



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN**

**ALTERACIONES DE LA PRUEBA DE SIMS-HÜHNER  
DEBIDO A LA PRESENCIA DE MICROORGANISMOS  
PATOGENOS ANTES Y DESPUES DE UN TRATAMIENTO  
ANTIMICROBIANO EN PAREJAS 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 :**

**ANGELICA RAMOS ESCOBAR**

**ASESORES:**

**Q.F.I. ANDREA A. BECERRIL O.**

**DR. LUIS TOCA PORRAZ**

**BIOL. ESTHERLINDA LOZANO HERNANDEZ**

**CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.**

**2005**



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.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Angélica Ramos

Escobar

FECHA: 13 octubre 2005

FIRMA: [Firma]



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

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

**DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO**  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN  
PRESENTE

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán

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

Alteraciones de la prueba de Sims-Hühner debido a la presencia de microorganismos patógenos antes y después de un tratamiento antimicrobiano en parejas con problemas de esterilidad.

que presenta la pasante: Angélica Ramos Escobar  
con número de cuenta: 8939630-2 para obtener el título de :  
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

**ATENTAMENTE**  
**"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 04 de Mayo de 2005

PRESIDENTE M.V.Z. Gerardo Cruz Jiménez

VOCAL Q.F.I. Andrea A. Becerril Osnaya

SECRETARIO M.en F.C. Ma. Eugenia R. Posada Galarza

PRIMER SUPLENTE M.en C. Francisco López Mejía

SEGUNDO SUPLENTE Q.F.B. Gabriela Escalante Reynoso

## DEDICATORIAS

A mi mamá Ma. de Jesús Ramos Escobar con sus principios, sabiduría, y fortaleza nos ha sabido cuidar y guiar con amor por la vida a mí y a mis hermanas.

*TE QUIERO*

A mis abuelitos , Jesús Ramos Villalobos y en especial a mi abuelita Carmen Escobar por haberme cuidado y educado durante una parte de mi vida , aunque en este momento no se encuentra aquí la recuerdo con mucho amor y cariño.

*GRACIAS*

A mi esposo Alfredo Jiménez Mayorga por brindarme su paciencia, comprensión, respeto y amor.

*TE AMO*

A mi hijo Cassiel Jiménez Ramos con su presencia y sonrisa es la luz de mi vida .

*TE QUIERO*

A mis hermanas Isabel y Esther que las he visto crecer desde pequeñas en todos los aspectos y espero que continuen superandose tan bien como hasta ahora.

*CON CARÍO*

## AGRADECIMIENTOS

A la Bióloga Estherlinda Lozano Hernández, Dr. Luis Toca Porraz por su ayuda y asesoría profesional en el trabajo experimental de esta investigación.

A la Q.F.I. Andrea A. Becerril Osnaya por su asesoría y tiempo invertido en revisar este trabajo.

Al Profesor Juan Garibay por su ayuda en el manejo estadístico de los resultados obtenidos en la experimentación.

Al hospital de Gineco-obstetricia No. 3 del Centro Médico La Raza , en especial a las instalaciones de los laboratorios de Biología de la Reproducción y Bacteriología.

A Laura Lemus Ramos, Oscar Mejía, Ma. De Jesús Ramos, por su ayuda en la elaboración de este trabajo escrito.

## INDICE

1. ABREVIATURAS	4
2. LISTA DE TABLAS	6
3. LISTA DE FIGURAS	7
I. RESUMEN	8
II. INTRODUCCION	9
III. OBJETIVOS	11
IV. HIPOTESIS	12
V. GENERALIDADES	13
V.1. Factores predisponentes de esterilidad	13
A)Causas de esterilidad	13
B)Factores predisponentes de esterilidad	15
V.2. Anatomía y Fisiología vaginal	17
V.3. Componentes y características de la secreción vaginal	19
V.4. Flora vaginal normal	20
V.5. Flora vaginal patógena	22
V.6. Anatomía y Fisiología del cérvix	24

V.7. Moco cervical	28
A) Síntesis del moco cervical	28
B) Composición del moco cervical	29
C) Fisiología del moco cervical	30
V.8 Migración espermática en el canal cervical	32
V.9 El factor cervical en esterilidad	35
A) Estudio del moco cervical	35
B) Evaluación	36
C) Prueba postcoital ( Sims - Hühner )	41
D) Interpretación	42
VI. JUSTIFICACION	45
VII. MATERIAL Y METODOS	46
A) Obtención y manejo de la muestra	48
B) Exámen bacteriológico	50
C) Cultivo	51
D) Identificación del microorganismo y antibiograma	52
E) Valoración de la Prueba postcoital (Sims-Hühner)	53

VIII. RESULTADOS	58
IX. ANALISIS ESTADISTICO	71
X. DISCUSION	77
X I. CONCLUSIONES	85
XII. COMENTARIOS Y SUGERENCIAS	87
XIII. BIBLIOGRAFIA	89
ANEXOS	94
A) Medios de cultivo	94
B) Pruebas bioquímicas	104
C) Características de microorganismos	119
D) Tabla de pruebas bioquímicas para identificación de bacterias	122

## 1. ABREVIATURAS.

AD.T	Administración del tratamiento.
A. P.	Ausencia y /o presencia de microorganismo patógeno.
A.T.	Antes del tratamiento.
B.H.I.	Caldo Infusión Cerebro Corazón.
cm.	Centímetros.
CO <sub>2</sub>	Bióxido de Carbono.
C.P.	Con patógeno.
° C	Grados centígrados.
D.T.	Después del tratamiento.
ES	Frecuencia esperada.
Fig.	Figura.
Ho.	Hipótesis nula.
Hi.	Hipótesis alternativa.
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrógeno.
HPF.	Alto poder de magnificación.
KOH	Hidróxido de potasio.
L.I.A	Agar Lisina Hierro.
M.I.O.	Motilidad Indol Ornitina.

ml.	mililitro
O.M.S.	Organización Mundial de la Salud.
OB	Frecuencia observada.
PCT.	Prueba postcoital.
PE.	Penetración espermática.
S.I.M.	Motilidad Indol Hierro.
SP	Sin patógeno.
s.p	Especies.
S.S.F.	Solución Salina Fisiológica.
$\mu\text{g}$	Microgramos.
$^2$	
X	ji- cuadrada.

## **2. LISTA DE TABLAS.**

TABLA 1. Tipo de esterilidad presentada en las pacientes.

TABLA 2. Edad de 118 pacientes con respecto a la esterilidad presentada.

TABLA 3. Presencia y/o ausencia de flora patógena en el cultivo de las muestras.

TABLA 4. Frecuencia en porcentaje del tipo de flora patógena presente en el cultivo.

TABLA 5. Frecuencia en porcentaje de flora normal encontrada en las muestras.

TABLA 6. Evaluación de la prueba postcoital de acuerdo a los parámetros establecidos por la O. M. S.

TABLA 7. Relación existente entre presencia o ausencia de flora patógena y la valoración de la penetración espermática.

TABLA 8. Valoración de la penetración espermática y tipo de microorganismos patógenos encontrados, en porciento.

TABLA 9. Evaluación de la calidad del moco cervical de las muestras del Grupo 3 y 4.

TABLA 10. Presencia y/o ausencia de flora patógena antes y después del tratamiento en 28 pacientes.

TABLA 11. Valoración de la prueba postcoital antes y después del tratamiento en 28 pacientes.

### **3. LISTA DE FIGURAS**

- FIGURA 1. Aparato Reproductor Femenino.
- FIGURA 2. Estructura del moco cervical. a) Fase periovulatoria b) Fase lútea del ciclo.
- FIGURA 3. Detalle de cripta endocervical con espermatozoides en su interior.
- FIGURA 4. Corte sagital de fondo de saco vaginal, endocervix y endometrio.  
Migración del espermatozoide desde la vagina.
- FIGURA 5. Ejemplos de formaciones de helechos en el moco cervical.
- FIGURA 6. Diagrama de flujo de la metodología para la población de 121 pacientes.
- FIGURA 7. Procedimiento del examen bacteriológico.
- FIGURA 8. Se muestran los 4 grupos en los que se dividió para su mejor estudio la población de 121 pacientes.
- FIGURA 9. Procedimiento a seguir en el grupo 4 \* seleccionado para comprobar la hipótesis.

