

29
24.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**

**ALTERACIONES EN LA PRUEBA POSTCOITAL (SIMS -
HÜHNER) DEBIDAS A LA PRESENCIA DE
MICROORGANISMOS PATÓGENOS EN EL TRACTO
GENITAL DE PACIENTES CON PROBLEMAS DE
ESTERILIDAD.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A :

GONZÁLEZ VEGA ELIZABETH

ASESORES: Q.F.I. ANDREA A. BECERRIL O.
DR. LUIS TOCA PORRAZ
BIOL. ESTHERLINDA LOZANO HERNÁNDEZ

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1997

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN.
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. U.
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



Departamento de

DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

Alteraciones en la prueba postcoital (Sims-Hühner) debidas a la presencia de microorganismos patógenos en el tracto genital de pacientes con problemas de esterilidad.

que presenta la pasante: Elizabeth González Vega
con número de cuenta: 9156175-2 para obtener el TITULO de:
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuatitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 18 de Junio de 1997

PRESIDENTE	<u>M.V.Z. Luz Ma. Ortega Leyva</u>
VOCAL	<u>Q.F.I Andrea Becerril Osnaya</u>
SECRETARIO	<u>Q.F.B. Idalia Avila Miyazawa</u>
PRIMER SUPLENTE	<u>M. en C. Andres Romero Rojas</u>
SEGUNDO SUPLENTE	<u>Q.F.E. Rene Damian Santos</u>

Signature
Andrea Becerril Osnaya
M. en C. Andres Romero Rojas
Q.F.E. Rene Damian Santos

DEDICATORIAS

A ti mamá, por todo lo que me has dado: amor, comprensión, apoyo y mucha paciencia.

Espero que esto sea para ti, como una pequeña recompensa a tus desvelos, preocupaciones y sacrificios; que sea uno de los doce grandes sueños que ahora se realizan para ti.

A María Vega G. con todo mi amor.

A Esther, Irene, Manu, Ely, Vis, Carmelo y Angel. A Paly, Jimmy, Roni y Diana. Por su invaluable ayuda y apoyo incondicional. A ustedes, porque sé que, en lo que cada uno hace, siempre trata de ser el mejor.

Gracias por ser un bello ejemplo.

A todos mis sobrinos con muchísimo cariño, esperando que esto pueda motivarlos un poco para que, sin importar cuáles sean sus metas en la vida, siempre luchen por alcanzarlas y traten de superar a los que vamos delante de ustedes.

Los quiero mucho.

A Victor M. De los Santos, por el cariño y apoyo que me das.

Gracias por estar con mígo.

AGRADECIMIENTOS

A Alicia, Betty, Vero y Hemy por regalarme su amistad y cariño a través de tantos años. Gracias por seguir compartiendo con mígo travessuras, sueños y realidades.

Las quiero mucho.

Gracias a quienes supieron ser, más que compañeros, amigos: Rosa A., Lety D., Nora J., Yadira O., Rocío R., Raquel C., Martín E., Marco; por ser de quienes tengo los mejores recuerdos de la Facultad.

Siempre los recordaré.

A Ma. Esther, Arel y Xwyn , gracias por soportarme, aunque sea un poco. Y a ti * teta * gracias por los dibujos.

A todos aquellos quienes contribuyeron de una u otra forma para la elaboración de esta tesis:

Dr. Luis Joca, Biol. Estherlinda Lozano, Profra. Andrea Becenit, Profr. Gerardo Cruz, Profr. H. Coss.

Gracias también a los integrantes del jurado.

Muchas gracias por sus consejos y el tiempo dedicado a este trabajo.

Al INIO # 3, especialmente a los laboratorios de Biología de la Reproducción y Bacteriología.

Í N D I C E

I. Abreviaturas	7
II. Resumen	9
III. Lista de tablas	11
IV. Lista de figuras	12
1. <i>Introducción</i>	15
2. <i>Generalidades</i>	17
2.1 Anatomía y fisiología de la vagina	17
2.2 Flora normal y patógena del tracto genital femenino.	19
2.3 Definiciones	22
2.3.1 Esterilidad	22
2.3.2 Infertilidad	22
2.3.3 Fertilidad	22
2.3.4 Fecundidad	22

2.4 Principales causas y factores de riesgo en esterilidad.	23
2.4.1 Causas de esterilidad.	23
2.4.2 Factores de riesgo en esterilidad.	26
2.5 Importancia del factor cervical en esterilidad.	26
2.5.1 Anatomía y fisiología cervical.	27
2.5.2 Funciones del cérvix.	30
2.5.3 Transporte de espermatozoides en el moco cervical.	31
2.6 Investigación del factor cervical en esterilidad.	32
2.6.1 Historia clínica.	32
2.6.2 Estudio del moco cervical.	32

2.6.3 Prueba postcoital.	34
2.6.4 Estudios <i>in vitro</i> de interacción espermatocoides-moco cervical.	37
3. <i>Hipótesis.</i>	38
4. <i>Objetivos.</i>	39
4.1 Objetivo general	39
4.2 Objetivos particulares	39
5. <i>Material y métodos.</i>	40
5.1 Material	40
5.1.1 Diseño experimental	40
5.1.2 Muestras	40
5.1.3 Medios de cultivo	41
5.1.4 Equipos y reactivos	42
5.2 Métodos.	37
5.2.1 Análisis bacteriológico	43
5.2.1.1 Exámen microscópico directo	43

5.2.1.2 Cultivo de las muestras e identificación de los microorganismos presentes	44
5.2.2 Prueba postcoital	46
6. <i>Resultados.</i>	51
7. <i>Discusión.</i>	60
8. <i>Conclusiones.</i>	64
9. <i>Bibliografía</i>	66
V. Apéndices	73
Apéndice A. Composición y preparación de los medios de cultivo utilizados.	73
Apéndice B. Pruebas bioquímicas utilizadas	79
Apéndice C. Principales características bioquímicas	

de Enterobacterias. 90

**Apéndice D. Características generales de los microorganismos
identificados 92**

I. ABREVIATURAS

A.-Ch.	:	Agar chocolate
A.-MacC:	:	Agar MacConkey
A.-S.	:	Agar sangre
A.-SM	:	Agar sal y manitol
A.-T M.	:	Agar Tayer Martin
BHI.	:	Infusión cerebro corazón.
cat.	:	Catalasa
°C.	:	Grados centígrados
CMC.	:	Calidad del moco cervical
CO ₂ .	:	Bióxido de carbono
F.P.	:	Flora patógena.
Frec.	:	Frecuencia
g.	:	Gramos.
HGO.No 3 :	:	Hospital de Gineco Obstetricia número 3
HPF	:	Alto poder de magnificación.
hr.	:	Horas
LIA	:	Agar de hierro y lisina.
lb.	:	Libras
LPF	:	Bajo poder de magnificación.
min.	:	Minutos

MIO.	:	Motilidad, indol, descarboxilación de la ornitina.
ml.	:	Mililitros
m.o.	:	Microorganismo (s).
Ox.	:	Oxidasa
PE.	:	Penetración espermática
PPK	:	Prueba postcoital o Sims-Hühner
SIM.	:	Sulfuro, indol, motilidad.
SSF.	:	Solución salina fisiológica.
Sp.	:	Especies

II. RESUMEN

En el presente estudio se trabajó con un grupo de 98 pacientes que acudieron al laboratorio de Biología de la Reproducción del H. G. O. No. 3 del Centro Médico la Raza, con un diagnóstico de esterilidad. En estas pacientes se observó que la mayoría, 51 %, corresponden a esterilidad primaria, el 35.7 % a esterilidad secundaria y en el resto de ellas, su diagnóstico no fué especificado.

Se encontró que en este grupo de pacientes sólo el 6.1 % estuvo libre de flora patógena, mientras que en el 93.9 % se aislaron e identificaron uno o más microorganismos patógenos. De estos m.o, los cinco más importantes de acuerdo a su frecuencia fueron : Candida albicans (75.5 %), Escherichia coli (34.7 %), Staphylococcus aureus (22.4 %), Gardnerella vaginalis (17.3 %) y Klebsiella sp. (14.3 %); también presentes, aunque en un porcentaje muy bajo estuvieron Neisseria gonorrhoeae, Proteus vulgaris y Pseudomonas aeruginosa (con el 1% de casos cada uno).

De la flora normal encontrada en las pacientes, los más frecuentes fueron los Staphylococcus epidermidis (66.3%), luego los Lactobacillus sp. (29.6%) y por último los Streptococcus alfa hemolíticos (11.2%).

En el 81.6% de los casos se obtuvo una mala penetración espermática y la presencia de flora patógena fué predominante y sólo se encontró un 2 % de

casos sin flora patógena y buena penetración espermática. Esto se muestra en las diferentes gráficas y cuadros en la parte de resultados.

Como se puede observar en los resultados, la presencia de microorganismos patógenos en el cervix vaginal de estas pacientes, si altera los resultados de la prueba postcoital (Sims-Hühner), por lo que no se debe pasar por alto la búsqueda y tratamiento de infecciones en las pacientes con problemas de esterilidad.

III. LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros para evaluar el factor cervical.

Tabla 2. Muestra el número y porcentaje de pacientes con los diferentes tipos de esterilidad, así como aquellos casos donde este parámetro no fué reportado.

Tabla 3. Presencia y/o ausencia de flora patógena en las muestras analizadas.

Tabla 4. Microorganismos patógenos encontrados en las 98 muestras.

Tabla 5. Microorganismos no patógenos encontrados en las muestras analizadas.

Tabla 6. Valores de pH medidos en 51 de las 98 muestras analizadas.

Tabla 7. Resultados obtenidos en las pruebas postcoitales realizadas.

Tabla 8. Comparación de los resultados obtenidos en la prueba postcoital (PE) con la presencia o ausencia de flora patógena (FP) encontrada.

Tabla 9. Comparación de los resultados obtenidos en la prueba postcoital y los diferentes microorganismos patógenos encontrados.

IV. LISTA DE FIGURAS.

Figura 1. Anatomía de los genitales externos femeninos.

Figura 2. Modelo de las criptas cervicales.

Figura 3. Modelo de la estructura reticular micelar del moco cervical bajo el influjo estrogénico (a) y el influjo progestágeno (b).

Figura 4. Anatomía cervical. Figura que muestra la anatomía cervical (endo y exocervix) y el área denominada fondo de saco, que son los sitios para la recolección de muestras para la prueba postcoital.

Figura 5. Diagrama que representa la metodología utilizada para el examen microscópico directo.

Figura 6. Diagrama que representa el procedimiento para el aislamiento de microorganismos aeróbicos (Enterobacterias sp., Staphylococcus sp.)

Figura 7. Diagrama que representa la metodología utilizada para el cultivo de microorganismos microaerofílicos (Neisseria sp., Haemophilus sp., Streptococcus sp., Gardnerella vaginalis.)

Figura 8. Diagrama que representa la metodología utilizada para el cultivo de Candida sp.

Figura 9. Distribución de las pacientes estudiadas de acuerdo al tipo de esterilidad.

Figura 10. Representación de las muestras en base a la presencia o ausencia de flora patógena.

Figura 11. Representación gráfica de los resultados obtenidos en las pruebas postcoitales realizadas.

Figura 12. Comparación gráfica de los resultados obtenidos en la prueba postcoital y la presencia o ausencia de flora patógena.

Figura 13. Comparación de los resultados obtenidos en la prueba postcoital y los diferentes microorganismos patógenos encontrados.

**ESTE TRABAJO FUE REALIZADO EN EL HOSPITAL DE
GINECO - OBSTETRICIA No. 3 DEL CENTRO MÈDICO LA
RAZA, EN EL LABORATORIO DE BACTERIOLOGÌA Y
CON LA COLABORACIÒN DEL LABORATORIO DE
BIOLOGÌA DE LA REPRODUCCIÒN.**

1. INTRODUCCIÓN

Cuando una pareja decide tener hijos y descubre que no puede lograrlo, se enfrenta a una situación diferente a otros problemas médicos, para la cual, habitualmente no está preparada. Sus reacciones son diversas, complejas y en ocasiones irracionales, debido a que se considera a la esterilidad como un obstáculo para cumplir la función social esperada de toda pareja y para la cual se ha preparado cada individuo a lo largo de su vida.^{21,27}

La esterilidad se define como el fracaso de una pareja para concebir después de un año de relaciones sexuales sin protección anticonceptiva.^{13,19}

Este es un problema real de salud pública debido a su relativa frecuencia, la distribución de los factores de riesgo y sus diversas causas médicas.

