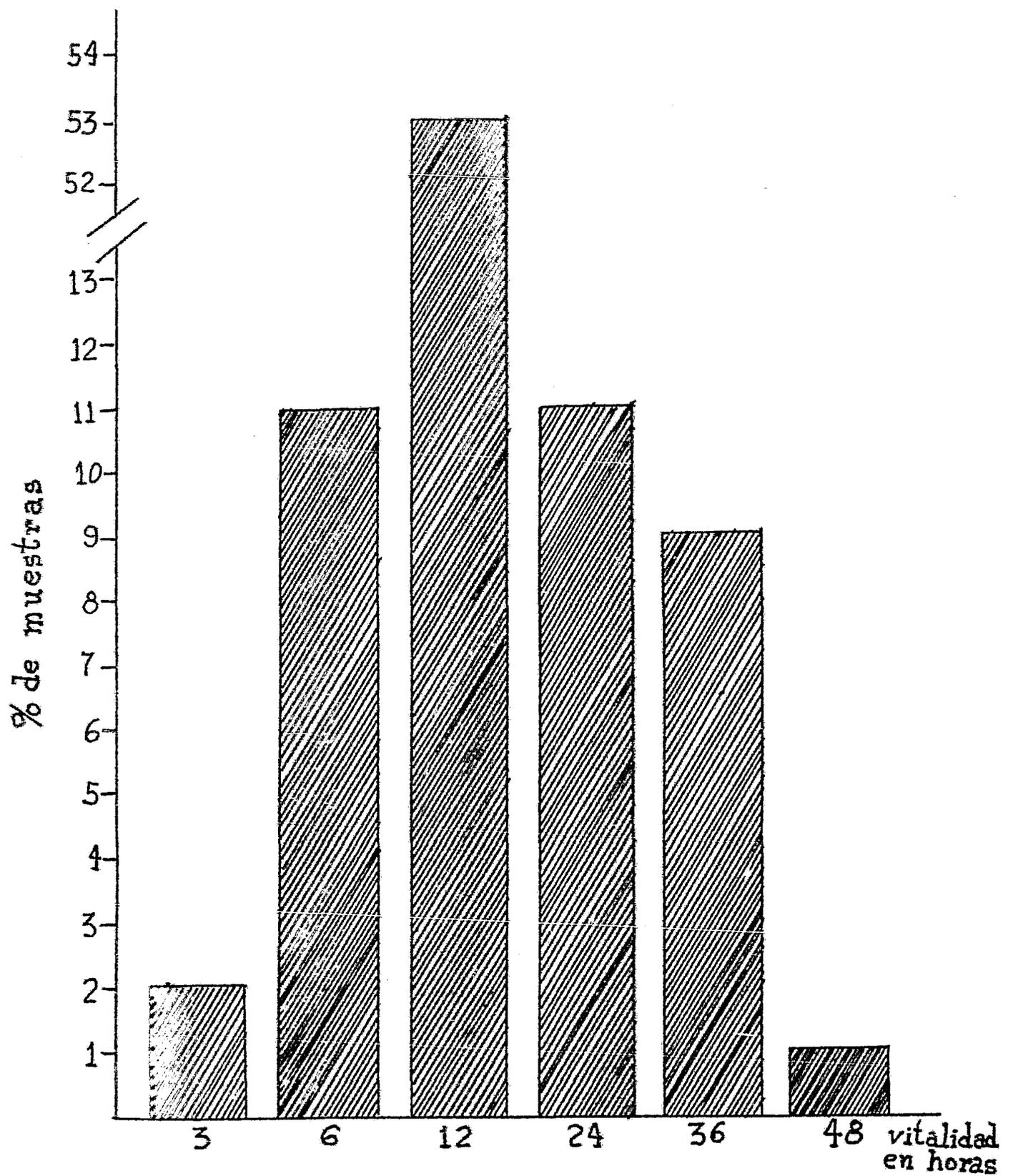
Considerando estas 36 muestras como un 100%, los microorganismos que con mayor frecuencia estuvieron presentes en --- ellas son: Staphylococcus epidermidis (69.4%), Streptococcus faecalis (50%) y Escherichia coli no patógena (44.4%). Aunque Streptococcus alfa haemolyticus estuvo sólo en el 22.2%, cabe señalar que de los 12 estreptococos alfa hemolíticos aislados de las 100 muestras, 8 están en casos con motilidad inicial de cero.

Las especies bacterianas presentes en los cinco monocultivos integran tres grupos, el de Staphylococcus epidermidis con tres unidades y otros dos de una unidad, el de Streptococcus faecalis y el de Escherichia coli no patógena.

Relación entre vitalidad en contenido vaginal post-coito y microorganismo aislados.

Se agruparon las muestras de acuerdo a la vitalidad máxima determinada, los resultados en por ciento se muestran en la Gráfica No. 2.

Se compararon las especies bacterianas presentes en cada grupo y, además, se hizo la comparación entre los grupos. Se-



GRAFICA No. 2. Porcentaje de muestras con vitalidad máxima de 3, 6, 12, 24, 36 y 48 hs. en contenido vaginal.

observó que las bacterias presentes en los grupos con vitalidad máxima baja también estuvieron presentes en los grupos con vitalidad máxima alta.

Las especies bacterianas aisladas en el grupo con vitalidad máxima de:

3 horas son: Streptococcus faecalis, Escherichia coli 0127a, -  
Escherichia coli no patógena y Enterobacter sp. -

6 horas son: Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus,  
Streptococcus faecalis, Escherichia coli no patógena,  
Proteus mirabilis, Proteus vulgaris, Citrobacter freundii,  
Shigella sp, Klebsiella sp.