## I. RESUMEN

Se realizó este estudio en 121 pacientes con diagnóstico de esterilidad primaria, secundaria y de causa desconocida. Se obtuvo muestra de fondo de saco y endocervix, estas se utilizaron para realizar la prueba de Sims -Hühner ( prueba post-coital) y cultivo bacteriológico.

De acuerdo al resultado de la prueba post-coital y de los microorganismos encontrados, las muestras se dividieron en 4 grupos; Grupo 1 Flora normal-buena penetración, Grupo 2 Flora normal-mala penetración, Grupo 3 Flora patógena-buena penetración, Grupo 4 Flora Patógena-mala penetración. Debido a las características del grupo 4, éste fue el seleccionado para llevar a cabo el objetivo del trabajo, por lo cual a éstas pacientes y a su pareja se les indicó el medicamento a administrarse bajo prescripción médica, dependiendo del microorganismo patógeno aislado en la muestra y el antibiograma correspondiente.

Después de administrado el medicamento y pasado un tiempo, nuevamente se muestreó a estas pacientes para realizar la prueba de Sims- Hühner y el cultivo bacteriológico con el fin de comparar los resultados antes y después del tratamiento. Obteniendo que la penetración espermática mejora con la administración del tratamiento; además que la presencia o ausencia de microorganismos patógenos depende de la administración del tratamiento.

## II. INTRODUCCION

La máxima fertilidad en la mujer la alcanza entre los 24 y 26 años, declina gradualmente a partir de los 30 y es más acentuada alrededor de los 35 años. Posterior a los 40 años la fertilidad es mínima, es por eso que la mayoría de los centros especializados en el manejo de parejas estériles, no las aceptan después de esa edad.

En el hombre igualmente, la fertilidad es máxima a los 24 y 26 años, pero a diferencia de la mujer el declive se inicia a los 35 años.

Siendo la función reproductora el fin primordial del Aparato Reprodutor Femenino, la esterilidad constituye un trastorno funcional y emocional<sup>1</sup>, ya que por lo general la pareja no está preparada para esta situación y sus reacciones pueden ser irracionales y muy complejas. (4, 30)

Las parejas afectadas sufren no sólo momentáneamente, sino constantemente durante gran parte de su vida, por múltiples situaciones que reviven su problemática. (30)

Este trastorno es frecuente en nuestro país, existen datos de un 15% de parejas se enfrentan a este problema, y tiende a aumentar debido a las tensiones del mundo moderno. (30)

La esterilidad iatrogénica es debida a intervenciones quirúrgicas innecesarias o mal realizadas, secuela de terapéuticas médicas o quirúrgicas, empleo de métodos anticonceptivos inapropiados y retardo en el diagnóstico.

El hombre, la mujer o ambos, pueden tener factores que contribuyen a la alteración y los dos tienen que cooperar para su tratamiento. Desde el punto de vista psicológico, debe haber cooperación para resolver el problema, que señalar como culpable a uno u otro. (13)

El pronóstico para estas parejas en la actualidad no es muy satisfactorio, pero cada vez es mejor, sin embargo se obtienen buenos resultados teniendo un enfoque diagnóstico y terapéutico integral más eficiente, además de comprender y tratar sus alteraciones emocionales.

Esterilidad es la incapacidad de una pareja para lograr una concepción, después de un año de relaciones sexuales sin protección anticonceptiva. (30)

La esterilidad puede ser absoluta o relativa. La esterilidad absoluta es aquella sin posibilidad de tratamiento y tampoco de curación espontánea e impide totalmente la fecundidad. La esterilidad relativa o temporal es aquella que puede desaparecer espontáneamente. (4)

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

Infertilidad implica la capacidad de lograr concepciones, pero no un producto viable.

Fertilidad es la capacidad de concebir en un lapso definido.

Fecundidad incluye la capacidad para concebir y lograr un producto vivo.(30)

### **III. OBJETIVOS**

#### **OBJETIVO GENERAL**

Determinar las alteraciones existentes en la prueba post-coital debido a la presencia de microorganismos patógenos identificados en el laboratorio, con el fin de realizar una comparación de los resultados antes y después de la administración de un tratamiento antimicrobiano en pacientes con problema de esterilidad.

#### **OBJETIVOS PARTICULARES**

Lograr la identificación de microorganismos patógenos que pudieran estar causando daño en el tracto genital, en pacientes con problema de esterilidad con alteración de la prueba post-coital.

Realizar una comparación de la relación existente entre la prueba post-coital y la presencia de microorganismos patógenos, antes y después de un tratamiento.

#### **IV. HIPOTESIS**

Si la presencia de microorganismos patógenos altera la prueba postcoital, entonces, después de un tratamiento adecuado contra la bacteria identificada, la prueba postcoital podrá mostrar mejores resultados significativos.

Ho = La diferencia entre los resultados de la prueba postcoital antes y después del tratamiento, no es significativo.

Hi = Existe una diferencia significativa en los resultados de la prueba postcoital antes y después del tratamiento.

## V. GENERALIDADES

### V.1 FACTORES PREDISPONENTES DE ESTERILIDAD

#### A) CAUSAS DE ESTERILIDAD

Fundamentalmente la esterilidad en la mujer están dadas por:

- 1) Factores ováricos, la insuficiencia progesterona y más importante es el ciclo anovulatorio. (4)
- 2) El factor tuboperitoneal se debe a una patología intrínseca u obstrucción de la motilidad tubaria y por procesos adherenciales que las involucren a ellas o al peritoneo adyacente. (30)
- 3) Las infecciones pueden producir una oclusión total de las trompas por tuberculosis, *Mycoplasma*, *Chlamydiae*, *Neisseria gonorrhoeae* y trastornos endometriales infecciosos. (4,30,36)
- 4) Alteraciones morfológicas del útero unicollis, unicorne, bicorne, didelfo, septado y subseptado.
- 5) Atrofia por producción hormonal ausente o deficiente lo que produce un estímulo inadecuado al endometrio.
- 6) Niveles de anticuerpos séricos antiespermatozoides, además se han identificado anticuerpos antizona pelúcida, antitrofoblasto y anticélulas endometriales, implicadas en el aborto recurrente. (30)

Existen diversas razones de esterilidad en el hombre como: hipogonadismo, hipotiroidismo, diabetes sacarina, parotiditis, orquitis viral, medicamentos citotóxicos, radiaciones, aumento de temperatura a nivel testicular, drogas, testículo no descendido, obstrucción congénita de los conductos deferentes y del epidídimo, bloqueo adquirido por infección como gonorrea y tuberculosis, traumatismos testiculares. En el hombre se han hallado anticuerpos antiespermatozoides en la circulación sistémica, en el plasma seminal, en la superficie espermática y antígenos que se derivan de los espermatozoides, testículos, epidídimo, conductos eyaculadores y glándulas accesorias. (13, 14, 30, 36)

La esterilidad también es causada por ausencia de espermatozoides en el eyaculado (azoospermia), disminución de los mismos (oligozoospermia), disminución o ausencia de su motilidad (astenozoospermia), muerte de los espermatozoides (necrozoospermia), incremento de formas anormales (teratozoospermia) y combinación de éstas. (4, 36)

Estudios muestran la distribución de cada uno de los factores causales: masculino 25-30%, ovárico 20-30%, tubario 15-20%, cervical 5-10% (27), causa desconocida y uterino 5-10% (33). En más del 30% de los casos hay patología múltiple simultánea (30).