El problema es más frecuente de lo que se piensa y su incidencia tiende a aumentar.

Independientemente de nuestro alto índice de crecimiento poblacional, hay datos que hacen suponer que el número de parejas afectadas por este tipo de problemas en nuestro país es aproximadamente del 15 %.²⁷

Es triste reconocer que en ocasiones la esterilidad es iatrogénica, por intervenciones quirúrgicas innecesarias o mal realizadas, empleo de métodos anticonceptivos inapropiados, secuelas de terapéuticas médicas o quirúrgicas, retardo en el diagnóstico, etc.

La etiología del problema puede radicar en el hombre, en la mujer o en ambos. Pero el trabajo cotidiano con estas parejas muestra que con relativa frecuencia la carga de responsabilidad recaé sobre la mujer, independientemente del origen real del problema.²¹

Para obtener mejores resultados en este tipo de problemas, es imperativo un enfoque diagnóstico y terapéutico organizado e integral; que sea eficiente sin descuidar los aspectos emocionales de la pareja.²⁷

2 . GENERALIDADES

2.1 ANATOMÍA Y FISIOLÓGÍA DE LA VAGINA.

La vagina es un órgano que cumple las funciones de vía para la salida del flujo menstrual, de recibir al pene durante el coito y de formar la parte inferior del conducto o canal del parto. Se trata de un conducto musculoso membranoso recubierto por mucosa, de unos 10 centímetros de longitud. La vagina se sitúa entre la vejiga y el recto (figura 1) y esta orientada en sentido postero superior, comunica en su extremo superior con el útero y la mucosa vaginal. En la unión de la vagina con el cuello uterino, se forma alrededor de este una bóveda o fondo de saco de la vagina.^{25,26}

La mucosa vaginal no presenta glándulas, excepto las glándulas de Bartholin y Skene, localizadas en el introito y orificio uretral.²⁵

La mucosa vaginal almacena grandes cantidades de glucógeno, cuyo desdoblamiento da origen a la presencia de ácidos orgánicos. Estos últimos confieren al medio vaginal un pH bajo que hace lenta la reproducción bacteriana, pero también resulta dañino para los espermatozoides. El líquido seminal neutraliza la acidez de la vagina y con ello alarga la vida de los espermatozoides en la propia vagina.^{25,29.}

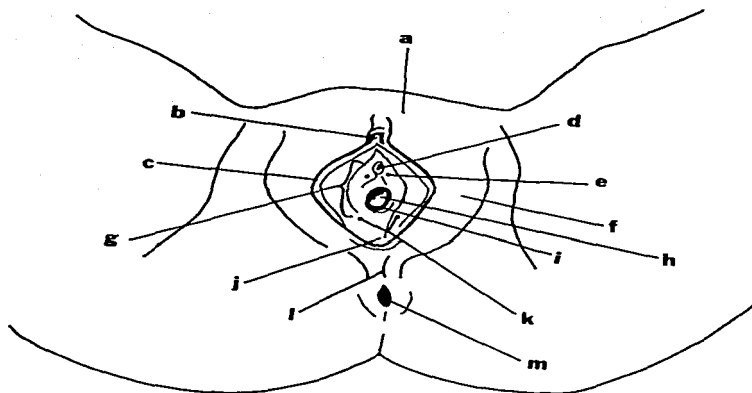


Figura 1. Anatomía de los genitales externos femeninos.²⁵

a. Monte de venus

b. Clitoris

c. Labio menor

d. Meato uretral

e. Conducto de Skene

f. Labio mayor.

g. Vestíbulo

h. Orificio vaginal

i. Himen

j. Pliegue posterior

k. Conducto de las glándulas de Bartholin

l. Perineo

m. Ano

La descarga vaginal normal presenta una mezcla de varios componentes, principalmente: secreciones de las glándulas de Bartholini y Skene, transudación a través de la pared vaginal, células epiteliales vaginales de descamación, moco cervical, fluido endometrial y leucocitos escasos.^{32.}

Las características de la secreción normal de la vagina son:^{29.}

- Color blanquecino mucoso
- Cantidad mínima o variable
- pH menor a 5.
- Leucocitos escasos
- Bacilos Gram positivos (Lactobacillus)
- Células epiteliales de descamación.

Los constituyentes orgánicos en mayor proporción de la secreción vaginal son: proteínas, carbohidratos, urea y ácidos grasos.^{25.}

2. 2 FLORA NORMAL Y PATÓGENA DEL TRACTO GENITAL FEMENINO

El tracto genital femenino normal está recubierto por una mucosa formada por células epiteliales de transición, cilíndricas y escamosas.

Estas superficies están colonizadas por una variedad de bacterias comensales, que no provocan daño al huésped, excepto en circunstancias anormales, y que evitan la adherencia de organismos patógenos¹.

La flora vaginal se ve influenciada por varios factores tales como el glucógeno almacenado en las células epiteliales, glucosa, pH, aporte hormonal, embarazo, traumas, coito, dispositivo intrauterino, cremas locales, anticonceptivos orales, etc.²⁵

Las mujeres prepúberes y postmenopáusicas albergan sobre todo estafilococos y corinebacterias, mientras que las mujeres en edad fértil pueden presentar un gran número de bacterias facultativas como enterobacterias, estreptococos y estafilococos y también anaeróbios como lactobacilos, cocos y bacilos no esporulados anaeróbios y clostridios.

La variedad de flora anaeróbia permanece invariable durante todo el ciclo menstrual.²

Aunque algunas levaduras pueden ser recuperadas transitoriamente del tracto vaginal, no forman parte de la flora normal del tracto genital femenino, siendo los lactobacilos los m.o. predominantes en la secreción vaginal normal.

Las infecciones en el tracto genital de las mujeres en etapa previa o posterior a su período fértil con frecuencia se deben a irritaciones o cuerpos extraños y están causadas por los mismos m.o. que provocan la infección de lesiones cutáneas.

Los microorganismos recuperados del tracto genital que usualmente son considerados *patógenos* incluyen : Chlamydia trachomatis, Gardnerella vaginalis, Haemophilus ducreyi, Mycoplasma hominis, Neisseria gonorrhoeae, Ureaplasma urealyticum, Escherichia coli, Treponema pallidum, Candida albicans; algunos virus (Citomegalovirus, Herpes virus tipo II, HIV) y protozoarios como Trichomona vaginalis.²

Diversas bacterias han sido identificadas en las secreciones genitales de parejas con problemas de esterilidad, pero la patogenicidad no ha sido establecida en la mayoría de las especies; aunque si se sabe que los mollicutes (Mycoplasma y Ureaplasma) causan problemas reproductivos y su colonización en el tracto genital ha sido relacionada con esterilidad y aborto en la mujer.^{12,28,36}

2.3 DEFINICIONES ²⁷

2.3.1. Esterilidad : Es la incapacidad de una pareja para lograr una concepción después de un año de relaciones sexuales sin protección anticonceptiva.

La esterilidad se denomina *primaria* cuando nunca se ha logrado un embarazo y *secundaria* cuando ha habido embarazos previos.

2.3.2. Infertilidad : ésta implica la capacidad de lograr concepciones, pero no hijos viables.

2.3.3. Fertilidad : Es la capacidad de concebir en un lapso definido.

Para los demógrafos, la fertilidad significa eficiencia reproductiva, medida en términos de productos vivos.

2.3.4. Fecundidad : Extiende el concepto de fertilidad al incluir la capacidad para concebir y lograr un producto vivo.

2.4 PRINCIPALES CAUSAS Y FACTORES DE RIESGO EN ESTERILIDAD.

2.4.1 CAUSAS.

Las causas de esterilidad son numerosas y la responsabilidad del hombre y de la mujer, conviene subrayarlo, es igual en este caso.^{23,27}

El problema puede radicar en el hombre, en la mujer o en ambos. En cada caso uno o varios factores pueden estar alterados en grado variable. Algunos sólo dificultan la concepción, mientras que otros la impiden por completo o provocan pérdida repetida de la gestación. Hay patología susceptible de corrección y otra completamente irreversible.

En el *hombre* la causa de esterilidad es una deficiencia en la producción de esperma, tanto en cantidad como en calidad.

Las principales etiologías son : enfermedades congénitas, algunas veces cromosómicas; enfermedades infecciosas como la parotiditis; deficiencias hormonales; exposición de las gónadas a radiaciones.

Puede tratarse igualmente de una anomalía congénita o adquirida por las vías de transporte del esperma. También la impotencia, fenómeno que a menudo tiene base psicológica y que es un factor importante de esterilidad.

En el hombre se han hallado anticuerpos antiespermatozoides en la circulación, plasma seminal y la superficie espermática.

En la *mujer* la esterilidad se debe a una anomalía en la producción de óvulos, a la incapacidad de fecundación con el espermatozoide, o bien a la dificultad en la implantación del cigoto.

Las causas vaginales pueden ser orgánicas o funcionales pero son raras.

El cuello del útero puede ser uno de los principales obstáculos para el paso del espermatozoide a causa de una infección (que puede ser endocervical) o de una insuficiencia en la secreción del moco cervical, indispensable para la migración y la supervivencia de los espermatozoides.

El útero raramente es la causa. Se advierten algunas veces malformaciones como son útero bicorne bicollis (septado), unicornio, bicorne unicollis, didelfo, septado o subseptado; también los fibromas.

La esterilidad cuyo origen son las trompas generalmente es secundaria a un proceso infeccioso, causante de una obstrucción de dichas trompas, lo que impide el encuentro del óvulo con los espermatozoides.

Los factores endócrinos u hormonales son muy importantes : en particular los cuerpos amarillos pueden ser deficientes y dar lugar a la ausencia de ovulación.

Los niveles de anticuerpos séricos antiespermatozoides son significativamente mayores en mujeres con esterilidad de causa desconocida con una incidencia que varía entre el 7 y el 10 % .

Los efectos de los anticuerpos antiespermatozoides en el tracto genital femenino son de aglutinación, inmovilización o citotóxicos.

En la mujer además de anticuerpos antiespermatozoides se han identificado anticuerpos antizona pelúcida, antitrofoblasto, anticélulas endometriales implicadas en aborto recurrente y anticélulas esteroides que se han encontrado en casos de falla ovárica prematura.

En fin, los factores emocionales, como cualquier mujer ha podido darse cuenta, desempeñan un papel importante, aunque muy difícil de determinar por el médico.

Se sabe que los factores causales de disminución de fertilidad en una pareja varían de acuerdo a la población de que se trate. Por ejemplo, la patología tubaria infecciosa es más frecuente en grupos de bajo nivel socioeconómico, mientras que problemas como endometriosis y anovulación son más frecuentes en las clases de nivel más alto.

Numerosos estudios muestran que la distribución aproximada de cada uno de los factores causales es : masculino 25 - 30 % ; ovárico 20 - 30 % ; tubario 15 - 20 % ; cervical 5 - 10 % ; causa desconocida 5 - 10 % .

En más del 30 % de los casos hay patología múltiple simultánea y la incidencia de abortos espontáneos es del 15 % .²⁷

2.4.2 FACTORES DE RIESGO

Algunos factores de riesgo son ya bien conocidos tales como los factores infecciosos para la patología tubaria.²⁷

Se sabe que alteraciones nutritivas severas que causen desnutrición u obesidad disminuyen la fertilidad. Lo mismo puede decirse del ejercicio en forma exagerada. También situaciones de estrés, medicamentos como anticonceptivos, tranquilizantes, estimulantes, analgésicos, etc. que sean mal administrados alteran la fertilidad. Al igual que la ingesta crónica y exagerada de alcohol, cafeína, nicotina y otras drogas.

La tendencia actual de posponer embarazos disminuye las posibilidades futuras de lograrlo, por edad avanzada, incremento de endometriosis, agravamiento de problemas no detectados previamente, etc.