12 horas son: Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus,  
Streptococcus alfa haemolyticus, Streptococcus beta haemolyticus,  
Streptococcus faecalis, Escherichia coli patógena y no patógena,  
Proteus mirabilis, Proteus vulgaris, Citrobacter freundii, Hafnia alvei,  
Shigella sp, Shigella dysenteriae, Enterobacter sp y Bacillus subtilis.

24 horas son: Staphylococcus epidermidis, Streptococcus alfa haemolyticus,  
Streptococcus faecalis, Escherichia coli no patógena,  
Proteus vulgaris y Hafnia alvei.

36 horas son: Staphylococcus epidermidis, Streptococcus faecalis, Escherichia coli 0111, Escherichia coli no patógena, Proteus mirabilis y Citrobacter freundii.

48 horas son: Staphylococcus epidermidis, Streptococcus faecalis, Shigella sp.

Como puede observarse, el porcentaje mayor (53%) está dado por los casos que tuvieron una vitalidad máxima de 12 horas, además de que todos los microorganismos aislados, a excepción de Klebsiella sp., están presentes en este grupo.

En la Gráfica No. 2 están representados un total de 87 casos, los trece casos restantes tuvieron motilidad inicial de cero en el contenido vaginal.

#### Efecto bacteriano sobre los espermatozoos in vitro

Se emplearon cinco muestras de semen, con motilidad inicial mayor del 50%, por lo que se formaron cinco grupos para hacer las inoculaciones. En el Cuadro No. 4 se indican las cepas bacterianas inoculadas en cada muestra de semen y los resultados obtenidos.

En aquellos problemas en los que hubo motilidad, ésta no fue normal, sino que se observó que eran movimientos lentos o in situ; los microorganismos presentes fueron: Escherichia coli (B), Staphylococcus aureus, Streptococcus faecalis, Pro-

Muestra de semen	Motilidad inicial (%)	Microorganismo inoculado	Motilidad <sup>a</sup> del control (%)	Motilidad <sup>a</sup> del proble <u>ma</u> (%)			
1	60	<u>E. coli</u> (A) <sup>b</sup>	26	0			
		<u>E. coli</u> (B) <sup>b</sup>		1			
		<u>E. coli</u> (C) <sup>b</sup>		0			
		<u>E. coli</u> (D) <sup>b</sup>		0			
2	88	<u>E. coli</u> (E) <sup>b</sup>	31	0			
		<u>E. coli</u> (F) <sup>b</sup>		0			
		<u>E. coli</u> (H) <sup>b</sup>		0			
		<u>E. coli</u> 0127a		0			
		<u>S. epidermidis</u>		0			
3	82	<u>E. coli</u> (G) <sup>b</sup>	50	0			
		<u>S. aureus</u>		6			
		<u>S. faecalis</u>		1			
		<u>S. alfa</u> <u>haemolyticcus</u>		0			
		<u>S. beta</u> <u>haemolyticcus</u>		0			
		4		80	<u>E. coli</u> 0111	29	0
					<u>S. dysenteriae</u>		0
<u>C. freundii</u>	0						
5	81	<u>P. mirabilis</u>	22	6			
		<u>P. vulgaris</u>		4			

Cuadro No. 4. Resultados de la inoculación bacteriana en semen.

(%) Se reporta por ciento de formas móviles.

a Motilidad a las 6 horas después de la inoculación.

b Cepas de E. coli no patógena con diferente bioquímica.

teus mirabilis y Proteus vulgaris.

Se observó que en las inoculaciones hechas con Escheri --  
chia coli (F), Streptococcus faecalis, Proteus mirabilis y --  
Proteus vulgaris, los espermatozoos tendían a agruparse forman  
do grandes acúmulos. En el caso de Escherichia coli 0127a se -  
observaron pequeños acúmulos de espermatozoos, además fue noto  
rio que gran número de espermatozoos presentaron colas en espi  
ral, anormalidad que no fue observada en el control ni en la -  
muestra original.

## VI. C O N C L U S I O N E S

Relacionando los datos de pH con motilidad y vitalidad de los espermatozoos se puede apreciar lo siguiente:

1. En los casos con motilidad inicial de cero, en el contenido vaginal post-coito, se observó marcada acidez, es- decir, que los valores de pH se encontraron abajo del - límite inferior normal para la técnica empleada.
2. En aquellos casos en los que hubo vitalidad máxima de - 3 o 6 horas, los valores de pH no fueron tan ácidos co- mo en los casos anteriores, se mantuvieron alrededor -- del límite inferior.
3. En contraste con lo anterior, se observó que los valo-- res de pH en las muestras con vitalidad máxima de 12 ho ras o más estuvieron dentro de los límites normales, -- con excepción de pocos casos.

Con lo que se constata que la motilidad y vitalidad de los espermatozoos se ven afectadas por la acidez.

Al relacionar la flora bacteriana y el pH, los resultados- mostraron que las mismas especies bacterianas se aislan de mues- tras con valores de pH tanto bajos como normales; lo cual indi- ca que la flora bacteriana se está adaptando al pH vaginal y que en algunos casos, probablemente, la presencia de microorganis-- mos esté influyendo en el valor del pH.

Los microorganismos de mayor incidencia en muestras con motilidad inicial de cero son: Staphylococcus epidermidis (69.4%), - Streptococcus faecalis (50%) y Escherichia coli (44.4%); a pesar de estos resultados, no podemos considerar a estos microorganismos como los responsables de la nula motilidad, ya que también fueron aislados de muestras en las que se observó motilidad y vitalidad.

Con respecto a la vitalidad se observó que la mayoría de los casos (53%) alcanzaron una vitalidad máxima de 12 horas, además de que todos los microorganismos aislados, a excepción de Klebsiella sp, estuvieron en este grupo. Sin embargo, cada muestra difirió en cuanto al microorganismo o microorganismos presentes.