## **B ) FACTORES PREDISPONENTES DE ESTERILIDAD**

La tendencia actual de posponer embarazos disminuye la posibilidad futura de lograrlo por: aumento de edad, el empleo indiscriminado de técnicas anticonceptivas, la mayor incidencia de enfermedades venéreas, la automedicación, las alteraciones nutricionales severas que provocan desnutrición u obesidad, ejercicios extenuantes, situaciones que provocan estrés, exposición a tóxicos ambientales como pesticidas, plomo, solventes, gases, pinturas, radiaciones. Las adicciones al tabaco, alcohol, cafeína, fármacos del tipo de los tranquilizantes, antidepresores, analgésicos y otras drogas, alteran la fertilidad.

El que las mujeres se desempeñen en ocupaciones antes sólo reservadas para hombres, contribuye a aumentar este problema, por disminución en la frecuencia coital (30).

Anticuerpos antiesperma en el moco cervical reducen la motilidad del espermatozoide, esto está implicado en pacientes con infertilidad (25).

Bacterias que por su habilidad interactúan con el espermatozoide humano son:

*Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *Streptococcus agalactiae*,  
*Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*.

*Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* son inductores inmediatos de aglutinación espermática; sin aglutinación excesiva son *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus*.

*Chlamydia trachomatis* provoca inflamación, y por consiguiente daños indirectos al espermatozoides y glándulas sexuales accesorias. (39)

Otras bacterias causan daño directo por adherencia al espermatozoides, esto ha sido demostrado para *Ureaplasma urealyticum*, *Chlamydia trachomatis* y *Escherichia coli*. (40)

## V.2 ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA VAGINAL

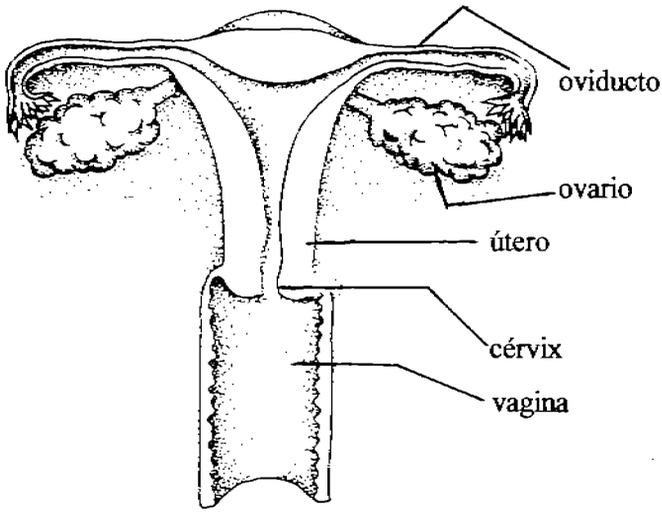
La vagina es una estructura tubular muscular y membranosa que se extiende desde la vulva hasta el útero. Está revestida por un epitelio escamoso estratificado. (26, 31)

Es un órgano que tiene diversas funciones, como ser el canal excretor del útero, a través del cual fluyen secreciones y el material menstrual, es el órgano femenino de la copulación y es el extremo inferior del conducto del parto. (8, 26, 31)

El cuello uterino se proyecta dentro del extremo superior de la vagina, separando sus paredes. (26) **Fig 1**

La vagina tiene tres capas: una mucosa que está compuesta por epitelio escamoso estratificado no queratinizado, una capa muscular y una capa fibrosa. Existe una cantidad considerable de glucógeno en las células de la capa superior de la mucosa vaginal. La acidez de la vagina, se ha atribuido a ácidos orgánicos como el ácido láctico proveniente del metabolismo del glucógeno, utilizado por la flora bacteriana vaginal (lactobacilos). (27, 31)

El epitelio vaginal experimenta cambios cíclicos y morfológicamente depende de la edad y el estado de salud. (11)



**Figura 1. Aparato Reproductor Femenino. (2)**

### **V.3 COMPONENTES Y CARACTERÍSTICAS DE LA SECRECIÓN VAGINAL**

El flujo de la vagina es una mezcla de componentes orgánicos conformado principalmente de proteínas, carbohidratos y ácidos grasos. Además de las secreciones de las Glándulas de Bartholin y Skene, células de descamación del epitelio, moco cervical, fluido endometrial y tubario.

Las características de la secreción vaginal normal son: cantidad mínima o variable, color blanquecino, pH ácido. (29)

La secreción vaginal fisiológica por lo general pasa inadvertida, pero es frecuente su aumento durante el embarazo o con el uso de anticonceptivos orales. (22)

#### V.4 FLORA VAGINAL NORMAL

La vagina y su flora microbiana representan un ecosistema que cambia constantemente, debido a influencias hormonales y a la menstruación. (18, 29)

La flora vaginal es un dinámico sistema el cual es influenciado por diversos factores como aporte hormonal, pH, contenido de glucógeno en células epiteliales, coito, embarazo, parto, traumas, dispositivo intrauterino, anticonceptivos orales, cremas locales, cirugía, tratamiento antimicrobiano, inmunosupresión, adherencia de bacterias en las células epiteliales de la vagina, etc. (29)

Bajo la influencia de los estrógenos, el epitelio vaginal se hace córneo y mantiene una prodigiosa flora microbiana.

La vagina prepubescente contiene una flora rica en bacterias anaerobias como bacteroides.

Se observan con frecuencia *Staphylococcus epidermidis*, levaduras y *Gardnerella vaginalis* en un 10% de las niñas.

En la madurez la vagina está colonizada por distintas bacterias, principalmente anaerobios obligados y facultativos. (18, 29)

Los *lactobacillos* son los que más prevalecen, contiene más de 10 de éstos por ml de material vaginal en el 75% de las mujeres y suelen pertenecer al grupo de *Lactobacillos acidophilus*.

Se aísla *Streptococcus viridans* y *Staphylococcus epidermidis* del 50% de mujeres asintomáticas en edad fértil. Se identifican *Bacteroides* y *Prevotella* sólo de 16.6% de estas mujeres y *Gardnerella vaginalis* del 30-40%. *Staphylococcus aureus* sólo 5%.

Los *Streptococcus* alfa hemolíticos y no hemolíticos son comunmente encontrados. Del 15 al 20% de las mujeres sanas son portadoras de levaduras. (18, 22, 29)

Con el inicio de actividad sexual, hay incrementos significativos en la prevalencia de *Gardnerella vaginalis*, *lactobacillos*, *mycoplasma* y *ureaplasma*, mientras que *Streptococcus del grupo B*, *Staphylococcus aureus* y levaduras, no se alteran significativamente.

El embarazo tiene poco efecto sobre la distribución de la mayoría de las bacterias y la flora varía ligeramente durante el ciclo menstrual. (20,22)

Los productos metabólicos de algunas bacterias, como el peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) producido por algunos *lactobacillos*, pueden suprimir a otros microorganismos como los anaerobios.

Los lactobacilos son una importante defensa microbiana contra la colonización de microorganismos patógenos. Vaginas con lactobacilos  $H_2O_2$  positivo tienen menos probabilidad de tener vaginosis bacteriana, candidiasis sintomática, *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *enterococcus* y *Staphylococcus coagulasa* negativo. Sin embargo la colonización vaginal por *Streptococcus* del grupo B y *Escherichia coli*, no se relaciona con la presencia de lactobacilos  $H_2O_2$  positivos. (12, 22)

## V.5 FLORA VAGINAL PATÓGENA

La flora normal puede interactuar contraria o sinérgicamente con patógenos exógenos, los cuales son capaces de adherirse al tejido susceptible del huésped, crecer y producir enfermedad, ya sea por invasión del tejido o producción de toxinas.

La zona genital después de una cirugía, parto o durante la menstruación, es un microambiente perfecto para la proliferación de bacterias.