La exposición a tóxicos ambientales e infecciones genitales que pueden estar asociadas a algunas prácticas anticonceptivas también pueden estar asociadas a esterilidad e infertilidad.^{13,17,27,31,37}

2.5 IMPORTANCIA DEL FACTOR CERVICAL EN ESTERILIDAD

Se considera que la evaluación del factor cervical en la interacción espermatzoide - moco cervical, constituye un paso importante en la investigación de la infertilidad. Se ha señalado que las anomalías en el

cuello y su secreción son responsables en aproximadamente 10-30% de las mujeres, aunque en las parejas infértiles cuidadosamente investigadas, en las cuales el factor masculino ha sido adecuadamente excluido, la incidencia verdadera quizá no sea mayor al 5-10%.^{21,27,36,39}

Este puede ser un factor causal único de esterilidad, aunque lo más frecuente es que forme parte de patología múltiple asociada.²⁷

Este factor es afectado por múltiples variables como problemas inmunológicos, infecciosos, etc. y su evaluación debe involucrar la interacción con los espermatozoides.

Además de la historia clínica, la evaluación de este factor se inicia con el estudio del moco cervical a través de la prueba postcoital.²⁷

2.5.1 ANATOMÍA Y FISIOLÓGÍA CERVICAL.

El cuello uterino tiene una mayor cantidad de tejido fibroso que el resto del cuerpo uterino. En el orificio cervical externo se encuentra la unión de epitelio escamocolumnar y ahí se inicia el canal endocervical.

El canal cervical representa un sistema complejo de pliegues y criptas (figura 2), que en parte profundizan en el tejido conjuntivo del cervix, mostrando ramificaciones secundarias y túneles de comunicación .

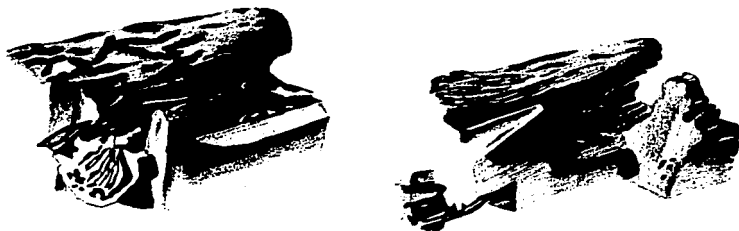


Figura No. 2 Modelo de las criptas cervicales .³²

La superficie está revestida por un epitelio cilíndrico productor de moco. El 95 % de las células son secretoras y el 5 % restantes son ciliadas.

Los estrógenos aumentan el diámetro del orificio cervical externo, la actividad ciliar y el número de criptas endocervicales, mientras que los progestágenos los disminuyen ^{27,39}

El moco cervical también modifica sus características de acuerdo a las influencias hormonales de las diferentes etapas del ciclo. En la preovulatoria y ovulatoria es abundante y fluido, mientras que en la lútea es escaso y viscoso.

El moco cervical es una secreción compleja producida por las células secretoras del endocervix . El componente más importante es un hidrogel rico en hidratos de carbono y que consiste en glucoproteínas de alto peso molecular tipo mucina, las cuales forman micelas.^{27,32}

La mayoría de las propiedades físicas del moco cervical se deben a estas mucinas.

Las micelas asociadas entre sí en el moco periovulatorio (dominancia estrogénica) dejan espacio suficiente para la libre movilidad de los espermatozoides, en tanto que la red de micelas bajo el influjo de los progestágenos posee una estructura tan densa que los espermatozoides no pueden atravesar el gel (figura No. 3).

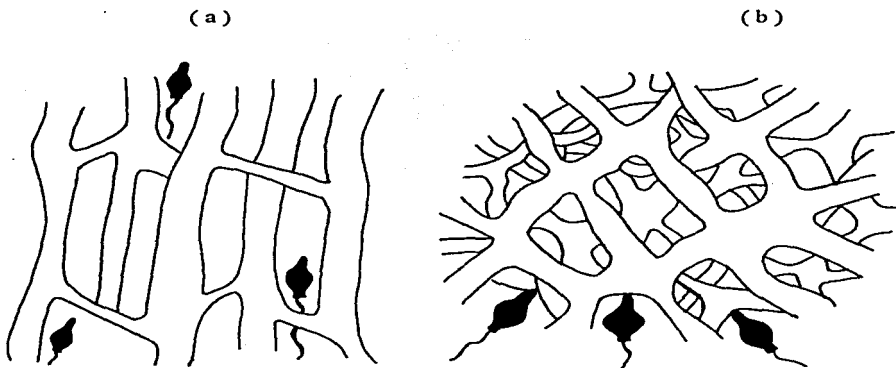


Figura No. 3 Modelo de la estructura reticular micelar del moco cervical bajo el influjo estrogénico (a) y el influjo progestágeno (b).²⁷

2.5.2 FUNCIONES DEL CERVIX

Las funciones del cervix son dobles : por un lado sirve como una barrera para impedir la invasión microbiana y por otro permite la penetración periovulatoria de espermatozoides mediante funciones que incluyen protección del medio ácido vaginal, nutrición y capacitación, filtración para prevenir el ascenso de formas anormales y el almacenamiento para liberación posterior.

2 . 5 . 3 TRANSPORTE DE ESPERMATOZOIDES EN EL MOCO CERVICAL

El contenido vaginal es por lo general ácido, con un pH de aproximadamente 3 - 5. Sin embargo, la secreción cervical tapiza la parte superior de la vagina y su fornix, e incrementa considerablemente la alcalinidad del medio vaginal, proveyendo un medio favorable para los espermatozoides y promoviendo aparentemente su motilidad y longevidad.^{25,31}

El plasma seminal, líquido alcalino, también tiene efecto amortiguador en el medio vaginal facilitando en consecuencia la transición del espermatozoide del semen hacia el interior del moco cervical.¹¹

La migración del espermatozoide a lo largo del cuello incluye tres factores distintos aunque interrelacionados :

- a) La habilidad de los espermatozoides para penetrar el moco a través de su motilidad intrínseca
- b) La estructura fibrilar de la mucina cervical que le permite participar activamente en el proceso de transporte del espermatozoide y
- c) La configuración morfológica de las criptas cervicales que contribuyen al almacenamiento y preservación de los espermatozoides en el canal cervical, y a su liberación sostenida y prolongada hacia el tracto superior.

El espermatozoide humano está provisto de motilidad intrínseca, una propiedad esencial para la penetración del moco cervical y la subsiguiente fertilización.

2.6 INVESTIGACION DEL FACTOR CERVICAL EN ESTERILIDAD

2.6.1 HISTORIA CLÍNICA

Es importante investigar la historia de infecciones venéreas, leucorreas, infecciones postparto o postaborto, legrados, dispositivos intrauterinos, etc. Es decir, todos aquellos eventos capaces de producir cicatrización, distorsión, desplazamientos, estenosis, hipoplasia, septum vaginal, anomalías del cervix, infecciones vaginales o cervicales, etc.²⁷

2.6.2 ESTUDIO DEL MOCO CERVICAL

Este es un método rápido, práctico y al alcance de cualquier ginecólogo para evaluar inicialmente el factor cervical e indirectamente el estado hormonal de la mujer.

Las características que se evalúan son : volumen, consistencia o viscosidad, spinnbarkeit o elasticidad, celularidad y arborización. Estos puntos se muestran en la tabla No. 1

El pH, aunque se toma en cuenta, no se incluye en la calificación.^{12,27}

PARÁMETRO

CALIFICACIÓN

	0	1	2	3
Volumen	0 ml	0.1 ml	0.2 ml	0.3 ml
Consistencia	Espeso o muy viscoso	Intermedio o viscoso	Levemente viscoso	Muy fluido o preovulatorio
Arborización (ferning)	Sin cristalización	Arborización atípica	Tallos primarios y secundarios	Tallos terciarios y cuaternarios
Filancia (spinnbarkeit)	- 1 cm	1.4 cm	5 - 8 cm	+ 9 cm
Celularidad	+ 11 cel/HPF	6-10 Cel/HPF	1-5 Cel/HPF	0 Cel/HPF
Calificación total	0	5	10	15

Tabla No. 1 Parámetros para evaluar el factor cervical.²⁷

Una puntuación menor a 10 indica moco inadecuado para penetración espermática, arriba de 10 favorable para ésta y 15 excelente.²⁷

2.6.3 PRUEBA POSTCOITAL (SIMS-HÜHNER)

La prueba postcoital fué descrita por Sims en 1866 quien reconociendo la importancia de la motilidad del espermatozoide y del momento de la prueba, llevó a cabo pruebas inmediatas postcoitales en muchas mujeres, y halló espermatozoides en el moco cervical al cabo de unos pocos minutos luego del coito.³⁹

Se debe a Hühner, sin embargo, la popularización de la prueba como índice de interacción moco cervical - espermatozoide.

Esta es una prueba para evaluar la interacción mucoespermática y se le conoce también como prueba de Sims - Hühner o PPK.

Existen múltiples variantes de la misma, algunas con tecnología computarizada para una evaluación estandarizada de la motilidad espermática. Es conveniente aclarar que esta prueba no sustituye a la espermatozoscopia directa.

Para la realización de esta prueba se recomienda abstinencia sexual alrededor de dos días antes de la misma y se programa en el periodo periovulatorio inmediato, que es cuando las características del moco cervical son óptimas para la penetración espermática³⁹.

La prueba postcoital (Sims - Hühner) es considerada en la actualidad una parte integral en la investigación de la infertilidad, pero pese a su popularidad

existe una falta de normatización y sigue existiendo desacuerdo en cuanto a la interpretación de los resultados^{30,38,39}

Probablemente gran parte de la confusión acerca de la prueba ha resultado de las múltiples variables que están involucradas : técnica coital, intervalo para el coito, calidad del moco cervical, calidad del semen, y la fase del ciclo menstrual.³⁷

Una vez controladas estas variables y limitaciones la prueba resulta de gran importancia.

El objetivo de la prueba postcoital no es solamente la determinación de la existencia de una cantidad suficiente de espermatozoides activos en el moco cervical, sino que también puede evaluar la supervivencia y conducta de los espermatozoides varias horas después del coito.

El tipo de muestras que se emplean para esta prueba son obtenidas del fornix vaginal posterior (fondo de saco) y del endocervix, las cuales se examinan macro y microscópicamente (figura No. 4).

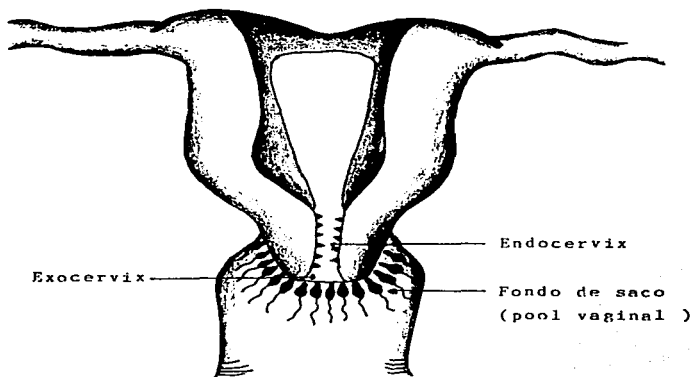


Figura No. 4 Anatomía cervical ³⁹

Figura que muestra la anatomía cervical (endo y exocervix) y el área denominada fondo de saco que son los sitios para la recolección de muestras para la prueba postcoital.

Una prueba postcoital negativa es de poco valor clínico y debe ser repetida.^{30,37,39}

Cuando una prueba postcoital resulta negativa de manera persistente (que no sea debido a mal tiempo en su realización) acarrea un bajo pronóstico de fertilidad.

Por otra parte, se ha reportado que los desordenes infecciosos y ovulatorios son las principales causas de una mala prueba postcoital.³⁰

2 . 6 . 4 ESTUDIOS *IN VITRO* DE INTERACCIÓN ESPERMATOZOIDES - MOCO CERVICAL

Se puede hacer una estimación detallada de la interacción entre los espermatozoides y el moco cervical mediante pruebas de penetración del moco cervical *in vitro*. Existen tres categorías principales de estas pruebas :

- 1) prueba del portaobjeto
- 2) prueba del contacto entre los espermatozoides y el moco cervical y
- 3) prueba del tubo capilar,

Las dos primeras técnicas resultan fáciles y aportan información útil cuando se estudia la calidad del semen. La prueba del tubo capilar es más elaborada y da una noción semicuantitativa del nivel de penetración de los espermatozoides en el moco cervical.¹⁸

Se ha demostrado una buena correlación entre los resultados obtenidos mediante estas técnicas.^{18,27,30}

3 . HIPÓTESIS

Los microorganismos patógenos que se encuentran presentes en el tracto genital pueden alterar la prueba postcoital (Sims - Hühner).