Ha sido postulado que los organismos Gram-negativos y algunas bacterias Gram-positivas pueden ser una causa de esterilidad (11,39), siendo esta la razón por la cual se inocularon especies bacterianas en muestras de semen, con el fin de saber la influencia que puedan ejercer sobre los espermatozoos.

De los resultados de las pruebas in vitro, pudimos notar que todas las bacterias inoculadas provocaron decremento en la motilidad espermática y hasta la inmovilidad total en la mayoría de los casos.

Lo importante de las inoculaciones con Escherichia coli es que sólo una de las cepas no patógenas empleadas, provocó

agrupamiento de los espermatozoos, y de las patógenas, sólo --  
Escherichia coli 0127a produjo pequeños acúmulos de espermatozoos; de igual manera se han encontrado resultados discrepantes en las investigaciones realizadas (29,31,39).

Es interesante señalar el hecho de que en presencia de --  
Escherichia coli 0127a se observó notable incremento de formas espermáticas anormales, siendo la anomalía a nivel de cola.

Matthews y Buxton (31) reportaron como microorganismo espermaticida a Proteus vulgaris, a diferencia de ellos, encontramos que las especies de Proteus vulgaris y Proteus mirabilis -- produjeron disminución de la motilidad, probablemente debida a la formación de grandes acúmulos de espermatozoos.

Fue sorprendente el hecho de que la presencia de Staphylococcus epidermidis en muestras seminales no fuera inocua; ésto nos lleva a pensar que, aún cuando es un huésped habitual de la vagina, debe considerarse que en algunos casos puede afectar -- al espermatozoo.

Con Streptococcus faecalis se observó inmovilización además de una marcada acumulación de espermatozoos.

Los demás microorganismos probados también provocaron disminución en la motilidad espermática, sin apreciar ninguna particularidad.

En resumen, los resultados de las pruebas in vitro, sugieren que la motilidad y vitalidad de los espermatozoos se dete-

riora con la presencia de bacterias.

Consideramos que un estudio completo de la esterilidad conyugal, debe incluir el análisis bacteriológico. Con ello se pretende que, al conocer la flora microbiana que en ese momento habita la vagina, se pueda fijar el criterio que nos indique si es necesario erradicar algún microorganismo. Tal vez la presencia de bacterias no sea un factor que impida la fecundación, pero sí puede, en determinadas circunstancias, contribuir con los problemas de esterilidad.

## VII. A P E N D I C E S

### Infusión de Cerebro Corazón

La infusión de cerebro corazón es un medio líquido para el cultivo de bacterias.

Fórmula en gramos por litro de agua destilada:

Infusión de cerebro de ternera	200.0
Infusión de corazón de res	250.0
Peptona (Gelysate-BBL)	10.0
Cloruro de sodio	5.0
Fosfato disódico	2.5
Dextrosa	2.0

pH final  $\pm$  7.4

Disuelva 37 gramos del material deshidratado en un litro de agua destilada. Distribuya y esterilice en autoclave a 121°C, (15 libras de presión de vapor) durante 15 o 20 minutos.

Usos: La infusión de cerebro corazón se emplea extensamente para trabajos de cultivo de sangre, y para el cultivo de cocos patógenos y de otros microorganismos.

### Infusión de Cerebro Corazón Agar

La infusión de cerebro corazón agar tiene la misma formulación que el caldo, más la adición de 18 gramos de agar por litro de agua destilada. Vierta en tubos inclinados o placas para su uso.

### Medio de Tioglicolato sin indicador-135 C

El medio de tioglicolato favorece el desarrollo de microorganismos estrictamente anaerobios así como aerobios.

Fórmula en gramos por litro de agua destilada:

Peptona Trypticase	17.00
Peptona Phytone	3.00
Dextrosa	6.00
Cloruro de sodio	2.50
Tioglicolato de sodio	0.50
Agar	0.70
Sulfito de sodio	0.10

pH final  $\pm$  7.0

Haga una suspensión con 30 gramos del material deshidratado en un litro de agua destilada. Mezcle hasta obtener una suspensión uniforme. Caliente agitando frecuentemente y hierva durante un minuto. Distribuya en tubos llenándolos hasta la mitad. Añada a cada tubo nujol para formar una capa de aproximadamente 0.5 cm. Esterilice en autoclave de 118°C a 121°C (no más de 15 libras de presión) durante 15 minutos.

Usos: El medio de tioglicolato-135 C, se caracteriza por su capacidad extrema de favorecer el desarrollo, de inoculaciones mínimas de una gran variedad de microorganismos aerobios -- y anaerobios. Las especies más estrictamente aerobias se desarrollan en la parte superior, mientras que los tipos anaerobios

se desarrollan en las profundidades del medio.

### Base de Agar de Gelosa Chocolate

La base de agar de GC con sangre, hemoglobina u otras substancias agregadas, se emplea para el aislamiento y cultivo del gonococo.

Fórmula en gramos por litro de agua destilada:

Peptona Polypepetone	15.0
Almidón de maíz	1.0
Fosfato dipotásico	4.0
Fosfato monopotásico	1.0
Cloruro de sodio	5.0
Agar	10.0

pH final  $\pm$  7.2

Suspenda 7.2 gramos del medio deshidratado en 100 ml. de agua destilada para obtener una base de doble concentración, mezcle bien. Caliente agitando frecuentemente y hierva durante un minuto aproximadamente. Esterilice en autoclave a 121°C (15 libras de presión) durante 15 minutos. También esterilice en autoclave 100 ml. de una solución de hemoglobina al 2%, añadiendo gradualmente agua a 2 gramos de hemoglobina seca, para obtener una suspensión uniforme, antes de exponerla al calor de la autoclave. Enfríe ambas soluciones a 50°C. Añada la hemoglobina y los otros componentes a la base, según se desee, y vierta en placas.