La mayoría de las infecciones pélvicas son de naturaleza polimicrobiana, mezcla de anaerobios facultativos y bacterias anaerobias.

Los patógenos frecuentemente aislados incluyen bacterias aerobias, tales como *Escherichia coli* (18, 19, 29, 35), *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Gardnerella vaginalis*, *Haemophilus ducreyi*, *Neisseria gonorrhoeae* (19, 30), Streptococcus B hemolítico del grupo A y del grupo B (29), *Staphylococcus aureus* (29), bacterias anaerobias como *Prevotella*, *Bacteroides fragilis* (19, 29, 35), *Clostridium perfringens* (29), *Treponema pallidum*, intracelulares como *Mycoplasma hominis* (19, 30, 37), *Ureaplasma urealyticum* (30, 37), *Chlamydia trachomatis* (19, 30, 37), levaduras como *Candida albicans* (19), virus como herpes tipo II, HIV, citomegalovirus y protozoarios como *Trichomona vaginalis*. (19, 30), *Mycoplasma hominis* y

*Ureaplasma urealyticum* influyen de manera importante en la infertilidad (37). *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* se han asociado con daño tubario posterior, produciendo esterilidad. (30, 32, 37)

Organismos que han sido implicados en la infertilidad por alterar la actividad del espermatozoide en el moco cervical son: *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Clostridium welchii*. (20)

## V.6 ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DEL CÉRVIX

El útero se compone de dos partes fundamentales : los dos tercios superiores expandidos que se conocen como cuerpo y el tercio inferior cilíndrico que se denomina cuello uterino o cérvix. (26) **Fig. 1**

El cérvix posee un conducto que podría ser considerado como la continuación de la cavidad uterina, es más ancha en su parte media y tiene una longitud de 2 a 3 cm, está constituido por tejido conectivo y elástico con algunas concentraciones musculares, las cuales predominan hacia su orificio interno y son escasas hacia el orificio externo, está compuesto por una capa mucosa con múltiples pliegues. (30, 38).

El epitelio es cilíndrico simple, que está surcado con hendiduras en sentido longitudinal, transversal y oblicuo, que están cubiertas por células cilíndricas, algunas de ellas poseen cilios o microvellosidades bien desarrolladas con movimientos en sentido favorable hacia el útero. Estos surcos forman verdaderas criptas que llegan a constituir reservorios para los espermatozoides en donde pueden conservar su vitalidad hasta 3 días. (38)

El 95% de las células son secretoras y el 5% ciliadas.

Los estrógenos aumentan el diámetro del orificio cervical externo, mientras que la progesterona lo disminuye.(30)

En la etapa periovulatoria del ciclo menstrual, los estrógenos alcanzan su máxima concentración en sangre y determinan que el moco se torne muy fluido, abundante, claro, poco celular, alcalino, con arborización intensa cuando se cristaliza, lo cual se interpreta como un cambio que favorece la penetración espermática; en cambio, en la fase lútea del ciclo, el moco es opaco, muy viscoso, celular y no cristaliza en forma de helecho, dificultando el paso de los espermatozoides a la cavidad uterina. (13, 27, 30,34, 38, 40) **Fig. 2**

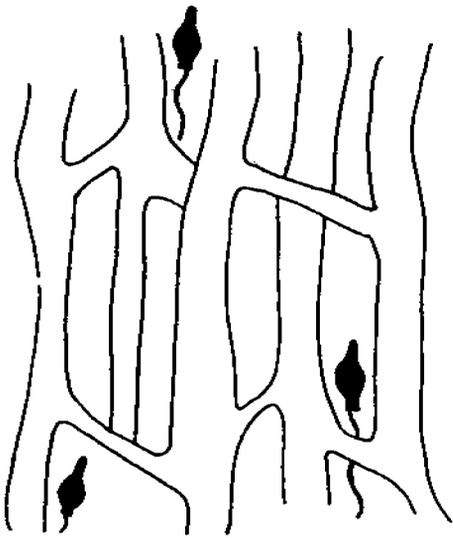
El cuello uterino actúa a manera de válvula biológica en una etapa del ciclo reproductor que favorecerá u obstaculizará la penetración de los espermatozoides. (38)

Desde el punto de vista de la fertilidad en la mujer, el cérvix tiene varias funciones:

- 1) El cérvix favorece el paso de los espermatozoides durante la fase previa a la ovulación, por aumento de estrógenos e inhibe la migración de espermatozoides en el resto del ciclo ovárico.
- 2) El cérvix actúa como reservorio de los espermatozoides, alojados en sus criptas. **Fig. 3**
- 3) En las criptas del cérvix se proveen los requerimientos energéticos a los espermatozoides y participan en su proceso de capacitación.
- 4) Además, el cérvix protege a los espermatozoides del pH ácido de la vagina.

(1)

(a)



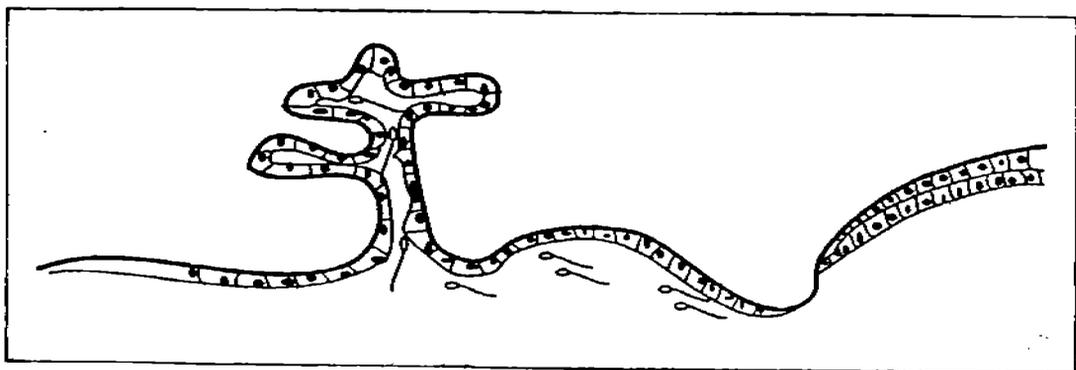
(b)



**Figura 2. Estructura del moco cervical (39)**

**a) Fase periovulatoria del ciclo.**

**b) Fase lútea del ciclo.**



**Figura 3. Detalle de cripta endocervical con espermatozoides en su interior. (1)**

## **V.7 MOCO CERVICAL**

La secreción de moco cervical es regulada por el 17 B-estradiol. La liberación del moco aumenta conforme aumentan los niveles de estrógeno en sangre, por su parte la progesterona inhibe la producción del moco cervical. Por esta razón, el moco cervical sufre variaciones cíclicas. La cantidad de moco cervical producido diariamente en una mujer en edad reproductiva, varía entre 500 microlitros, durante la fase periovulatoria del ciclo ovárico, a 100 microlitros en el resto del ciclo. (1)

### **A) SÍNTESIS DEL MOCO CERVICAL**

La síntesis se lleva a cabo en las células secretoras del epitelio endocervical, estas células son las que producen el moco y presentan tres tipos citológicos diferentes, dos ricas en granos de secreción y una con pocos o sin granos que son las células de reserva. Además sintetizan la mucina y ésta es almacenada en los gránulos de secreción, siendo liberada a partir de la superficie apical de la célula.

Durante todo el ciclo ovárico los gránulos de las células endocervicales liberan el moco constantemente y se incrementa la liberación de éste durante la estimulación estrogénica máxima en el período periovulatorio.

El nivel de glucoproteínas del moco permanece casi constante con un ligero aumento en los días periovulatorios. Pero la cantidad de agua existente en el moco cervical sí es claramente variable durante el ciclo, por lo cual durante el pico estrogénico existe un incremento en el volumen del moco debido básicamente al aumento del agua. (1)

## **B) COMPOSICIÓN DEL MOCO CERVICAL**

El moco cervical está constituido por 2 fases: una líquida y una de gel o componente de alta viscosidad.