4 . OBJETIVOS

4.1 Objetivo general.

Determinar si existe alguna relación entre los resultados anormales de la prueba postcoital y la presencia de microorganismos patógenos en el tracto genital femenino de pacientes con problemas de esterilidad.

4.2 Objetivos particulares.

1) Aislar e identificar los microorganismos presentes en el tracto genital (fondo de saco y endocervix) de pacientes con problemas de esterilidad y determinar su frecuencia.

2) Comparar los resultados bacteriológicos obtenidos con los de la evaluación de la prueba postcoital de interacción semen - moco cervical y observar si existe alguna relación.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 MATERIAL

5.1.1. DISEÑO EXPERIMENTAL.

Se estudió un grupo de 98 mujeres con problemas de esterilidad quienes acudieron al Hospital de Gineco Obstetricia No.3 del Centro Médico La Raza, para ser atendidas por el laboratorio de Biología de la Reproducción; a estas pacientes se les practicó la prueba postcoital y el análisis bacteriológico de las secreciones cervicovaginales, descartándose previamente aquellas que presentaron azoospermia.

5.1.2. MUESTRAS

La toma de muestras se realizó durante el periodo periovulatorio del ciclo menstrual de las pacientes.

Se recolectó la muestra correspondiente a la prueba postcoital y además dos hisopos de cada área (fondo de saco vaginal y endocervix) para el análisis bacteriológico.

De los dos hisopos, uno se colocó en medio de BHI y el otro en SSF.

5.1.3 MEDIOS DE CULTIVO.

Se utilizaron los siguientes medios de cultivo(ver apéndice A y B)

Agar Sangre

Agar Chocolate

Agar Thayer Martin

Agar MacConkey

Agar Sal y Manitol

Medio Müeller Hinton

Tubos de ensaye con : medio Biggy

agar Citrato de Simmons

agar Hierro de Kliegler

medio LIA

medio MIO

medio de SIM

caldo de Malonato

medio de BHI

-SSF

-Suero y plasma humano frescos, obtenidos de los pacientes
que acuden al laboratorio del HGO No.3.

5.1.4 EQUIPOS Y REACTIVOS

Colorantes y reactivos para realizar las siguientes pruebas :

Tinción Gram

Catalasa

Oxidasa

Reactivo de Kovacs

Porta y cubreobjetos, hisopos estériles, papel indicador para pH.

Pipetas Pasteur, pipetas graduadas de 1 y 5 ml.

Gradillas, mechero, asas bacteriológicas y aceite de inmersión,

Estufa bacteriológica.

Microscopio de contraste de fases.

Microscopio óptico.

5.2 MÉTODOS

5.2.1. ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO (ver figuras 5-8)

Con hisopos estériles se toman muestras dobles de moco endocervical así como de fondo de saco.

De estas muestras una se coloca en SSF y la otra en medio de BHI.

Este análisis se ha dividido, para fines prácticos en dos partes : a) examen microscópico directo y b) cultivo de las muestras e identificación de los m.o. presentes en estas.

5.2.1.1 EXÁMEN MICROSCÓPICO DIRECTO :

i) Tinción Gram.

Principalmente para la búsqueda de diplococos Gram negativos intracelulares (Neisseria gonorrhoeae), células guía, leucocitos, etc.

ii) Examen del preparado en fresco.

Este es un método de diagnóstico rápido para este tipo de muestras. Aquí se pueden visualizar trofozoitos de *Trichomonas* y también pseudohifas de levaduras así como células clave, leucocitos, bacterias, detritus celulares, etc.

iii) Prueba del KOH al 10 % .

Esta cumple dos funciones, mejorar la visualización de hongos al disolver las proteínas de las células del huésped y estimular el desagradable olor a aminas asociado con la vaginosis bacteriana por la alcalinización del medio.

5.2.1.2 CULTIVO DE LAS MUESTRAS E IDENTIFICACION DE LOS M.O. PRESENTES

Con el conocimiento del sitio de origen de la muestra que se examinó, se puede conocer con anticipación la probable flora bacteriana, en base a lo cual se seleccionó el medio o medios de cultivo adecuados a los requerimientos nutricionales de los microorganismos que razonablemente se esperaba encontrar.

i) Cultivo :

Las muestras son sembradas en los diferentes medios e incubadas en:

- Condiciones microaerofílicas: 35°C y 5% de CO₂ por 24 - 48 hr.
- Condiciones aerobias : 37°C por 24 hr. Y
- Para el aislamiento de Cándida sp. A 28 - 37°C por 24 - 48 hr.

Todos los medios son sembrados en condiciones de esterilidad y por el método de estría con dilución.

ii) Identificación de los m.o. presentes

Después de observar la morfología colonial y microscópica (Gram) se realizan diferentes pruebas de identificación, dependiendo del tipo de microorganismo que se sospeche esté presente.(ver apéndice D.)

Catalasa

Oxidasa

Coagulasa

Crecimiento en agar Citrato de Simmons

Crecimiento en agar Kligler

Crecimiento en medio de Caldo de Malonato

MIO

SIM

LIA

Prueba del tubo germinativo

5. 2. 2. PRUEBA POSTCOITAL

Se coloca a la mujer en posición ginecológica y con un espejo vaginal sin lubricar se toma la muestra del moco endocervical, limpiando antes las secreciones vaginales empleando una torunda seca y medir el pH.⁴

El moco puede tomarse usando pinzas uterinas. También puede ser aspirado con una jeringa para tuberculina sin aguja, una jeringa de mucus o pipeta.

Después de esto se toma la muestra del fornix vaginal posterior (fondo de saco).

Las muestras son colocadas en un portaobjetos y se observan al microscopio de acuerdo a los parámetros establecidos anteriormente (Tabla No. 1). Primero con poca magnificación (10 X) para seleccionar un campo representativo; después con alto poder de magnificación (40 X) para determinar celularidad (leucocitos, células epiteliales) y presencia de contaminantes como bacterias, hongos, levaduras, Trichomonas, detritus celulares, etc.

FIGURA No. 5 Diagrama que representa la metodología utilizada para el exámen microscópico directo.

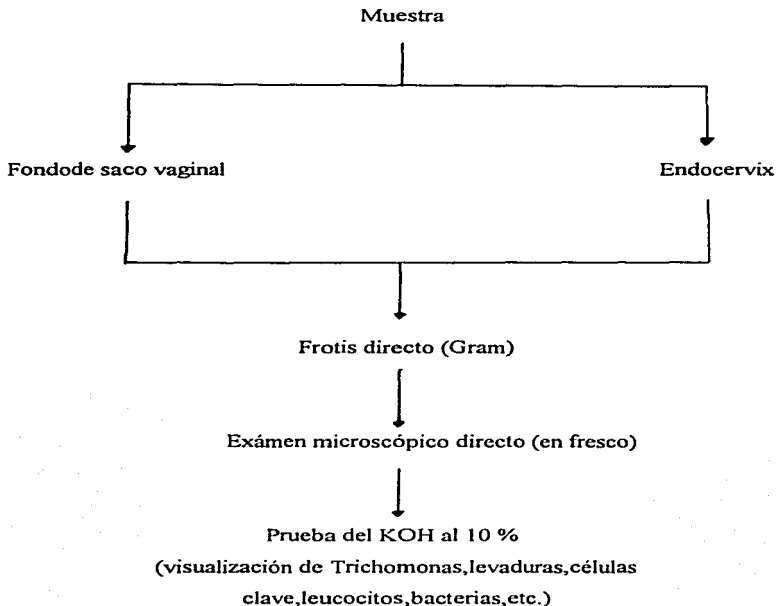
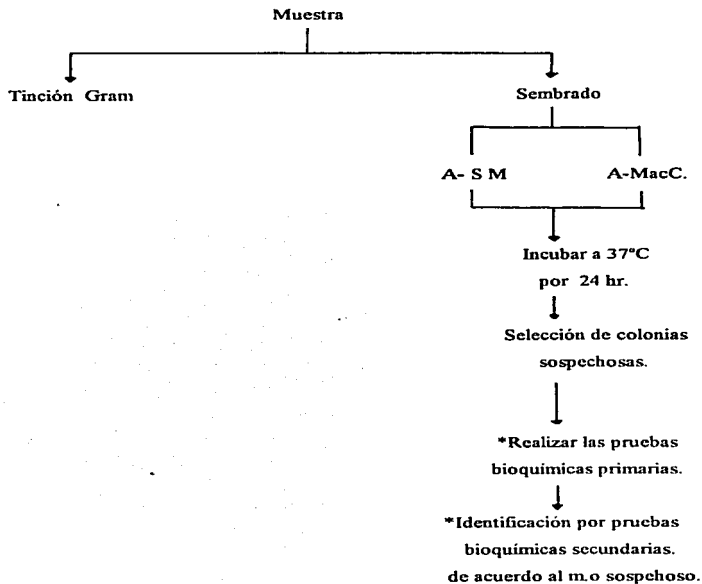
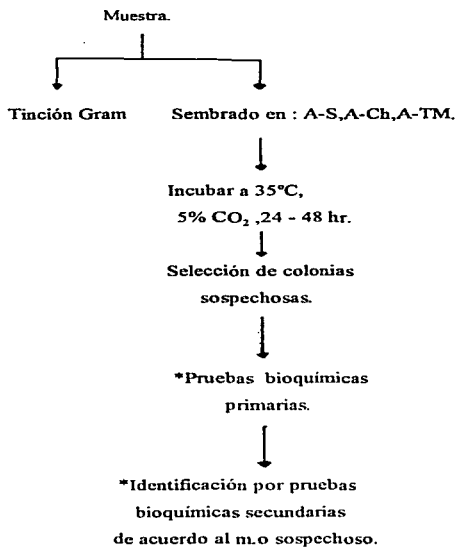


FIGURA No. 6 Diagrama que representa el procedimiento para el aislamiento de m.o. aeróbicos (*Enterobacterias sp., staphylococcus sp.*)



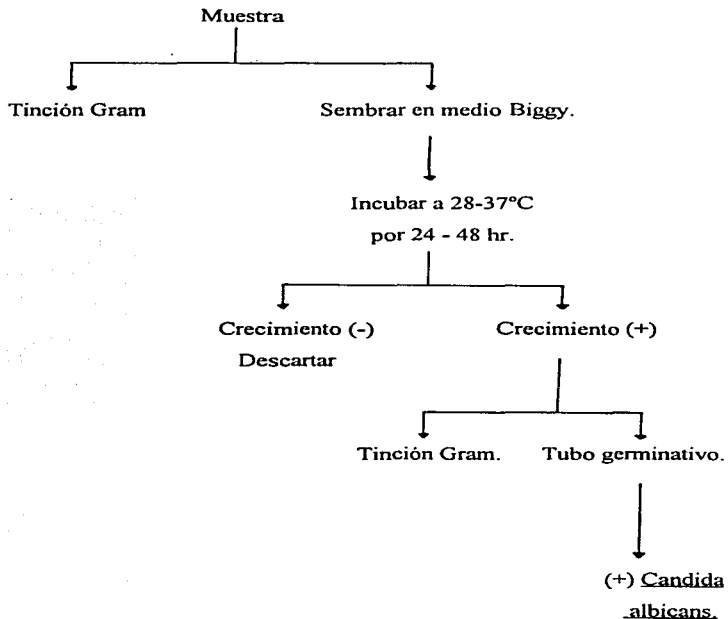
* Ver apéndices B - D.

FIGURA No.7. Diagrama que representa la metodología a seguir para el cultivo de m.o. microaerofílicos (*Neisseria* sp., *Haemophilus* sp., *Streptococcus* sp., *Gardnerella vaginalis*).