Se recomienda el uso del Polienriquecimiento, del cual se añaden 2ml. a 200 ml. de la mezcla de hemoglobina y base de agar GC. Para el aislamiento de gonococos y meningococos, y para la inhibición de la mayoría de los otros microorganismos, se añaden 2 ml. de inhibidor VCN (Vancomicina-Colistina-Nistatina).

Las placas se invierten y se incuban en una atmósfera de aire con bióxido de carbono. Incube 48 horas. Después de las 48 horas, a la colonias sospechosas se les hace la prueba de la oxidasa.

#### Base de Agar de Gelosa Sangre

Fórmula en gramos por litro de agua destilada:

Infusión de corazón	500
Bacto-Tryptosa	10
Cloruro de sodio	5
Bacto-agar	15

pH final  $\pm$  6.8

Para rehidratar el medio, suspenda 40 gramos en un litro de agua destilada fría, caliente a ebullición para disolver el medio completamente. Distribuya en tubos o matraces y esterilice 15 minutos a 15 libras de presión (121°C). El pH del medio debe de ser 6.8, antes de adicionar la sangre.

Si la gelosa se va a preparar inmediatamente, enfríe el medio estéril hasta 45-50°C, y, adicione asépticamente el 5% -

de sangre desfibrinizada estéril mezclando cuidadosamente, evi-  
te la formación de burbujas de aire. Distribuya en placas. In-  
cuba 24 horas antes de usarse, para garantizar su esterilidad.

Este medio es suficientemente rico para el crecimiento de  
casi todas las bacterias patógenas y tiene la ventaja de que -  
la hemólisis se observa directamente.

#### Agar de Eosina y Azul de Metileno

El agar de eosina y azul de metileno (EMB) sirve para el-  
aislamiento y diferenciación de los bacilos entéricos Gram-ne-  
gativos. El colorante inhibe el crecimiento de otros microor -  
ganismos.

Fórmula en gramos por litro de agua destilada:

Peptona (Gelysate BBL)	10.000
Lactosa	5.000
Sacarosa	5.000
Fosfato dipotásico	2.000
Agar	13.500
Eosina Y	0.400
Azul de metileno	0.005
pH final $\pm$ 7.2	

Suspenda 36 gramos del polvo en un litro de agua destila-  
da. Caliente agitando frecuentemente y hierva durante un minu-  
to aproximadamente. Distribuya y esterilice a no más de 121 °C  
(15 libras de presión) durante 15 minutos. Enfríe a 45°C, y --

distribuya el medio, agitando suavemente antes de usarlo, y vierta en placas.

Usos: El agar de eosina y azul de metileno sirve para -- diferenciar las colonias de bacilos entéricos patógenos de -- los capaces de fermentar rápidamente la lactosa, la sacarosa o ambas. Este medio inhibe fuertemente el crecimiento de los microorganismos Gram-positivos.

#### Agar para Staphylococcus 110

El agar para estafilococos 110 es selectivo para el aislamiento e identificación de estafilococos.

Fórmula en gramos por litro de agua destilada:

Extracto de levadura	2.5
Peptona Trypticase	10.0
Gelatina	30.0
Lactosa	2.0
D-Manitol	10.0
Cloruro de sodio	75.0
Fosfato dipotásico	5.0
Agar	15.0
pH final $\pm$ 7.0	

Suspenda 149 gramos del polvo en un litro de agua destilada. Caliente agitando frecuentemente y hierva durante un minuto. Distribuya y esterilice en autoclave a 121°C (15 libras -- de presión) durante 15 minutos. Suspenda el precipitado agi --

tando suavemente para evitar la formación de burbujas, y distribuya en placas mientras el medio sigue caliente, o enfríe el medio a 45-50°C y agregue sangre si desea.

Usos: Estríe o frote el inóculo e incube a 30°C durante 48 horas. Seleccione las colonias pigmentadas para hacer tinciones y reacciones de coagulación, así como para pruebas de hemólisis si así se desea.

#### Base de Agar de Casman

La incorporación de almidón de arroz y de nicotinamida es especialmente importante por su efecto sobre el desarrollo de Neisseria gonorrhoeae, y de Haemophilus influenzae.

Fórmula en gramos por litro de agua destilada:

Peptona Polypeptone	10.00
Peptona Biosate	10.00
Extracto de res	3.00
Nicotinamida	0.05
Acido p-aminobenzoico	0.05
Dextrosa	0.50
Almidón de arroz	1.00
Cloruro de sodio	5.00
Agar (seco)	13.50
pH final $\pm$ 7.3	

Suspenda 43 gramos del material deshidratado en un litro de agua destilada. Mezcle. Caliente agitando frecuentemente -

y hierva durante un minuto. Distribuya y esterilice en autoclave a 121°C, durante 15 minutos.

Usos: Las placas se inoculan e incuban en un recipiente con una vela o en una atmósfera acondicionada con adición de CO<sub>2</sub>. La presencia de CO<sub>2</sub> fomenta el desarrollo de la mayoría de los patógenos.

Con mayores concentraciones de nicotinamida hay mejor crecimiento de los bacilos de Haemophilus influenzae, pero se inhibe el desarrollo de los gonococos. El almidón de maíz pareció favorecer el crecimiento de los gonococos.

En 1953 Leopold aisló un bastoncillo pleomórfico, inmóvil, Gram-negativo, que formaba diminutas colonias hemolíticas en el agar sangre de Casman. Este microorganismo hoy es conocido generalmente como Haemophilus vaginalis.

#### Agar de MacConkey

Se emplea en la investigación de microorganismos coliformes, y también se puede usar para el aislamiento de Vibrio comma de las especies patógenas de bacilos entéricos. La inhibición de los microorganismos Gram-positivos se obtiene mediante la mezcla de sales biliares.