En la fase líquida el plasma cervical contiene agua, electrolitos, componentes orgánicos y proteínas séricas solubles, contiene de 53-232 ug/ml de proteínas totales. La concentración de proteínas solubles disminuye en el período periovulatorio, así como la de inmunoglobulinas y albúmina, mientras que en el resto del ciclo los niveles de albúmina aumentan 40 veces. (1)

El agua constituye entre el 85 y 98% del peso del moco cervical, en el período periovulatorio el moco contiene 95-98% de agua y durante el resto del ciclo o en la gestación la hidratación del moco varía de un 85-92%. (1, 15, 27)

Los electrolitos presentan variaciones cíclicas, a la mitad del ciclo las concentraciones de iones sodio y cloro alcanzan valores parecidos a los del suero y el ión potasio desciende, después los niveles de sodio disminuyen entre 47 y 63% del valor máximo. (1)

La fase de gel está constituida fundamentalmente por mucina la cual es un hidrogel rico en carbohidratos consistente en glucoproteínas de elevado peso molecular. (1, 27, 29, 34) Se ha sugerido que la mucina es el agente activo del moco. (1, 27) A la mitad del ciclo la producción de mucina es máxima y posteriormente desciende en la fase folicular y aún más en la fase secretora. (1)

### **C) FISIOLÓGÍA DEL MOCO CERVICAL**

El moco cervical facilita la penetración del espermatozoide al canal endocervical y con ello se evita la fagocitosis rápida de este en la vagina.

El moco cervical protege a los espermatozoides de su destrucción debido al ambiente hostil que representa el pH ácido de la vagina, pues proporciona al medio un pH alcalino favorable para las células masculinas. (1)

El moco cervical modifica sus características de acuerdo a las influencias hormonales de las etapas del ciclo. En la periovulatoria es abundante y fluido, sin embargo en la lútea es escaso y viscoso. (30) Adopta una estructura micelar en el período periovulatorio lo cual permite un ascenso rápido de los espermatozoides a través del canal endocervical, sin embargo bajo el influjo de los progestágenos la red de micelas posee una estructura tan densa que los espermatozoides no pueden atravesar el gel.

La mayoría de los espermatozoides penetran en el canal endocervical después de 15 a 20 minutos de la eyaculación, aunque se ha demostrado algunos pueden penetrar después de 1 a 3 min. de la eyaculación.

En el moco cervical se inicia el proceso de capacitación de los espermatozoides, adquiriendo de esta forma la capacidad fecundante tras liberarse de la membrana acrosomal externa. (1)

## V.8 MIGRACIÓN ESPERMÁTICA EN EL CANAL CERVICAL

Los espermatozoides son susceptibles a los cambios de pH. (23) En la vagina existe un pH ácido de 3-5, éste es inadecuado para la supervivencia de los espermatozoides. La parte superior de la vagina está recubierta de moco cervical, el cual tiene un pH alcalino de 7-8.5, éste es el óptimo para la migración de los espermatozoides, además de mantener su supervivencia. (23, 30)

La alcalinidad excesiva del moco cervical (pH mayor de 8.5) también puede atentar contra la viabilidad de los espermatozoides. (23)

El plasma seminal tiene un pH alcalino, esto facilita que el semen contacte con el moco cervical que se encuentra en el orificio cervical y los espermatozoides, huyendo del medio ácido vaginal, se introduzcan rápidamente en el moco cervical alcalino. (14) **Fig.4**

La ruta del espermatozoide por el canal cervical depende de: su capacidad vital la cual puede estar alterada por anomalías en su estructura, la calidad del moco cervical y la integridad anatómica y funcional del cuello uterino. La configuración de las criptas cervicales permite el almacenamiento y conservación de los espermatozoides con capacidad fecundante, constituyendo así una fuente de liberación espermática en forma sostenida y prolongada. (38)

La penetración de los espermatozoides en el moco cervical se debe exclusivamente a movimientos activos de las colas, está directamente relacionada con el grado de motilidad, vitalidad y la presencia de formas normales, además de la influencia hormonal sobre el moco cervical. (13, 14, 27, 30, 34, 38, 40)

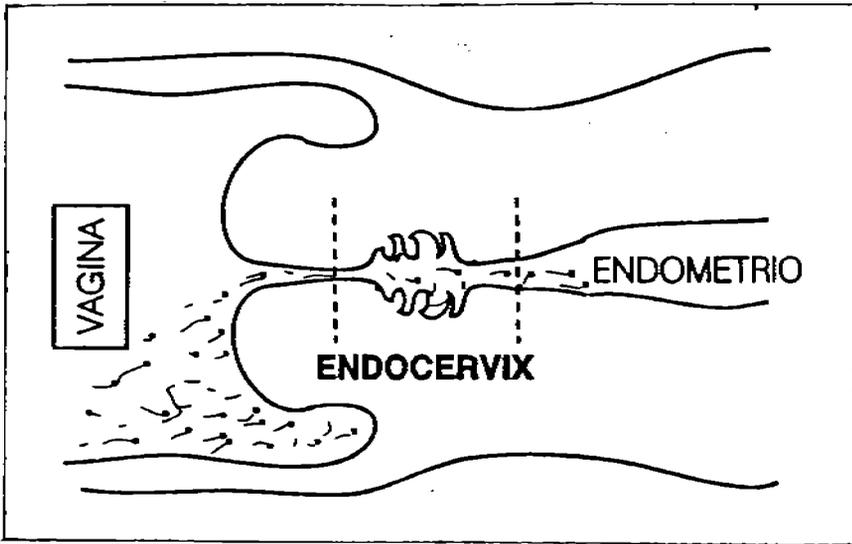
Se ha reportado en estudios que, al aumentar el agua en el moco cervical aproximadamente en 97.5%, existe un verdadero aumento en la penetrabilidad del espermatozoide. (15, 27)

La migración espermática puede estar impedida por anomalías anatómicas del canal cervical, hipoplasia del cérvix, traumatismos, infecciones, mal posición cervical, moco anormal o bien por la combinación de estos factores. (38)

Existen dos fases en la migración de los espermatozoides a través del endocérvix: la fase rápida y la tardía.

Durante la fase rápida, los espermatozoides penetran por la porción central del canal cervical y avanzan en una línea paralela a la fibrillas de la mucina. En la fase tardía, los espermatozoides penetran a través de la periferia del moco cervical, orientados por las fibras de mucina, colonizando de esta manera las criptas donde se almacenan y son liberados lentamente hacia el endometrio.

En la parte superior del tracto genital femenino, la concentración de espermatozoides va disminuyendo, ya que sólo avanzan los más aptos debido a que el moco cervical ejerce una verdadera barrera biológica selectiva. (1)



**Figura 4. Corte Sagital de fondo de saco vaginal, endocervix y endometrio.**

**Migración de espermatozoides desde la vagina. (1)**

## **V.9 EL FACTOR CERVICAL EN ESTERILIDAD**

Los trastornos a nivel del cuello uterino pueden ser la causa de la esterilidad, su incidencia varía entre el 5 y el 10% de todos los casos, además, se piensa que del grupo de casos en los cuales no es posible reconocer la causa de esterilidad también pudiera existir un problema cervical. (40) Puede ser factor causal único de esterilidad, aunque lo más frecuente es que forma parte de patología múltiple simultánea. Las alteraciones cervicales nunca llegan a determinar total y plenamente esterilidad, lo que hacen es producir cierta hostilidad cervical.

En la actualidad, el factor cervical se considera esencial en la evaluación de la pareja estéril.

El estudio del moco cervical y la prueba postcoital se realizan para evaluar el factor cervical, además de otros estudios.(30)

### **A) ESTUDIO DEL MOCO CERVICAL**

Toma de la muestra:

Para lograr una correcta evaluación del moco cervical, es preciso realizar una toma de muestra adecuada.