* Ver apéndice D.

FIGURA No. 8 Diagrama que representa la metodología utilizada para el cultivo de Candida sp.



6. RESULTADOS

En el presente estudio se trabajó con un total de 98 pacientes con problemas de esterilidad y que fueron escogidas al azar. Se les practicó un estudio bacteriológico de las secreciones cervico vaginales, en forma paralela a la prueba postcoital, descartándose aquellos casos en donde se encontró azoospermia (ausencia de espermatozoides), pues en estos no es posible evaluar la penetración espermática.

En la tabla 2, se muestra el número y porcentaje de casos correspondientes a cada tipo de esterilidad.

La tabla 3 presenta el número y porcentaje de muestras con y sin flora patógena; mientras que en las tablas 4 y 5 se reporta la frecuencia de los m.o patógenos y no patógenos, respectivamente, que fueron encontrados en la población estudiada. Los microorganismos encontrados fueron identificados de acuerdo a sus características generales mostradas en los apéndices C y D.

En la tabla 6 se reportan los valores de pH encontrados en 51, de las 98 muestras, tanto para fondo de saco como para endocervix.

Los resultados obtenidos en la prueba postcoital (Sims-Hühner) se muestran en la tabla 7, y en la tabla 8 se comparan los resultados de esta prueba con la presencia o ausencia de flora patógena.

Por último, en la tabla 9 se realiza esta misma comparación, pero con los diferentes m.o patógenos encontrados.

Tabla 2 .Muestra el número y porcentaje de pacientes con los diferentes tipos de esterilidad, así como aquellos casos donde este dato no fué reportado.

CLASIFICACIÓN DE LAS PACIENTES DE ACUERDO AL TIPO DE ESTERILIDAD.		
ESTERILIDAD	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Primaria	50	51.0
Secundaria	35	35.7
No especificada	13	13.3
TOTAL	98	100.0

Representación gráfica :

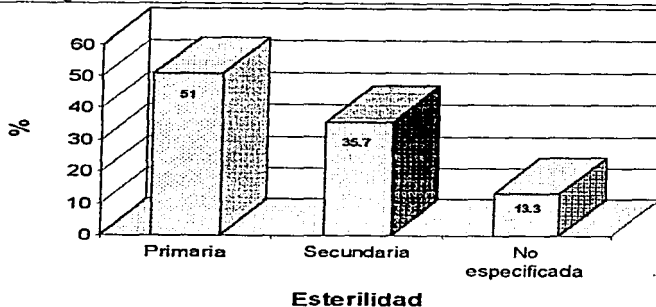


FIGURA 9. Distribución de las pacientes estudiadas, de acuerdo al tipo de esterilidad.

Tabla 3 .Presencia y/o ausencia de flora patógena en las muestras analizadas.

PRESENCIA DE FLORA PATÓGENA		
	Frecuencia	Porcentaje
Sin patógenos	6	6.1
Sólo un patógeno	35	35.7
Más de un patógeno	57	58.2
TOTAL	98	100

Representación gráfica :

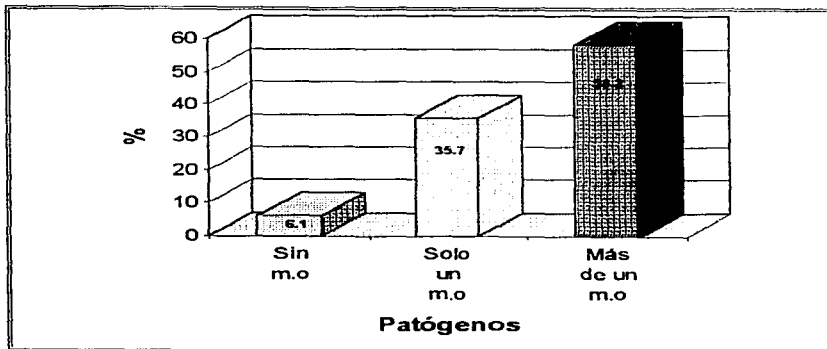


FIGURA 10. Representación de las muestras en base a la presencia o ausencia de flora patógena

Tabla 4 . Microorganismos patógenos encontrados en las 98 muestras.

FLORA PATÓGENA ENCONTRADA	
Microorganismo	Frecuencia
Candida albicans	74
Escherichia coli	34
Staphylococcus aureus	22
Gardnerella vaginalis	17
Klebsiella sp.	14
Neisseria gonorrhoeae	1
Proteus vulgaris	1
Pseudomonas aeruginosa	1

Tabla 5 . Microorganismos no patógenos encontrados en las muestras analizadas.

FLORA NORMAL ENCONTRADA	
Microorganismo	Frecuencia
Staphylococcus epidermidis	65
Lactobacillus sp.	29
Streptococcus alfa hemolitico	11

Tabla 6 .

Valores de pH medidos en 51 de las 98 muestras analizadas.

VALORES DE pH EN 51 MUESTRAS						
	*Mala		*Buena		*Excelente	
Zona	Intervalo	Promedio	Intervalo	Promedio	Intervalo	Promedio
Endocervix	6.5-8.5	7.9	7-8	7.9	8	8
Fondo de saco	5-8	5.9	5-7	5.6	5-7	5.7

* Resultado de la PE (prueba de Sims-Hühner).

Promedio general de pH :

Endocervix 7.9

Fondo de saco 5.7

Tabla 7. Resultados obtenidos en las pruebas postcoitales realizadas.

PRUEBA POSTCOITAL (SIMS - HÜHNER)		
Calificación	Frecuencia	Porcentaje
Mala	80	81.6
*Buena	11	11.2
*Excelente	7	7.1
TOTAL	98	100

*Nota : para facilitar el manejo de los datos estos resultados se agrupan en las siguientes tablas sólo como buenos.

Representación gráfica :

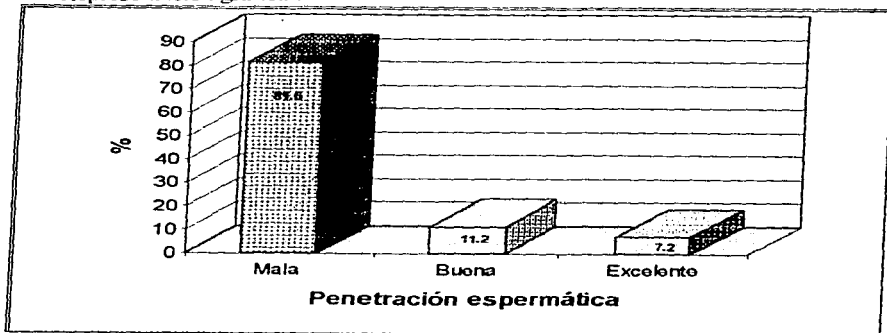


FIGURA 11. Representación gráfica de los resultados obtenidos en las pruebas postcoitales realizadas.

Tabla 8 .Comparación de los resultados obtenidos en la prueba postcoital (PE) con la presencia o ausencia de flora patógena (FP) encontrada.

PENETRACIÓN ESPERMÁTICA (PE) Y FLORA PATÓGENA (FP)				
EN %				
F P	P E	Mala	Buena	Total
	Con patógenos	77.6	16.3	93.9
	Sin patógenos	4.1	2.0	6.1
	TOTAL	81.6	18.4	100.0

Representación gráfica :

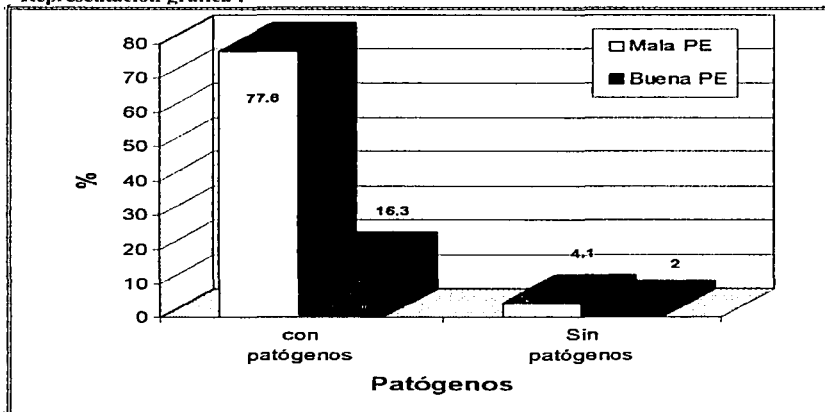


FIGURA 12 .Comparación gráfica de los resultados obtenidos en la prueba postcoital y la presencia o ausencia de flora patógena.

Tabla 9. Comparación de los resultados obtenidos en la prueba postcoital y los diferentes microorganismos patógenos encontrados.

PENETRACIÓN ESPERMÁTICA (PE) CON LOS DIFERENTES M.O. PATÓGENOS ENCONTRADOS (%)				
M.O.	P E	Mala	Buena	Total
Candida albicans		62.2	13.3	75.5
Escherichia coli		26.5	8.2	34.7
Staphylococcus aureus		19.4	3.0	22.4
Gardnerella vaginalis		14.3	3.0	17.3
Klebsiella sp.		11.2	3.0	14.2
Neisseria gonorrhoeae		1.0	0.0	1.0
Proteus vulgaris		1.0	0.0	1.0
Pseudomonas aeruginosa		1.0	0.0	1.0

n = 98

Representación gráfica :

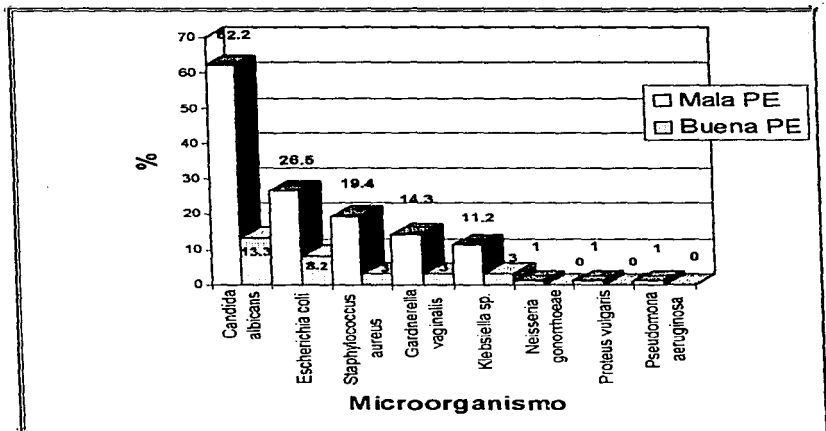


FIGURA No. 13. Comparación de los resultados obtenidos en la prueba postcoital y los diferentes microorganismos patógenos encontrados.

7. DISCUSIÓN

En el grupo de pacientes estudiadas se observa que la mayoría de ellas, el 51%, corresponden al diagnóstico de esterilidad primaria, el 35.7% a esterilidad secundaria y en el 13.3% de ellas no fué especificado su diagnóstico. En este aspecto, el grupo muestra la misma tendencia al estudiado por Thonneau y colaboradores³⁵, donde el 67% de casos corresponden a esterilidad primaria y el restante a esterilidad secundaria. Esto significa que la mayoría de casos de esterilidad se presenta en parejas que pretenden un embarazo por primera vez.

Con respecto al estudio bacteriológico, se observó que sólo el 6.1% de las muestras estuvo libre de flora patógena, el 35.7% de ellas presentó sólo un tipo de m.o. y en el 58.2% de los casos se encontraron dos o más m.o patógenos; por lo tanto, el 93.9% de las muestras presentó flora patógena. En el estudio realizado por Egger-Krusse sobre la colonización microbiana y la interacción mucoespermática en parejas infértiles¹², encontró que sólo el 1% de las parejas en estudio estuvo libre de estos microorganismos.