Fórmula en gramos por litro de agua destilada:

Peptona Gelysate	17.000
Peptona Polypeptone	3.000

Lactosa	10.000
Mezcla de sales biliares	1.500
Cloruro de sodio	5.000
Agar	13.500
Rojo neutro	0.030
Violeta cristal	0.001
pH final $\pm$ 7.1	

Suspenda 50 gramos del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Caliente suavemente agitando frecuentemente - y hierva durante un minuto. Esterilice en autoclave a 121°C - (15 libras de presión) durante 15 minutos.

Enfríe el medio estéril fundido a 45°C y coloque en placas.

Usos: Aislamiento de patógenos entéricos. Se puede emplear para la investigación de los patógenos entéricos en heces y otros materiales.

#### Caldo para Prueba Presuntiva de Enterococos

Fórmula en gramos por litro de agua destilada:

Triptona (Trypticase BBL)	5.000
Extracto de levadura	5.000
Dextrosa	5.000
Azida de sodio	0.400
Azul de bromotimol	0.032

Disuelva 15.4 gramos del deshidratado en un litro de agua destilada y distribuya en tubos en porciones de 8 mililitros para inocularlos con muestras de 2 mililitros o menos. Para inóculos de 10 mililitros use 77 gramos por litro de agua destilada y distribuya en porciones de 2 ml. Esterilice en autoclave por 15 minutos a 121°C (15 libras de presión).

Usos: Los enterococos se definen como los microorganismos catalasa-negativos capaces de crecer a 10° y 45°C en presencia de un 6.5% de NaCl. Su crecimiento no se inhibe con 0.04% de azida de sodio ni con 650 unidades de penicilina por litro del medio. Estos enterococos comprenden cuatro especies: Streptococcus faecalis, S. liquefaciens, S. zymogens y S. durans.

La prueba de presunción consiste en la producción de ácido y turbiedad en el medio enriquecido con azida de sodio. Los autores recomiendan inocular la dilución sencilla del medio con muestras de 0.1 a 1 ml, y con muestras de 10 ml. la dilución concentrada. Incube los tubos de ensaye en baño María a 45°C y observe periódicamente después de 8 horas, buscando la aparición de turbiedad y la producción de ácido que se manifiesta por el cambio a amarillo del azul de bromotimol. Tan pronto como se obtiene una reacción presuntiva positiva, resembrar el contenido de una asa en un medio de confirmación con caldo-superficie inclinada. (La azida de sodio y la alcalinidad del caldo inhiben el crecimiento de otros microorga

nismos).

Caldo para Prueba Confirmativa de Enterococos

Fórmula en gramos por litro de agua destilada:

Triptona (Trypticase BBL)	5.00
Extracto de levadura	5.00
Dextrosa	5.00
Azida de sodio	0.40
Cloruro de sodio	65.00
Azul de metileno	0.01
pH final $\pm$ 8.0	

Disuelva 80.4 gramos del material deshidratado en un litro de agua destilada. Distribuya y esterilice en autoclave a 121°C (15 libras de presión) por 15 minutos. Enfríe a temperatura ambiente. Agregue 65 U de penicilina para cada 100 ml. del medio poco antes de usarse.

Usos: El caldo para confirmar enterococos se emplea con el agar para confirmar enterococos de la manera descrita al tratarse este medio.

Agar para Prueba Confirmativa de Enterococos

Fórmula en gramos por litro de agua destilada:

Triptona (Trypticase BBL)	5.00
Extracto de Levadura	5.00
Dextrosa	5.00

Azida de sodio	0.40
Agar	15.00
Azul de metileno	0.01
pH final $\pm$ 8.0	

Suspenda 30.4 gramos del material deshidratado en un litro de agua destilada. Mezcle bien. Caliente agitando frecuentemente, hierva por un minuto. Distribuya para emplearlo en cultivos inclinados y esterilice en autoclave por 15 minutos a 121°C (15 libras de presión).

Usos: Prepare el agar para confirmar enterococos inclinado sobreponiéndole asépticamente el caldo para confirmar enterococos. Agregue suficiente caldo para cubrir la mitad de la superficie inclinada. El caldo tiene la misma fórmula que el agar, más un alto contenido de NaCl y penicilina.

Si un cultivo a 45°C, en caldo presuntivo para enterococos es positivo, resiembre el contenido de una asa en caldo para confirmar, haga estrías en zig zag sobre la superficie inclinada. Incube los tubos a 37 °C durante 12 horas y examine buscando colonias en cabeza de alfiler en el medio inclinado y de sedimento en el caldo. Haga una tinción de Gram para investigar al microscopio la presencia de estreptococos grandes y ovoides. Si se agregan 5 ml. de peróxido de hidrógeno al medio, debe obtenerse una reacción de catalasa negativa.

El crecimiento de estreptococos catalasas negativos en pre

sencia de penicilina, azida de sodio y 6.5% de NaCl, confirma la presencia de enterococos.

#### Caldo Manitol Rojo de Fenol

Es un medio líquido que se utiliza para determinar la capacidad de un microorganismo de fermentar (degradar) el manitol incorporado en un medio basal, produciendo ácido.

Fórmula en gramos por litro de agua destilada:

Peptona Trypticase	10.000
Cloruro de sodio	5.000
D-Manitol	5.000
Rojo de fenol	0.018
pH final $\pm$ 7.4	

Disuelva 20 gramos del polvo en un litro de agua destilada. Esterilice distribuido en tubos, de 116°C a 118°C (no más de 12 libras de presión) durante 15 minutos.

Usos: La peptona favorece grandemente el crecimiento bacteriano; los patrones de fermentación son generalmente característicos, lo cual ayuda en la diferenciación de géneros y aún de especies bacterianas. De acuerdo al indicador empleado, la aparición de color amarillo indicando acidez, es indicio de fermentación.