Se indica a la paciente colocarse en posición ginecológica, se inserta un espejo vaginal no lubricado, se toma una muestra del fondo del saco vaginal. Una vez expuesto el cérvix uterino, éste se limpia de las secreciones vaginales con una torunda de algodón. Existen varias maneras de recoger el moco cervical. El moco puede ser aspirado con una jeringa de insulina sin aguja o con una pipeta, se deposita sobre un portaobjetos y se cubre con un cubreobjetos para luego examinarlo con un microscopio con óptica de contraste de fase.

## **B) EVALUACIÓN**

La evaluación del moco cervical analiza las características que pueden afectar la penetración del espermatozoide, que son:

Volumen, consistencia o viscosidad, filancia, cristalización y celularidad. (1, 9, 23, 30) A cada uno de estos parámetros se les asigna una puntuación:

### **Volumen**

La puntuación para el volumen es:

0 = 0 ml

1 = 0.1 ml

2 = 0.2 ml

3 = 0.3 ml o más

### **Consistencia o viscosidad**

Es el factor de más influencia en la penetración de los espermatozoides.

La puntuación es:

- 0 = moco espeso o muy viscoso
- 1 = moco de viscosidad intermedia
- 2 = moco mínimamente viscoso
- 3 = moco acuoso o fluido. (1)

### **Spinnbarkeit o filancia**

Spinnbarkeit es un término que se emplea para describir la filancia, se refiere al grado de elasticidad del moco cervical, se mide en centímetros y se asignan los puntos así:

- 0 = menos de 1 cm
- 1 = 1 a 4 cm
- 2 = 5 a 8 cm
- 3 = 9 o más cm

Se ha reportado que el moco pierde su característica de spinnbarkeit cuando se infecta. (20)

## Helechos o cristalización

Los helechos se refieren al grado y características de los patrones de cristalización, que se observan al secar el moco cervical en una superficie de vidrio. (23) Se hace la valoración en el microscopio observando diferentes campos a 400 x. (1)

La puntuación es la siguiente:

- 0 = no hay formación de cristales
- 1 = formación de helechos atípicos
- 2 = tallos de helechos primarios y secundarios
- 3 = tallos de helechos terciarios y cuaternarios. (23) **Fig.5**

## Celularidad

Se debe realizar una estimación del número de leucocitos y otras células en el moco cervical, como células epiteliales, detritus celulares, etc. a 400 x HPF (Alto poder de magnificación)

El puntaje es:

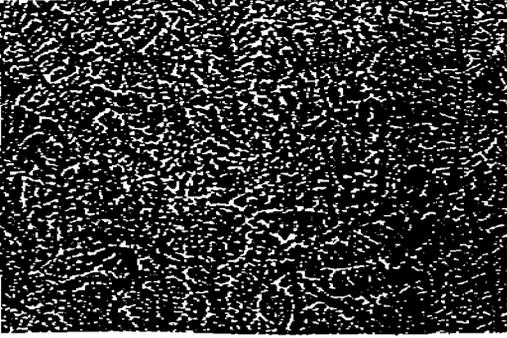
- 0 = más de 20 cel/HPF
- 1 = 11-20 cel/HPF
- 2 = 1-10 cel/HPF
- 3 = 0 células

La máxima puntuación es de 15 para un moco excelente. Valores de 10-14 corresponden a un buen moco y valores inferiores a 10 indican un moco desfavorable para la penetración espermática.

El pH del moco cervical se determina con un papel para medir pH, con un intervalo 6.4 a 8, ya sea in situ o inmediatamente después de la recolección. (23)

El pH no se incluye en la puntuación total. (1)

a)



b)



c)



d)



**Figura 5. Ejemplos de formaciones de helechos en el moco cervical. (1)**

- a) Formación de helecho atípico.**
- b) Bifurcaciones primarias y secundarias.**
- c) Predominio de bifurcaciones terciarias.**
- d) Predominio de bifurcaciones cuaternarias.**

### **C) PRUEBA POSTCOITAL (SIMS - HÜHNER)**

La prueba postcoital fue descrita primero por James Marion Sims en 1866, considerado el primero en haber observado el esperma después del coito en el moco cervical. (9)

En 1913 este procedimiento fue modificado, usado clínicamente y popularizado por Max Hühner, conocido como Prueba de Sims-Hühner. (3, 10)

Los médicos comenzaron a utilizar la prueba postcoital (PCT) para evaluar parejas infértiles, como una valoración inicial del factor cervical y también de la calidad del semen indirectamente. (3)

Algunos descubrimientos han demostrado el resultado de la PCT, puede ser usado en la valoración temprana de la infertilidad, mientras otros cuestionan la validez de la prueba para este fin. (3, 9) Gran parte de la incertidumbre de la prueba se ha debido a las múltiples variables involucradas: calidad del moco cervical, calidad del semen, técnica coital, intervalo para el coito. Esta prueba es de gran importancia si se logran controlar estas variables.

A pesar de la incertidumbre acerca de su validez, la PCT se ha convertido en el método de elección para diagnosticar un factor cervical en la infertilidad. (9, 10)

El objetivo de realizar la prueba postcoital es:

Cuantificar el número de espermatozoides y su motilidad en el moco cervical. Además de evaluar la supervivencia y el comportamiento de los espermatozoides algunas horas después del coito. Evalúa la interacción moco cervical-espermatozoide. (1) También la prueba proporciona información adicional sobre la presencia de infección.

Se debe programar en el período periovulatorio inmediato, que es cuando las características del moco cervical son óptimas para la penetración espermática y es importante realizarse tras una abstinencia sexual de 2 días previos a la prueba.(1 ,20, 30)

## **D) INTERPRETACIÓN**

Al examinar la muestra endocervical, se clasifica el movimiento de los espermatozoides según el Manual de la OMS (23), en:

- Tipo A motilidad rápida y progresiva
- Tipo B motilidad lenta progresiva
- Tipo C motilidad in situ
- Tipo D espermatozoides inmóviles

Los criterios utilizados de acuerdo al Manual de la OMS, son los siguientes:

Una muestra con 10 espermatozoides o más de tipo A por campo de alto poder, se considera buena; mala con menos de 10 tipo A y B. (aunque existen criterios diferentes en la bibliografía). (1, 13, 30)

Una PCT normal implica:

a) Técnicas satisfactorias de coito. b) Moco normal para el transporte y conservación de los espermatozoides. c) Función estrogénica ovarica adecuada. d) Cuando menos la posibilidad normal de fertilidad masculina. Sin embargo, ésta prueba no sustituye al análisis del semen sino solo la complementa. (13)

Los resultados de la prueba deben incluir la evaluación de la calidad del moco de acuerdo a los parámetros establecidos, el número de espermatozoides y su tipo de motilidad.

La presencia de un número adecuado de espermatozoides con buena motilidad, excluye factores cervicales como posible causa de esterilidad. Cuando existe un gran número de espermatozoides móviles en la PCT es más probable que el embarazo ocurra. (3)

Las pruebas postcoítales negativas indican una disminución de la capacidad de penetración de los espermatozoides por alteración numérica o funcional de los mismos, un moco cervical hostil, mala técnica coital, problemas inflamatorios y/o infecciosos.

La PCT debe repetirse si el resultado es negativo. (1, 23) Una mala PCT constante lleva a un pronóstico más bajo de fertilidad. (33)

El reporte de resultados incluye la observación de: leucocitos, células epiteliales, detritus, *Trichomonas*, levaduras, células clave y eritrocitos. La observación de los elementos encontrados en la muestra de fondo de saco vaginal, proporciona información adicional sobre la presencia de contaminantes y de espermatozoides; dicha información puede ser útil para evaluar el depósito de semen.