Por lo que se puede observar, la presencia de patógenos resulta demasiado común en este tipo de pacientes y más, si consideramos que en el protocolo que se debe cumplir para iniciar el tratamiento de esterilidad está el de presentar los resultados recientes del exudado vaginal (en fresco y cultivo), lo

que hace suponer que en muchos casos no se le esta dando la debida importancia al diagnóstico y/o tratamiento, a este tipo de infecciones. Aún ahora, que es bien conocida la influencia de estas para el buen resultado de una prueba postcoital.^{12,17,20,24,35}

De los diferentes patógenos que fueron aislados e identificados, se observó que Candida albicans es el m.o que se presentó con mayor frecuencia (75.5%); esto se podría extrapolar con lo reportado por Egger-Krusse¹² donde después de los Lactobacilos, Candida fué el de mayor frecuencia. En segundo lugar esta Escherichia coli y después Staphylococcus aureus con el 34.7% y 22.4% respectivamente; Gardnerella vaginalis y Klebsiella sp. se encontraron en el 17.3% y 14.3% respectivamente. También presentes, aunque en menor porcentaje estan Neisseria gonorrhoeae, Proteus vulgaris y Pseudomonas aeruginosa en el 1.0% de los casos cada uno.

Aquí se observó la presencia de algunos patógenos importantes como son Candida albicans, Neisseria gonorrhoeae y Gardnerella vaginalis, además de Escherichia coli, quienes juegan un papel importante en algunos casos de esterilidad, afectando principalmente la actividad espermática.^{12,17,24}

La variedad de especies bacterianas aisladas del cervix vaginal varia en los diferentes reportes. Esto puede estar relacionado a las diferentes poblaciones de pacientes que se estudian, el estado del ciclo menstrual, o de la técnica de muestreo.¹⁷

Es conveniente aclarar que, debido a limitantes en el laboratorio, en este estudio no fué posible la búsqueda de Mycoplasma, Ureaplasma y Chlamydia que también están implicados en problemas de esterilidad.^{4,15,17,29,31,36,41,42} Esto puede explicar que el 4% de las muestras estén sin flora patógena, pero con mala PE.

En cuanto a la flora bacteriana considerada normal, se encontró que Staphylococcus epidermidis fué el de mayor frecuencia, 66.3%, en segundo lugar los Lactobacillus sp. ,29.6%, y en menor porcentaje los Streptococcus alfa hemolíticos ,11.2%. Como se sabe la presencia de los Lactobacilos tiene un efecto conocido sobre el pH vaginal y previene la colonización por m.o patógenos^{2,12} ; en este caso la presencia de estos m.o es relativamente baja (ya que los Lactobacilos son la flora predominante en el tracto genital femenino), lo que indica un desequilibrio en la flora normal de estas pacientes. Esto se puede observar también con lo reportado donde vemos que el promedio general de pH, encontrado en 51 pacientes, fué de 5.7 en el fondo de saco. Este, aunque no es alcalino, no se encuentra ya dentro del intervalo reportado, que es de 3-5 para el contenido vaginal.³⁹ Para las muestras de endocervix se ha reportado un valor de pH de entre 7 y 8.5, siendo este el intervalo del pH endocervical normal de la mitad del ciclo.¹³

De los resultados obtenidos en la prueba póstcoital, se observa que el porcentaje de muestras con mala PE es de 81.6%, el 11.2% presentan buena PE y sólo el 7.2% tuvieron excelente PE,. Esto puede deberse, como ya se ha reportado a que al existir una infección, estos m.o pueden afectar fácilmente la

motilidad espermática debido a la presencia de secreciones anormales, al aumento de leucocitos o por su efecto directo sobre los espermatozoides.^{13,18,20}

Del total de casos, el 77.6% presenta mala PE y flora patógena y sólo el 2% de las muestras esta sin flora patógena y buena PE.

En la figura 9 se ilustra lo anterior, y se observa que la diferencia que existe entre las muestras con buena y mala PE es bastante evidente, donde influye notablemente la presencia de patógenos.^{12,17,20,24,35}

Sin embargo en las muestras sin m.o patógenos, el resultado, aparentemente, no mejoro, lo cual puede deberse, como ya se menciono anteriormente, a la presencia de otros m.o que no fué posible buscar; además de que se requiere un mayor número de muestras para evaluar esto más ampliamente, ya que el 6.1% de casos sin flora patógena son muy pocos.

En la tabla 9 se hace una comparación de los resultados de la prueba postcoital (PE) con la presencia de los diferentes patógenos. Estos datos resultan interesantes pues permiten observar con mayor claridad la asociación entre el tipo de m.o y la buena o mala PE. Se tiene que, con mala penetración espermática, el 62.2% de casos corresponden a Candida albicans, el 26.5% a Escherichia coli; el 19.4% a Staphylococcus aureus y el 14.3% y 11.2% a Gradnerella vaginalis y Klebsiella sp. respectivamente. Por último, Neisseria gonorrhoeae, Proteus vulgaris y Pseudomonas aeruginosa con el 1% de los casos respectivamente, todos ellos con mala PE.

8 . CONCLUSIONES

1) En cuanto a la presencia de flora patógena se encontró que el 93.9% de las muestras presento este tipo de microorganismos, destacándose, por su frecuencia, Candida albicans (75.5%), Escherichia coli (34.7%), Staphylococcus aureus (22.4%), Gardnerella vaginalis (17.3%) y Klebsiella sp.(14.3%). Y en menor porcentaje : Neisseria gonorrhoeae, Proteus vulgaris y Pseudomonas aeruginosa, en el 1 % de los casos cada uno.

De la flora considerada normal en el tracto genital femenino, se encontraron: Staphylococcus epidermidis (66.3%), Lactobacillus sp. (29.0%) y Streptococcus alfa hemolíticos (11.2%).

2) De las 98 pruebas postcoitales realizadas, el 77.6% presentó flora patógena y mala penetración espermática , y el 2.0% sin flora patógena y buena penetración espermática, lo cual apoya la hipótesis planteada en este trabajo.

Por lo tanto se concluye que la presencia de microorganismos patógenos en las secreciones cervico vaginales de este grupo de pacientes es de gran importancia para el buen resultado de la prueba postcoital.

En base a los resultados obtenidos se sugiere que la investigación y tratamiento de este tipo de infecciones se cumpla, tal y como esta establecido en el protocolo correspondiente (incluso para las pacientes asintomáticas), con la finalidad de optimizar los resultados en la prueba de Sims -Hüner donde la presencia de patógenos puede interferir negativamente.

9 . BIBLIOGRAFIA

- 1.- ARREDONDO,G.J.L., Vaginosis bacteriana. Instituto Nacional de Perinatología.S.S.A. P. 1-31. Mexico.1994.
- 2.- BAILEY, S. Diagnóstico microbiológico . 7ª edición. Editorial Médica Panamericana. Argentina, 1989.
- 3.- CANNON, D.C. Microscopia médica y estudio de otros líquidos orgánicos . Instituto de Perinatología. México, 1991.
- 4.- CLAD, A. et al. Chlamydia trachomatis species specific serology immunocomb Chlamydia bivalent versus microinmunofluorescence (MIF) . Infection. 22(3) 165-73 May-Jun. 1994.
- 5.- CONDE DE VARGAS, B.I. Principios de citopatología ginecológica . 2ª edición. Editorial Francisco Mendez Oteo. México, 1984.
- 6.- COWAN, S.T. y STEEL,K.J., Manual para la identificación de bacterias de importancia médica. 2ª De. Editorial Continental. México. 1979.

- 7.- DAVIS, R.D., et al. Tratado de microbiología . 3ª edición. Editorial Salvat. México, 1990.
- 8.- DE LA CRUZ, G.R. y CALDERON, J.E., Diagnóstico rápido de infecciones cervico vaginales. Infectología. 5:115-120. 1986.
- 9.- DODDY, M.C. The postcoital test: a quantitative method. J.Androl. 1993 Mar-Apr.; 14(2): 149-54.
- 10.- EGGERT-KRUSE, W., BELLMAN, A., et al. Diferentiation of round cells in semen by means of monoclonal antibodies and relationship with male fertility . Fertility and sterility. 58(5) 1046-55 Nov. 1992.
- 11.- EGGERT-KRUSE, W., KHÖLER, A., et al. The pH as an important determinant of sperm mucus interaction . Fertility and sterility. 59(3) 617-28 March. 1993.
- 12.- EGGERT-KRUSE, W., PAHL, S. et al. Microbial colonization and sperm mucus interaction results in 1000 infertile couples . Human reproduction 7(5) 612-20 May. 1992.
- 13.- EGGERT-KRUSE, W., PROBST, S., et al. Screening for subclinical inflammation in ejaculates . Fertility and sterility 64(5) 1012-22 Nov. 1995.

14.- HENRY-S,J., et al. Post-therapeutic evolution of serum Chlamydial antibody titers in women with acute salpingitis and tubal infertility . Fertility and sterility 62 (4) 296-304 Aug. 1994.

15.- JONSSON, M., et al. The influence of sexual and social factors on the risk of Clamydia trachomatis infections : a population-based serologic study Sex. transm. dis. 22(6) 355-63 Nov.-Dec. 1995.

16.- LARS, W. y PER-ANDERS, M. Definitions of infectius and infectius like Conditionn in the Lower genital Tract of the Female. Scand. J. Infect. Dis. Suppl.40: 65-70.

17.- LENG TAN, S., et al. The midcycle cervical microbial flora as studied by the weighed-swab method, and its possible correlation with results of sperm cervical penetration test . Fertility and sterility 47(6) 941-6 Jun. 1987.

18.- Manual de laboratorio de la O.M.S. para el examen del semen humano y de la interacción entre el semen y el moco cervical. 3ª edición. Editorial Médica Panamericana. Argentina, 1992.

19.- MAC FADDIN, J.E. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica . Editorial Médica Panamericana. México, 1990.

- 20.- MATILSKY, M., et al. Cervical leukocytosis and abnormal post-coital test: a diagnostic and therapeutic approach . Human reproduction. 8(2) 244-246. 1993.
- 21.- MORALES, C.F. Temas selectos en reproducción humana . Instituto de Perinatología. Reproducción humana. México, 1989.
- 22.- MORTIMER, D., et al. Relationship between human sperm motility characteristics and sperm penetration into human cervical mucus in vitro. J. reprod. Fertil. 1986, sep; 78(1): 93-102.
- 23.- MURILLO, A., et al. Evaluación del factor cervical en la mujer con inducción de la ovulación . Ginecol.Obstet. Mex. Mar: 63. 1995.
- 24.- OKONOFUA, F.E. et al. Lower genital tract infections in infertile nigerian women compared with controls . Genitourin. Med. 71(3) 163-8 Jun. 1995.
- 25.- PAAVONEN, J., Physiology and Ecology of the Vagina. Scand. J. Infect. Dis. Suppl. 40:31-35. 1983
- 26.- PEPPERELL, J.R. y McBAIN, J.C. Unexplained infertility: a review. Br. J. Obstet. Gynecol. 1985 Jun; 92(6): 569-80.

27.- PEREZ-PEÑA, E. Infertilidad, esterilidad y endocrinología de la reproducción, un enfoque integral . 2ª edición. Editorial Salvat. México. 1995

28.- ROSAS, A., et al. Infección por Chlamydia trachomatis en cérvix uterino
Ginecología y obstetricia de México. Vol. 61 . 326-328 Nov. 1993.

29.- RUIJS, G J. et al. Further details on sequelae at the cervical and tuval level of Chamydia trachomatis infections in infertile women . Fertility and sterility. 56(1) 20-6 July. 1991.

30.- SAMBERG, I. et al. The value of the post-coital test according to etiology and outcome on infertility . Acta-Eur-Fertil 16(2) 147-9 Mar-Apr. 1985.

31.- SAMRA-Z., et al. Prevalence of genital Chlamydia and Mycoplasma infection in couples attending a male infertility clinic . Euro. J. Epidemiol. 10(1) 69-73 Feb. 1994.

32.- SCHUMACHER, G.F.B. Cervical secretions - a product of a target organ for estrogens and gestagens. In insler, V.,G. Bettendorf : The uterine Cervix in Reproduction. Thieme, Stuttgart 1997.

33.- SHESSER, R. Diagnóstico de infecciones vaginales comunes. Infectología. 13: 49-55. 1993.

34.- SHINGH, H. V., et al. Association between reproductive tract infections and cervical inflamatory epithelial changes . Sex.Trans. Dis. 22(1) 25-30 Jan-Feb. 1995.

35.- THONNEAU, P., et al. Risk factors in men and women consulting for infertility . Int. J. Fertil Menopausal Stud. 38(1) 37-43 Jan-Feb. 1993.