#### Caldo Sacarosa-Urea

Es un medio líquido que se utiliza para determinar la --

reacción de fermentación de la sacarosa y además determinar --  
la capacidad de un microorganismo para escindir la urea, for --  
mando dos moléculas de amoníaco por la acción de la enzima ureasa.

Fórmula en gramos por litro de agua destilada:

Peptona Trypticase	10.000
Cloruro de sodio	5.000
Sacarosa	5.000
Rojo de fenol	0.018
pH final $\pm$ 7.4	

Disuelva 20 gramos del polvo en un litro de agua destila-  
da. Añada urea al 1% (p/v) y unas gotas de una solución de --  
azul de bromotimol. Distribuya en tubos de ensaye y esterilice  
a 110°C (no más de 10 libras de presión) durante 10 minutos.

Usos: Se usa en los estudios de fermentación de la sacaro  
sa de muchas especies bacterianas y la propiedad de hidrolizar  
la urea de algunas de estas bacterias. La actividad enzimática  
de la ureasa es característica de todas las especies de Pro --  
teus y se usa primariamente para diferenciar la urea positiva-  
rápida de los microorganismos Proteus de otros miembros de En-  
terobacteriaceae; otros géneros pueden ser positivos lentos. -  
La aparición de color amarillo indica la fermentación ácida --  
de la sacarosa, mientras que la aparición de color violeta nos  
indica la hidrólisis de la urea.

## Medio SIM

El medio de SIM se emplea para determinar si el sulfuro -- de hidrógeno ha sido liberado, por acción enzimática, de aminoácidos sulfurados produciendo una visible reacción de color negro en el medio; determinar si un microorganismo es capaz de -- escindir indol de la molécula de triptofano; determinar si un -- microorganismo es móvil o inmóvil. La presencia de indol en el medio se investiga adicionando unas gotas del reactivo de Ehrlich o de Kovacs al medio, estos reactivos son amarillos y si la superficie del medio se pone rosa al adicionarlo, la prueba es positiva.

Fórmula en gramos por litro de agua destilada:

Peptona Trypticase	20.0
Peptona Thiotope	6.1
Sulfato de hierro y amonio	0.2
Tiosulfato de sodio	0.2
Agar	3.5
pH final $\pm$ 7.3	

Suspenda 30 gramos del material seco en un litro de agua destilada. Mezcle y caliente agitando frecuentemente y hierva durante un minuto. Distribuya y esterilice en autoclave a -- 121°C (15 libras de presión) durante 15 minutos.

Usos: El medio de SIM es útil para la identificación habitual de bacilos entéricos. Ayuda en la diferenciación en --

tre géneros y la diferenciación entre especies. La motilidad se evidencia por el crecimiento lejos de la línea de inoculación.

#### Agar de Hierro de Kligler

El agar de hierro de Kligler se emplea para la diferenciación de los bacilos intestinales Gram-negativos, basándose en su capacidad de fermentar la dextrosa y la lactosa junto con la determinación de posible producción de sulfuro de hidrógeno.

Fórmula en gramos por litro de agua destilada:

Peptona Polypeptone	20.000
Lactosa	10.000
Dextrosa	1.000
Cloruro de sodio	5.000
Citrato de amonio férrico	0.500
Tiosulfato de sodio	0.500
Agar	15.000
Rojo de fenol	0.025
pH final $\pm$ 7.4	

Suspenda 52 gramos del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Mezcle bien y caliente agitando frecuentemente. Hierva durante un minuto. Distribuya en tubos y esterilice a 121°C (15 libras de presión) durante 15 minutos. Enfríe en posición inclinada, de manera de obtener extremos prolongados.

Usos: Las colonias seleccionadas se inoculan en el medio de Kligler en estría, en la superficie inclinada y por punción en la parte profunda. La fermentación de la glucosa se efectúa en anaerobiosis y se indica por un cambio del fondo a un color amarillo (reacción ácida del rojo de fenol). Los bacilos coliformes generalmente atacan la lactosa y producen una reacción ácida, tanto en la superficie inclinada como en el extremo del tubo. El ennegrecimiento es debido a la liberación de sulfuros.

#### Caldo MR-VP

Este medio se emplea para diferenciar las bacterias mediante las reacciones de rojo de metilo y de Voges-Proskauer. La prueba de rojo de metilo consiste en probar la capacidad de un microorganismo de producir y mantener estables los productos finales ácidos de la fermentación de la glucosa, y superar la capacidad amortiguadora del sistema. La prueba de Voges-Proskauer es para determinar la capacidad de algunos microorganismos de fermentar la glucosa, teniendo un producto final neutro, que es el acetilmetil carbinol (acetoína).

Fórmula en gramos por litro de agua destilada:

Peptona Polypeptone	7.0
Dextrosa	5.0
Fosfato de potasio	5.0

pH final  $\pm$  6.9

Suspenda 17 gramos del polvo en un litro de agua destilada y mezcle bien. Si es necesario caliente un poco hasta disolverse. Distribuya y esterilice entre 118° y 121°C ( no más de 15 libras de presión) durante 15 minutos.

Usos: Reacción de Voges-Proskauer. La reacción de VP se hace generalmente para mostrar la capacidad de producir acetilmetil carbinol. La prueba se puede realizar de varias maneras, una de ellas es: prepare 960 ml. de una solución de KOH al 10% y agregue una solución de un gramo de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  en 40 ml. de solución concentrada de  $\text{NH}_4\text{OH}$ . A 5 ml. de cultivo agregue --- otros 5 ml. de este álcali, que contiene sulfato cúprico y -- amonio. La aparición en 20 minutos de un color rojo de eosina indica la presencia de acetilmetil carbinol.