## VI. JUSTIFICACION

Se ha reportado que la esterilidad en nuestro país es un problema grave que viven aproximadamente el 5% de parejas, esto trae como consecuencia problemas emocionales, de culpa e incluso puede desintegrar un matrimonio, puesto que la función en pareja es la procreación. (4,30)

Uno de los factores que puede producir esterilidad por afectar de manera desfavorable la penetración espermática es la presencia de microorganismos patógenos en el moco cervical, por lo cual se decidió retomarlo para observar si existía una mejoría en la penetración espermática después de la administración de un medicamento antimicrobiano. Además de poder ayudar a las pacientes que presentaban microorganismos patógenos, éstas no sabían que tenían infección, y probablemente este factor alteraba en forma negativa la penetración espermática.

Cabe mencionar que la penetración espermática puede ser impedida por diversos factores como inmunológicos, anomalías anatómicas, moco anormal, calidad del semen, o bien por la combinación de estos factores (25,38) y no únicamente por la presencia de microorganismos patógenos.

## VII. MATERIAL Y METODOS

### Muestras

Se obtuvo muestra de secreción cervicouterina de 121 mujeres con diagnóstico de esterilidad primaria, secundaria o de causa desconocida, las cuales asisten a consulta en el hospital de Gineco-obstetricia No.3 del Centro Médico La Raza. El muestreo fué durante 7 meses.

### Medios de cultivo

Preparado en fresco: Solución salina fisiológica (S.S.F.)

Medio de transporte: Caldo Infusión cerebro corazón (B.H.I.)

Medios de cultivo: Agar sangre, Agar Mac Conkey, Agar Thayer Martin,  
Agar Sal y manitol, Agar Chocolate, Agar Biggy.

Medios de pruebas bioquímicas para identificación :

Agar Citrato de Simmons, Caldo Malonato, Agar Hierro de Kligler, Agar Lisina Hierro ( LIA ), Medio Motilidad - Indol - Hierro ( SIM ), Medio Motilidad-Indol-Ornitina (MIO ).

## **Reactivos**

Peróxido de Hidrógeno (  $H_2O_2$  )

N-N tetrametil-p-fenilendiamina

Reactivo de Kovac's (p-dimetilaminobenzaldehído)

Tinción de Gram (cristal violeta, lugol, alcohol-acetona safranina).

**Material Biológico** : Suero y plasma humano.

## **Varios**

Portaobjetos, cubreobjetos, hisopos estériles, asas bacteriológicas, papel indicador de pH, mechero, estufa bacteriológica, pinzas y microscopio óptico.

La población que se estudió fue de 121 mujeres con diagnóstico de esterilidad primaria, secundaria, o de causa desconocida, sin estar sometidas a tratamiento antimicrobiano por lo menos 20 días antes del primer muestreo.

Se obtuvo la muestra de la secreción cérvico uterina en el período periovulatorio del ciclo menstrual, además se tomaron muestras del fondo de saco y cérvix para realizar el exámen bacteriológico.

Se realizó la prueba postcoital, así como la siembra de las muestras en medios de cultivo.

Se evaluó la prueba postcoital de acuerdo a los parámetros establecidos.

Por otra parte, se llevó a cabo la identificación del microorganismo patógeno y se realizó el antibiograma.

El resultado de cada paciente se envió a su médico, éste le indicó a la pareja el medicamento a administrarse. Habiendo pasado por lo menos 15 días de terminado el tratamiento antimicrobiano, se llevó a cabo nuevamente la prueba postcoital y el examen bacteriológico.

Finalmente se realizaron comparaciones de la prueba postcoital, así como de los microorganismos patógenos encontrados, antes y después del tratamiento.

## **A) OBTENCIÓN Y MANEJO DE LA MUESTRA**

Las indicaciones para realizar la prueba postcoital son las siguientes:

1.- La mujer “NO” debe aplicarse ningún medicamento vaginal cinco días antes de la cita al laboratorio, no debe tener relaciones sexuales 2 ó 3 días antes de la cita.

2.- El día del estudio la pareja deberá tener relaciones sexuales por la mañana, durante el coito la mujer estará acostada boca arriba y al terminar la eyaculación, permanecerá en esa posición con una almohada debajo de la cadera y las piernas cruzadas durante 10 minutos, después se colocará de lado (izquierdo o derecho) otros 10 minutos.

3.- No deberá realizarse aseo vaginal.

Para obtener la muestra, indicar a la paciente que se coloque en posición ginecológica e introducir un espejo vaginal estéril sin lubricante hasta localizar el cérvix, limpiar éste de las secreciones vaginales con una torunda o gasa seca, tomar una muestra del moco endocervical con pinzas uterinas, medir el pH, colocar la muestra en un portaobjetos y cubrirla. Además, tomar una muestra del fondo del saco vaginal.

Para el examen bacteriológico tomar 4 hisopos, 2 de ellos son para la muestra del fondo del saco y los otros para la muestra del cérvix, uno de los hisopos introducirlo en solución salina fisiológica (S.S.F.) y el otro en caldo infusión cerebro corazón (BHI) para cada muestra.

## B) EXAMEN BACTERIOLÓGICO

Prueba en fresco : Con el hisopo que se encuentra en S.S.F. se busca en es microscopio trofozoitos de *Trichomona vaginalis*, pseudo-hifas de levaduras, leucocitos, bacterias, detritus celulares, células clave.

Las células clave se ponen de manifiesto, ya que son células epiteliales vaginales que presentan diminutos cocobacilos, éstos se aprecian mejor en los márgenes de la célula, pero pueden ser suficientemente densos como para oscurecer parcialmente el núcleo.

*Trichomona vaginalis* es identificada en las secreciones vaginales por su característica motilidad con contorciones, tiene forma de pera y presenta cinco flagelos. (22)

Prueba de KOH al 10% : Después de realizar la prueba en fresco, se agrega hidróxido de potasio (KOH) al 10% a la secreción vaginal (en ambas muestras: fondo del saco y endocérvix), si se genera un olor a pescado acre característico debido a distintas aminas aromáticas como la trietilamina, la putrescina y la cadaverina, producidas por anaerobios asociados con la presencia de *Gardnerella vaginalis*. Estas diaminas aromáticas se volatilizan con pH básico, lo que explica la prueba positiva a la infección por *Gardnerella vaginalis* (uno de los criterios para su identificación).

Además, el KOH al 10% disuelve las grasas y aclara la muestra para observar hifas de hongos.

Tinción de Gram : Se realizó para observar la morfología microscópica de cocos, bacilos y principalmente la búsqueda de diplococos Gram negativos intracelulares (*Neisseria gonorrhoeae*), células clave y leucocitos.

### C) CULTIVO

Los medios de cultivo seleccionados para la secreción cérvicouterina fueron : Agar sal y manitol, Mac Conkey, Chocolate, Agar Thayer Martin, Agar Sangre, Agar Biggy.

Las muestras son sembradas por la técnica de estría por dilución, en condiciones de esterilidad.

Incubar las cajas en las siguientes condiciones :

Agar sangre, chocolate, thayer martin, en condiciones microaerofílicas a 35°C, con 5% de CO<sub>2</sub>, de 24 a 48 horas.

Agar sal y manitol, Mac Conkey en condiciones aeróbicas a 35°C, por 24 horas.

Agar Biggy, de 28 a 37°C, de 24 a 48 horas.

## D) IDENTIFICACIÓN DEL MICROORGANISMO Y ANTIBIOGRAMA

Seleccionar la colonia sospechosa

- Realizar tinción de Gram
- Realizar pruebas primarias (catalasa, oxidasa)
- Realizar pruebas secundarias bioquímicas :

MIO, SIM, LIA, Agar Citrato de Simmons, Agar Hierro de Kligler, Caldo Malonato.

- Realizar pruebas adicionales : Prueba de coagulasa para identificar *Staphylococcus aureus*, tubo germinativo para *Cándida albicans*.