36.- TOCA, P. L., et al. Infecciones por Chlamydia trachomatis y por Mycoplasma en esterilidad Medicina en Ginecología, Obstetricia y Perinatología. México , 1994.

- 37.- TREDWAY, D.R., et al. Correlation of post-coital evaluation with in vitro sperm cervical mucus determination and Ureaplasma cultures . Fertil-Steril. Mar : 63 115-118 . 1985
- 38.- URRY, R.L. Laboratory diagnosis of male infertility. Clin. Lab. Med. 1985 Jun; 5(2): 355-70
- 39.- VACLAV, I., et al. Infertilidad en el hombre y en la mujer . Editorial Médica Panamericana. México, 1988.
- 40.- WAYNE, W.D. Bioestadística . Editorial Limusa. México, 1985.
- 41.- WITKIN, S.S., JEREMIAS, J., et al. Detection of Chlamydia trachomatis in semen by the polymerasa chain reaction in male members of infertile couples . Am - J.- Obstet.- Ginecol. 168(5) 1457-62 May 1993.
- 42.- WITKIN, S.S., SULTAN,K.M., et al. Unsuspected Chlamydia trachomatis infection and in vitro fertilization outcome . Am.-J.- Obstet.- Ginecol. 171(5) 1208-14 Nov. 1994.

V. APÉNDICES

APÉNDICE A . COMPOSICIÓN Y PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO UTILIZADOS.⁶

AGAR BIGGY

Util para el aislamiento e identificación de Candida sp. por medio de la reacción de sulfuro.

Citrato de amonio y bismuto	5g
Sulfito de sodio	3g
Dextrosa	10g
Glicina	10g
Extracto de levadura	1g
Agar	16g

pH final 6.8 (+/- 0.2).

Suspender 45g del medio en un litro de agua. Calentar y hervir por no más de un minuto. Vaciar en tubos de 13x100

AGAR CHOCOLATE

Infusion de músculo cardíaco	375g
peptona de carne	10g
Agar	15g
Cloruro de sodio	5g
Sangre de carnero	50ml.
Agua destilada	1000ml.

Suspender 40g del medio en un litro de agua y hervir durante un minuto. Esterilizar a 15 lb de presión, 121°C por 15 min. Enfriar a 50°C y agregar 5 % (50 ml) de sangre de carnero desfibrinada estéril, mezclar y calentar en baño maría a 65-80°C hasta que el medio adquiera un color chocolate. Vaciar en cajas petri.

AGAR MacCONKEY

Se usa para enterobacterias. La inhibición de los Gram positivos se debe a la mezcla de sales biliares.

Peptona de gelatina	
Mezcla de peptonas	3.000g
Lactosa	10.000g
Mezcla de sales biliares	1.500g
Cloruro de sodio	5.000g

Agar	13.500g
Rojo neutro	0.030g
Cristal violeta	0.001g
Agua destilada	1000ml.

Suspender 50g del medio en agua destilada, calentar y hervir por un minuto.
Esterilizar a 121°C, 15 min. a 15 lb de presión. Vaciar en cajas petri.

AGAR MUELLER HINTON

Infusión de carne de res	300.0g
Peptona de caseína ácida	15.5g
Almidón	1.5g
Agar	17.0g
Agua destilada	1000ml.
pH final 7.4 (+/- 0.2)	

Suspender 38g del medio deshidratado en un litro de agua destilada y hervir por un minuto. Esterilizar a 121°C durante 15 min. y 15 lb de presión. Vaciar en cajas petri.

AGAR SAL Y MANITOL

Se utiliza para aislar Staphylococcus sp.

Extracto de carne	1.000g
-------------------	--------

Mezcla de peptonas	10,000g
Cloruro de sodio	75.000g
D-manitol	10.000g
Agar	15.000g
Rojo de fenol	0.025g
Agua destilada	1000ml.
pH final 7.4 (+/- 0.2)	

Suspender 111g del medio deshidratado en un litro de agua. Calentar y hervir por un minuto. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 min. a 15 lb de presión. Vaciar en cajas petri.

AGAR SANGRE DE CARNERO.

Mezcla de peptonas	10.0g
Extracto de carne	3.0g
Cloruro de sodio	5.0g
Agar	15.0g
Agua destilada	1000ml
pH final 7.2 (+/- 0.2)	

Suspender 33g del medio en un litro de agua destilada, luego calentar agitando frecuentemente y dejarlo hervir por un minuto. Esterilizar a 121°C durante 15 min. a 15 lb de presión. Después enfriar a 45 -50°C y añadir 50 mL de sangre de carnero desfibrada y estéril.

Vaciar en cajas petri.

AGAR THAYER MARTIN

Se utiliza la base de agar GC :

Mezcla de peptonas	15g
Almidón de maíz	1g
Fosfato dipotásico	4g
Fosfato monopotásico	1g
Cloruro de sodio	10g
Agar	10g
Agua destilada	1000ml
pH final 7.2 (+/- 0.2)	

Suspender 36g de la base deshidratada en un litro de agua destilada, mezclar y calentar por 10-15 min. Esterilizar a 121°C, 15 lb de presión por 15 min. Enfriar a 45 - 50°C y adicionar 50 ml de sangre desfibrinada y estéril de carnero. Mezclar bien y meter a baño maría a 65-80°C por 10 min. La sangre adquiere un color achocolatado y se destruyen las sustancias inhibidoras propias de la misma. Agregar 10 ml de inhibidor VCN (Vancomicina 0.0033g/L de medio, Colistin 0.0074g/L de medio y Nistacina 12,500 U/L de medio).

También se agregan 10 ml. de polienriquecimiento (Bioxon 304).

Mezclar y vaciar en las cajas petri.

CALDO INFUSION CEREBRO CORAZÓN (BHI)

Infusión de cerebro de ternera	200.0g
Infusión de corazón de res	250.0g
Peptona de gelatina	10.0g
Dextrosa	2.0g
Cloruro de sodio	5.0g
Fosfato disódico	2.5g
Agua destilada	1000ml

pH final 7.4 (+/- 0.2)

Suspender 37g del medio deshidratado en un litro de agua destilada y calentar . Se esteriliza a 121°C por 15 min a 15 lb de presión. Vaciar en tubos de ensayo de 13 x 100.

APÉNDICE B . PRUEBAS BIOQUÍMICAS EMPLEADAS⁶

AGAR CITRATO DE SIMMONS

Fosfato diácido de amonio	1.00g
Fosfato dipotásico	1.00g
Cloruro de sodio	5.00g
Citrato de sodio	2.00g
Agar	15.00g
Sulfato de magnesio	0.20g
Azul de bromotimol	0.08g
Agua destilada	1000ml.
pH final	6.9

Disolver los sólidos en agua y calentar. Vaciar en tubos de 13x100 y esterilizar. Inclinar los tubos para su enfriamiento.

Fundamento : Sirve para ver si el m.o puede utilizar el citrato como fuente de carbono y al amonio como fuente de nitrógeno. Las bacterias que utilizan el citrato también extraen al nitrógeno de la sal de amonio, con producción de amoniaco y luego formación de hidróxido de amonio, que es alcalino. El azul de bromotimol es amarillo a pH menor de 6 y azul a pH mayor de 7.6.

Interpretación : Prueba positiva si el medio es de color azul.
Prueba negativa si el medio es de color verde.

MALONATO

Extracto de levadura	1.0g
Sulfato de amonio	2.0g
Fosfato de potasio	0.6g
Cloruro de sodio	2.0g
Malonato de sodio	3.0g
Dextrosa	0.25g
Azul de bromotimol	0.025g
Agua destilada	1000ml.
pH 6.7	

Después de pesar exactamente los ingredientes rehidratar con el agua destilada o desmineralizada. Calentar suavemente hasta disolución. Distribuir en tubos de 13 x 100 en una cantidad aproximadamente de 3m por tubo.

Fundamento : Determina la capacidad del m.o para utilizar el malonato de sodio como única fuente de carbono, con la consiguiente alcalinidad. Acido, color amarillo y pH de 6 ; alcalino, azul de prusia intenso y pH de 7.6.

Interpretación : a) prueba positiva color azul de prusia intenso en todo el medio.

b) prueba negativa no se observa cambio de color (verde o amarillo), lo que significa que sólo fermentó la glucosa.

AGAR HIERRO DE KLIGLER

Extracto de carne	3.000g
Extracto de levadura	3.000g
Peptona	15.000g
Proteosa peptona	5.000g
Lactosa	10.000g
Glucosa	1.000g
Sulfato ferroso	0.200g
Cloruro de sodio	5.000g
Tiosulfato de sodio	0.300g
Agar	12.000g
Rojo de fenol	0.024g
Agua destilada	1000ml.

Mezclar 52g de medio en un litro de agua destilada, hervir por un minuto, vaciar a tubos de 13 x 100, esterilizar y enfriar con los tubos inclinados.

Fundamento : El medio contiene lactosa y glucosa. Las bacterias pueden fermentar la lactosa, la glucosa, a ambas o ninguno de los dos carbohidratos. El carbohidrato fermentado producirá ácidos mixtos que son capaces de hacer virar el color del medio (debido al indicador). El medio contiene además sulfato ferroso que al contacto con el ácido sulfhídrico que algunas bacterias producen, se oxida produciendo un color negro en el medio.

Interpretación : Medio color negroAcido sulfhídrico positivo.

Pico rojo (alcalino) / fondo rojo (alcalino).....No hay fermentación de azúcares.

Pico alcalino / fondo ácido (amarillo)glucosa fermentada y lactosa no fermentada.

Pico ácido / fondo ácidoglucosa y lactosa fermentadas.

L.I.A. (AGAR DE HIERRO Y LISINA)

Peptona de gelatina	5.00g
Extracto de levadura	3.00g
Dextrosa	1.00g
L - lisina	10.00g
Citarto de amonio férrico	0.50g
Tiosulfato de sodio	0.04g
Púrpura de bromocresol	0.02g
Agar	13.50g
Agua destilada	1000ml.

pH final 6.7

Suspender 33g del medio en un litro de agua destilada. Calentar y hervir durante un minuto. Distribuir en tubos de 13 x 100 y esterilizar. Enfriar en posición inclinada.

Fundamento : El tiosulfato de sodio es utilizado por las bacterias produciendo ácido sulfhídrico que reacciona con el hierro dando una coloración negra.

El medio contiene también lisina y glucosa; las bacterias primero acidifican el medio, al utilizar la glucosa y posteriormente alcalinizado (color púrpura original) debido a que la lisina es descarboxilada con formación de cadaverina que es una amina alcalina.

Interpretación : Tubo sin inocularcolor púrpura.

Tubo color amarillola bacteria es viable pero no hay descarboxilación de la lisina.

Tubo con color amarillo y púrpuraIndica que se esta llevando acabo la descarboxilación.

M.I.O. (MOTILIDAD, INDOL Y DESCARBOXILACIÓN DE LA ORNITINA).

Extracto de levadura	3.00g
Peptona de gelatina	10.00g
Peptona de caseína	10.00g
L - ornitina	5.00g
Dextrosa	1.00g
Agar	2.00g

Púrpura de bromocresol

0.02g

Agua destilada

1000ml.

pH final 6.5

Disolver 31g del medio en un litro de agua, remojar y calentar a ebullición. Distribuir en tubos y esterilizar.

Fundamento : Para la movilidad el medio de cultivo contiene una concentración baja de agar (medio semisólido) lo que va a permitir ver la difusión de las bacterias partiendo del sitio de inoculación. La movilidad de las bacterias se debe a la presencia de flagelos.

Para el indol el medio contiene triptófano y si la bacteria contiene la enzima triptofanasa, lo va a metabolizar primero a indol y finalmente a ácido pirúvico y amoniaco. al agregar reactivo de Kovacs o Ehrlich va a reaccionar dando un color rojo violáceo.

Para la descarboxilación de la ornitina el principio es el mismo que para lisina, sólo que la ornitina es transformada a putrescina.

Interpretación : Turbiedad del medio o crecimiento extendido a partir de la línea de inoculación indica movilidad positiva.

Color púrpura en el medio indica descarboxilación de ornitina positiva.