Reacción de rojo de metilo. A 5 ml. de un cultivo de 5 -- días, agregue 5 gotas de la solución indicador. Prepare la solución indicador de rojo de metilo disolviendo 0.1 gramo de -- rojo de metilo en 300 ml. de alcohol al 95% y diluyendo a 500-ml. con agua destilada.

En una reacción positiva se debe tener un color rojo bien definido, en tanto que el amarillo constituye la negativa.

#### Agar de Citrato de Simmons

El agar de citrato de Simmons se usa para diferenciar --- las bacterias entéricas Gram-negativas, basándose en la utili-

zación de citrato como única fuente de carbono para su metabolismo, con alcalinidad resultante.

Fórmula en gramos por litro de agua destilada:

Fosfato dihidrogenado de amonio	1.00
Fosfato dipotásico	1.00
Cloruro de sodio	5.00
Citrato de sodio	2.00
Sulfato de magnesio	0.20
Agar	15.00
Azul de bromotimol	0.08
pH final $\pm$ 6.9	

Suspenda 24.2 gramos del polvo en un litro de agua destilada. Mezcle bien y caliente suavemente agitando frecuentemente - hasta que el medio hierva durante un minuto. Distribuya en tubos y esterilice en autoclave a 121°C (15 libras de presión) -- durante 15 minutos. Enfríe en posición inclinada, aunque tam -- bién se puede emplear como medios en placa.

Usos: El agar de citrato de Simmons es un medio que se puede emplear como una de las pruebas de IMViC. Inocule el medio - inclinado estriando la superficie y puncione el fondo. Incube - los cultivos durante 4 días a 35-37°C. El medio empleado tam -- bién contiene sales inorgánicas de amonio. Un microorganismo -- que es capaz de usar el citrato como única fuente de carbón, - también utiliza las sales de amonio como única fuente de nitró-

geno. Las sales de amonio son escindidas a amoniaco ( $\text{NH}_3$ ) con alcalinidad resultante del medio. La aparición de un crecimiento visible va acompañado en general de un cambio alcalino --- (azul del indicador).

### Prueba de la Catalasa

Esta prueba se emplea para detectar la presencia de la enzima catalasa. Esta enzima está presente en muchos citocromos que contienen las bacterias anaerobias facultativas y aerobias. Generalmente los microorganismos que no contienen el sistema de citocromos tampoco tienen la enzima catalasa y así son incapaces de descomponer el peróxido de hidrógeno. Los anaerobios tienen peroxidasa en lugar de la catalasa. El peróxido de hidrógeno se forma como producto final degradativo de la descomposición aerobia de azúcares, si se deja acumular, es tóxico para la bacteria, provocando su muerte. La descomposición de peróxido de hidrógeno ocurre vía la acción de dos enzimas: la catalasa y la peroxidasa, en su descomposición una molécula actúa como substrato y la otra como donador. La enzima catalasa puede utilizar el peróxido de hidrógeno para oxidar los alcoholes metílico y etílico, produciendo sus correspondientes aldehídos. El pH óptimo para la actividad de la catalasa es 7.0.

El reactivo empleado para la prueba es peróxido de hidrógeno al 30% (Superoxal).

Prueba de rutina de catalasa. Se recomienda el método en placa. Pique el centro de una colonia de crecimiento en placa y coloque la colonia pura en un portaobjetos limpio. Adicione una gota de peróxido de hidrógeno al 30% sobre la colonia en el portaobjetos. Use un gotero o una pipeta Pasteur. No es necesario mezclar el inóculo con la gota.

La prueba es positiva cuando en el momento de adicionar el reactivo al crecimiento bacteriano se produce un vigoroso burbujeo (desprendimiento de oxígeno molecular).

### Prueba de la Coagulasa

Esta prueba consiste en probar la capacidad de un microorganismo para coagular el plasma por la acción de la enzima-coagulasa.

Existen varios métodos para realizar esta prueba, sin embargo la prueba tradicional en tubo ha sido la más popular porque es rápida y fácil de llevar a cabo.

Método del tubo directo. Las colonias sospechosas, por ejemplo las colonias doradas del medio de Staphylococcus 110, se escogen y transfieren individualmente a tubos de caldo, por ejemplo soya Trypticase, que promueva un rápido crecimiento. Incube los cultivos en caldo hasta que obtenga un buen crecimiento, normalmente entre 18 y 24 horas. Distribuya el plasma en cantidades de 0.5 ml. dentro de pequeños tubos de ensaye y agregue unos 0.05 ml. del cultivo bien crecido de caldo.

Gire suavemente los tubos para obtener una mezcla completa e-  
incube a 37°C en baño María. Emplee un control positivo (cepa  
probada productora de coagulasa). Examine los tubos periódica-  
mente, cualquier grado de coagulación en tres o cuatro ho-  
ras se considera un resultado positivo. Muchas cepas produc-  
toras débiles de enzima coagulan el plasma solamente después-  
de una noche de incubación.

La prueba de coagulasa es específicamente empleada para-  
diferenciar especies del género Staphylococcus. Una prueba --  
positiva es generalmente el criterio diagnóstico final para -  
la identificación de cepas patógenas de Staphylococcus. Es --  
frecuentemente usada como una indicación de virulencia o pa-  
togenicidad.

## VIII. B I B L I O G R A F I A

1. Amelar RD, et al  
Sperm motility  
Fertil Steril 1980 Sep; 34(3): 197-215
2. Appel RA; Evans PR  
The effect of temperature on sperm motility II. Is bacterial growth a factor?  
Fertil Steril 1978 Oct;30(4):436-438
3. Bailey WR; Scott EG  
Diagnostic Microbiology  
Third Edition  
Editorial Panamericana  
U.S.A. (1973)
4. Bell JS  
Psychological problems among patients attending an infertili  
ty clinic  
J Psychosom Res 1981;25(1):1-3
5. Bramley HM, et al  
Haemophilus vaginalis (Corynebacterium vaginale, Gardnerella vaginalis) in a family planning clinic population  
Br J Vener Dis 1981 Feb;57(1):62-66
6. Corbishley CM  
Microbial flora of the vagina and cervix  
J Clin Path 1977;30:745-748
7. Cowan and Steel's  
Manual for the identification of medical bacteria  
Second Edition  
Cambridge University Press  
Great Britain (1977)
8. Dahlberg B  
Asymptomatic bacteriospermia. Cause of infertility in men  
Urology 1976 Dec; VIII(5):563-566
9. Davidsohn I; Henry JB  
Todd-Sanford Diagnóstico clínico por el laboratorio  
Sexta Edición  
Salvat Editores  
España (1979)

10. Davis BD, et al  
Tratado de Microbiología  
Primera Edición  
Salvat Editores  
España (1977)
11. Del Porto GB, et al  
Bacterial effect on sperm motility  
Urology 1975 May; V(5):638-639
12. Díaz-Infante Ibarra A, et al  
Etiología y tratamiento en 204 parejas estériles  
Ginecol Obstet Mex 1979 Mar; 45(269):207-215
13. Difco Manual  
Difco Laboratories Incorporated  
Ninth Edition  
Michigan, U.S.A. (1971)
14. Dinulović D, et al  
Cervical infection as the cause of women's infertility  
Jugosl Ginekol Opstet 1980 May-Aug;20(3-4):197-202
15. Dolenc N  
Bacteriological findings in the cervical secretion of  
infertile women  
Jugosl Ginekol Opstet 1980 May-Aug;20(3-4): 203-207
16. Duerden BI  
The isolation and identification of Bacteroides spp from  
the normal human vaginal flora  
J Med Microbiol 1980 Feb;13(1):79-87
17. Edwards PR; Ewing WH  
Identification of Enterobacteriaceae  
Third Edition  
Burgess Publishing Company  
U.S.A. (1972)
18. Ekwempy CC, et al  
Microbial flora of the lower genital tract of women in  
labour in Zaria, Nigeria  
J Clin Pathol 1981 Jan; 34(1): 82-83
19. Eneroth P, et al  
Studies on the bacterial flora in semen from males in  
infertile relations

20. Friberg J  
Post-coital testing in relation to circulating sperm-  
agglutinating antibodies in women  
Am J Obstet Gynecol 1981 Mar; 139(5):587-591
21. Goldacre MJ, et al  
Vaginal microbial flora in normal young women  
Br Med J 1979 Jun 2;1:1450-1453
22. Gorbach SL, et al  
Anaerobic microflora of the cervix in healthy women  
Am J Obstet Gynecol 1973 Dec 15;117(8):1053-1055
23. Guyton AC  
Tratado de Fisiología Médica  
Quinta Edición  
Editorial Interamericana  
México (1977)
24. Hanson FW, et al  
The interaction of human spermatozoa with cervical mucus  
in vivo  
Am J Obstet Gynecol 1981 May 15;140(2):173-178
25. Larsen B; Galask RP  
Vaginal microbial flora: Practical and theoretic relevance  
Obst Gynecol 1980 May;55(5) Suppl:100S-113S
26. Lewis RW, et al  
Culture of seminal fluid in a fertility clinic  
Fertil Steril 1981 Feb;35(2):194-198
27. MacFaddin JF  
Biochemical tests for identification of medical bacteria  
First Edition  
The Williams & Wilkins Company  
Baltimore, U.S.A. (1977)
28. MacLeod AW  
Some psychogenic aspects of infertility  
Fertil Steril 1964;15(2):124-134
29. Makler A, et al  
Factors affecting sperm motility VI. Sperm viability under  
the influence of bacterial growth in human ejaculates  
Fertil Steril 1981 Jun;35(6): 666-670

30. Manual de Procedimientos de Laboratorio y de Productos BBL  
Becton Dickinson de México  
Quinta Edición  
Editores Asociados  
México (1974)
31. Matthews CS; Buxton CL  
Bacteriology of the cervix in cases of infertility  
Fertil Steril 1951;2(1):45-52
32. McCormack WM, et al  
Vaginal colonization with Corynebacterium vaginale  
(Haemophilus vaginalis)  
J Infect Dis 1977 Dec;136(6):740-745
33. Novak ER, et al  
Tratado de Ginecología  
Novena Edición  
Editorial Interamericana  
México (1977)
34. Rehewy MS, et al  
Aerobic and anaerobic bacterial flora in semen from fertile  
and infertile groups of men  
Arch Androl 1979 May;2(3):263-268
35. Rodríguez Villa L  
Comunicación Personal
36. Rodríguez Villa L  
Espermatobioscopia indirecta  
Rev Mex Pat Clin 1980 Ene-Mar;XXX(1):1-18
37. Rodríguez Villa L  
Estudio del líquido seminal  
Bioquimia 1982 Abr-Jun; IV(26):941-946
38. Sautter RL; Brown WJ  
Sequential vaginal cultures from normal young women  
J Clin Microbiol 1980 May;11(5):479-484
39. Teague NS, et al  
Interference of human spermatozoa motility by Escherichia coli  
Fertil Steril 1971 May;22(5):281-285
40. Toth A; Lesser ML  
Asymptomatic bacteriospermia in fertile and infertile men

Fertil Steril 1981 Jul;36(1):88-91

41. Tozzini RI, et al  
Esterilidad e Infertilidad Humanas  
Primera Edición  
Editorial Médica Panamericana  
Argentina (1980)
42. Walker HE  
Sexual problems and infertility  
Psychosomatics 1978 Aug;19(8):477-484
43. Watt B, et al  
Prevalence of bacteria in the vagina of normal young women  
Br J Obstet Gynaecol 1981 Jun;88(6):588-595