Color amarillo en el medio indica una descarboxilación de ornitina negativa.

Aparición de anillo rojo al agregar el reactivo de Kovac es una reacción indol positiva.

S.I.M. (ACIDO SULFHIDRICO, INDOL Y MOTILIDAD)

Peptona de caseína	20.0g
Peptona de carne	6.1g
Sulfato de hierro y amonio	0.2g
Tiosulfato de sodio	0.2g
Agar	3.5g
Agua destilada	1000ml
pH final 7.3	

30g del medio se disuelven en un litro de agua, hervir por un minuto. Vaciar en tubos de 13 x 100. Enfriar en posición vertical.

Fundamento e interpretación : Para la motilidad e indol es el mismo al descrito en M.I.O.

Para el ácido sulfhídrico es el que se describe en L.I.A.

CATALASA

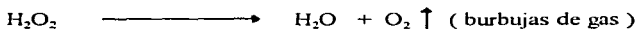
Reactivo: Peróxido de Hidrógeno al 30 %. (Superoxal).

Método:

-Con el asa bacteriológica recoger el centro de una colonia pura de 18-24 hr. Y colocar sobre un portaobjetos limpio.

- Cuidar de no aplicar la prueba si el agar sangre es introducido el el H_2O_2 .
- Agregar una gota de H_2O_2 al 30% sobre el organismo del portaobjetos. Usar un palillo, gotero o pipeta Pasteur para mezclar.
- No invertir el método ni mezclar con el asa de inoculación.
- Desechar el portaobjetos poniéndolo en un desinfectante.

Fundamento : El peróxido de hidrógeno se forma como uno de los productos finales del metabolismo oxidativo aeróbico de los carbohidratos. Si se deja acumular, el peróxido es letal para las bacterias. La catalasa es una enzima que poseen algunas bacterias y actúa de la siguiente forma :



Interpretación : Presencia de burbujas al agregar peróxido de hidrógeno a una colonia en un portaobjetos indica catalasa positiva

OXIDASA

Reactivo de Kovacs: Diclorhidrato de tetrametil-P-fenilendiamina al 1 %.

- Se disuelve 1g. Del reactivo en menos de 100 ml. de agua destilada.
- Calentar suavemente hasta disolución.
- Pasar a un frasco volumétrico y agregar agua en cantidad suficiente para 100 ml.

-Dejar reposar 15 min. antes de su empleo.

-Guardar en frasco de vidrio ámbar tapado. Evitar la innecesaria exposición a la luz.

Método:

1.- Colocar un trozo de papel filtro (de 6 centímetros cuadrados) Wattman No.1 en una caja patri.

2.- Agragar 2-3 gotas de reactivo en el centro del papel.

3.- Hacer un extendido con el asa de inoculación de una colonia sospechosa, en el papel impregnado.

4.- La reacción positiva se produce a los 5-10 segundos.

Fundamento : Los citocromos son hemoproteínas que contienen hierro y actúan como el último eslabón de la cadena respiratoria aerobia, transfiriendo electrones (hidrógeno) al oxígeno, con formación de agua.

En la prueba citocromo oxidasa se utilizan ciertos reactivos colorantes como aceptores artificiales de electrones sustituyendo al oxígeno. Un ejemplo de estos es el diclorhidrato de P-fenilendiamina,N,N-dimetil-fenilendiamina; el reactivo es incoloro en estado oxidado y color rojo o rosa fuerte en estado reducido.

Interpretación : Las colonias bacterianas con actividad de citocromo oxidasa desarrollan en segundos un intenso color rosa (o rojo) en el sitio de la inoculación. El color desarrollado depende del tipo de reactivo que se emplee.

COAGULASA

Reactivo: Plasma humano o de conejo. Como alternativa: plasma de caballo, carnero o bovino.

Método para realizar la prueba en tubo de ensaye:

-A un tubo de ensaye de 13x100 esterilizado se agrega:0.5 ml. de plasma no diluido, 0.5 ml de un cultivo en caldo puro de 18-24 hr. , o recoger con el asa una buena cantidad de una colonia pura de una placa de agar.

-Hacer girar el tubo suavemente para lograr la suspensión del organismo (no agitar).

-Incubar a 37°C por 24 hr. y observar cada 30 min. si se produce la coagulación.

Si al cabo de 4 hr. no hay coagulo visible, dejar incubar hasta el dia siguiente (24 hr.).

Fundamento: La coagulasa es una enzima proteica que es capaz de transformar el fibrinógeno en fibrina, provocando la formación de un coagulo visible.

La coagulasa se encuentra presente en dos formas, una "libre" y otra "fija".

La fija esta unida a la pared celular de las bacterias. La coagulasa libre es una sustancia semejante a la trombina y al mezclarse suero con coagulasa libre se forma el coagulo similar a cuando se añade trombina.

Interpretación: La coagulasa fija forma hilos de fibrina unidos a las células bacterianas suspendidas en el plasma provocando aglutinación y presencia de agregados visibles en el portaobjetos o en el tubo.

PRUEBA DEL TUBO GERMINATIVO

Se toma una colonia aislada del medio Biggy y se suspende en un tubo que contenga 0.5 ml de suero humano o de borrego.

Se incuba a 37°C por no más de tres horas y se observa al microscopio con el objetivo seco fuerte para identificar a las levaduras con un apéndice largo del tamaño dos a tres veces la célula levaduriforme.

Candida albicans es positiva a esta prueba después de dos horas de incubación.

**APÉNDICE C . PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS
BIOQUÍMICAS DE ENTEROBACTERIAS.⁷**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Beta galactosidasa	+	-	+	D	d	+	+	+	+	-	+
Gas de glucosa	+	+	+	+	-	d	+	+	d	D	-
CARBOHIDRATOS											
(ácido de)											
Adonitol	-	-	-	-	-	d	+	-	d	D	D
Arabinosa	+	-	+	+		+	+	+	-	-	+
Dulcitol	d	-	d	D	d	d	-	-	-	-	-
Esculina	d	-	d	-			D	-	-	d	D
Inositol	-	-	-	d	-	+	D	-	d	D	-
Lactosa	+óx	-	+óx	D	D	D	+	-	-	-	-
Manitol	+	-	+	+	D	+	+	+	+	D	+
Sacarosa	d	-	d	-	D	+	+	-óx	+	D	D
Trehalosa	+	-	+	+	+	+	+	+	+	d	D
Xilosa	d	-	+	+	D	+	+	+	d	D	D
FUENTES DE C											
RELACIONADAS											
Malonato	-	-	+	+	-	d	+	+	+		-
Gluconato		-		-	-	+	+	+	+		-
Citrato	-	-	d	D	-	D	+		-		-
d- Tartrato	d	-	+	D		d	-	-			D
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
M.R.	+	+	+	+	+	D	-	-	-	+	+
V.P.	-	-	-	-	-	D	+	+	D	d	-

REACCIONES**PROTEÍNICAS**

Arginina	d	-	d	+	-	-	D	-	-	-	-
Hidrólisis de gelatina	-	-	-	D	-	(d)	(+)	-	+	D	-
H ₂ S de TSI	-	+	D	+	-	-	-	-	-	D	D
Indol	+	+	D	-	D	d	-	-	-	D	D
Lisina	+	+	-	+	-	d	D	+	+	d	-
Ornitina	d	+	d	+	d	-	+	+	+	D	D
Urea hidrolizada	-	-	(+)	-	-	d	(d)	-	-	D	D
Acido glutámico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	

Catalasa : Todas son positivas, excepto shigella que es D.

Oxidasa: Todas son negativas.

Reducción de nitratos: Todas son positivas.

Maltosa: todas son positivas, excepto Proteus que es D.

Fenilalanina: Todas son negativas, excepto Proteus que es + .

- | | | |
|-----------------|-----------------|--------------|
| 1. Escherichia | 5. Shigella | 9. Serratia |
| 2. Edwardsiella | 6. Klebsiella | 10. Proteus |
| 3. Citrobacter | 7. Enterobacter | 11. Yersinia |
| 4. Salmonella | 8. Hafnia | |

D . = Reacciones diferentes dadas por diferentes especies de un género.

d . = Reacciones diferentes dadas por diferentes cepas de una especie o serotipo.

X. = Positiva irregular o tardía (mutante).

APÉNDICE D. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS MICROORGANISMOS IDENTIFICADOS.^{6,7,19}

Streptococcus sp.

Bacterias ovales y coccas Gram (+), inmóviles.

Se aíslan en pares o cadenas.

Aerobios y anaerobios facultativos.

Algunos medios de cultivo: Principalmente agar sangre, agar chocolate.

Colonias pequeñas, puntiformes, que pueden presentar hemólisis total (beta), parcial (alfa) .

Catalasa y oxidasa (-)

Staphylococcus sp.

Cocos Gram (+) , inmóviles.

Aislados en pares o formando racimos de uvas.

Aerobios o anaerobios facultativos.

Algunos medios de cultivo: Agar sal y manitol, agar sangre, agar chocolate, agar 110.

Colonias grandes, cremosas, con bordes bien definidos, color que va desde blanco a amarillo o naranja.

Catalasa (+) fuerte, oxidasa (+).

Staphylococcus aureus es coagulasa (+)

Staphylococcus epidermidis es coagulasa (-) y sensible a novobiocina.

Lactobacillus sp.

Bacilos o cocobacilos Gram (+), delgados y largos o cortos.

Se aislan en cadenas o solos.

Aerobios o anaerobios facultativos.

Algunos medios de cultivo: Agar sangre, agar chocolate.

Colonias pequeñas con ligera hemólisis beta

Catalasa negativos e inmóviles.

Gardnerella vaginalis.

Bastones Gram (-) pequeños, pleomórficos, inmóviles.

Anaerobios facultativos.

Algunos medios de cultivo: Agar Cassman, agar sangre, agar chocolate, agar peptona-almidón-dextrosa.

Colonias pequeñas, puntiformes con pequeña zona de hemólisis beta.

Sensible a polanetol sulfonato sódico.

Catalasa y oxidasa (-).

Para su diagnóstico se debe cumplir con al menos tres de las siguientes características:

- pH de la secreción vaginal mayor a 4.5
- Presencia de las células “clave” o guía en el exámen en fresco o Gram.
- Prueba positiva al KOH
- Secreción vaginal grisácea, delgada y homogénea.

Neisseria gonorrhoeae.

Diplococo Gram (-) como en granos de café.

Aerobio e inmóvil.

Algunos medios de cultivo: Medio selectivo GC, agar Thayer-Martin, New York City, Medio de Stuart.

Colonias grises, generalmente opacas, convexas.

Sensible a vancomicina.

Catalasa y oxidasa (+)

Glucosa (+).

***Pseudomonas aeruginosa.**

Bacilos Gram (-), rectos o ligeramente curvados.

Aerobios obligados.

Catalasa y oxidasa (+).

Motilidad positiva.

Crece en agar MacConkey.

Producción de pigmentos: piocianina (azul-verdosa) y fluorescina (amarillo).

***Escherichia coli.**

Bacilos o cocobacilos Gram (-)

Aerobios o anaerobios facultativos.

Catalasa (+)

Oxidasa (-)

Algunos medios de cultivo: Agar MacConkey, Agar Eosina Azul de Metileno (EMB).

Colonias en Agar MacConkey Lac (+) fuertes.

***Klebsiella sp.**

Bacilos Gram (-) inmóviles.

Aerobios y anaerobios facultativos.

Catalasa (+)

Oxidasa (-).

Crece en agar MacConkey como colonias Lac (+) débil.

*Algunas características bioquímicas de estas bacterias:

	Escherichia coli	Klebsiella sp.	Pseudomonas aeruginosa
glucosa	A ¹	-A	
lactosa	A ²	A	
sacarosa	V	A	
manitol	A	A	
indol	+	V [*]	+
citrato de Simmons	-	+	+
malonato	-	+	
lisina	V [*]	+	-
ornitina	V	-	-
motilidad	V [*]	-	+
ácido sulfhídrico	-	-	-

A¹ : Acido y producción variable de gas.

-A : Acido y gas.

A² : Puede ser retardada.

A : Acido.

V^{*} : Resultados variables, en su mayoría positivos.

V^{*} : Resultados variables, en su mayoría negativos.