- Realizar Antibiograma

1.- Con un hisopo estéril tocar la bacteria identificada, sumergir y agitar en 3 ml de caldo de triptosa y retirar el hisopo.

2.- Colocar el tubo en un baño de agua a 37°C, de 2 a 3 horas o hasta que la turbidez sea equivalente al estándar No. 5 de Mac Farland (ésto equivale a una

8

concentración de 10<sup>8</sup> organismos/ml).

3.- Sumergir otro hisopo en la suspensión, eliminar el exceso de líquido en la pared interna del tubo.

- 4.- Inocular con el hisopo una placa de agar Mueller-Hinton cubriendo uniformemente toda la superficie y estriarla por lo menos en 3 direcciones.
- 5.- Colocar los discos en la superficie del agar manualmente utilizando una pinza estéril, colocarlos por lo menos a 22 mm uno de otro y a 14 mm del borde de la placa, presionar suavemente los discos.
- 6.- Incubar a 35°C, durante 18 horas.
- 7.- Medir con una regla marcada en milímetros o plantillas especiales. (16)

#### **E) VALORACIÓN DE LA PRUEBA POSTCOITAL (SIMS-HÜHNER)**

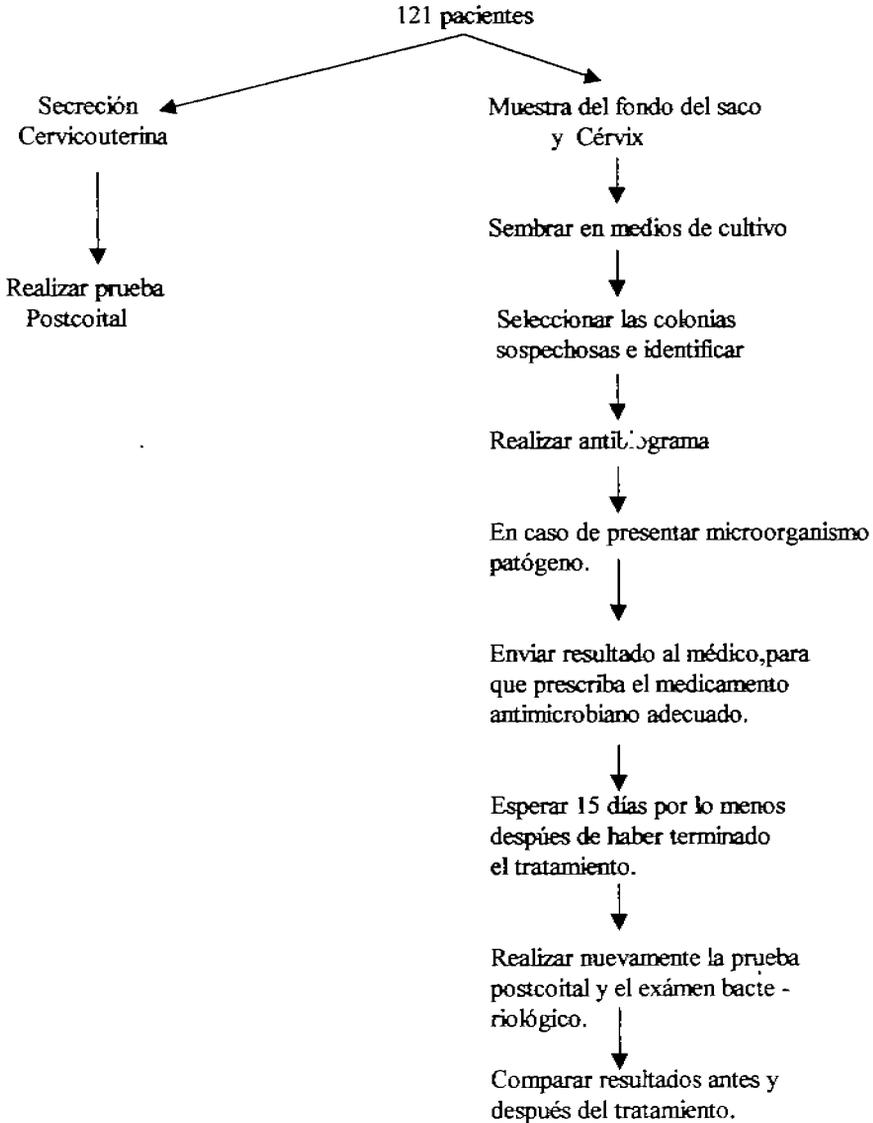
La muestra se coloca en un portaobjetos. Primeramente se observa en el microscopio a 10x con el fin de seleccionar un campo representativo, posteriormente a 40x para observar número de espermatozoides y su tipo de motilidad por campo, además presencia de contaminantes como bacterias, hongos, levaduras, *Trichomonas vaginalis*, detritus celulares y celularidad (leucocitos, células epiteliales, eritrocitos).

La prueba postcoital se valora de acuerdo a los parámetros establecidos por el Manual de la O.M.S. (ya mencionados).

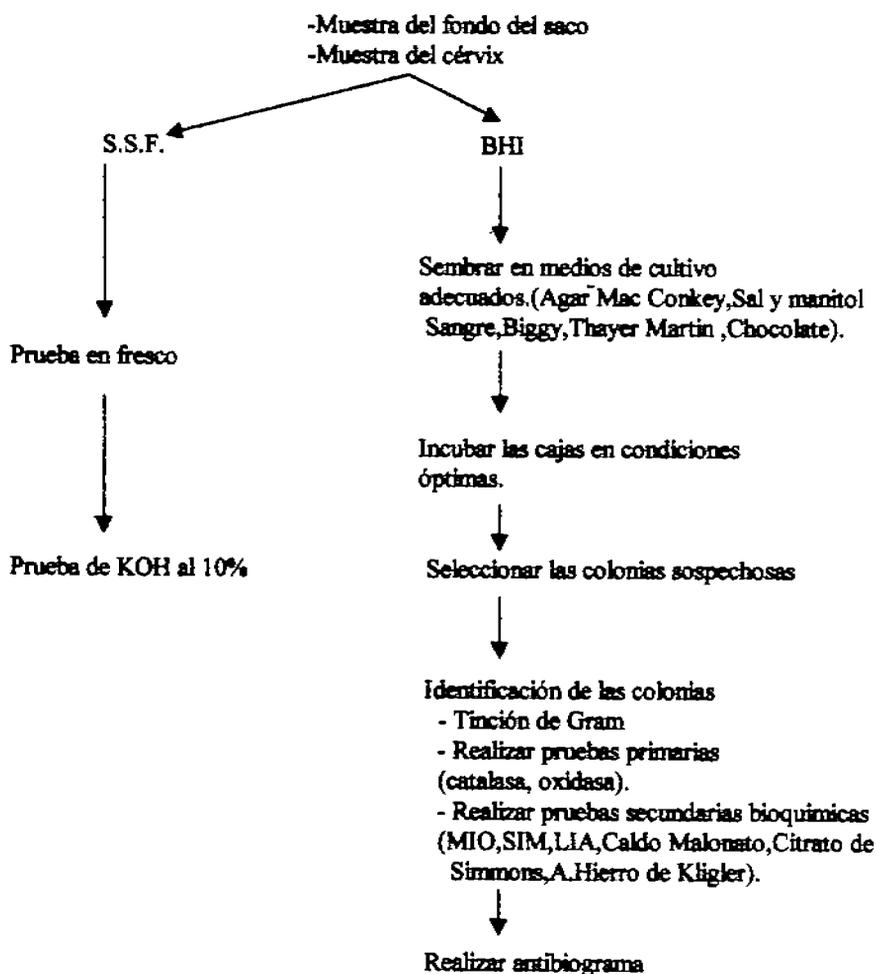
De acuerdo a lo anterior, se emitirá una calificación de la prueba postcoital o penetración espermática como: buena o mala.

**Figura 6.**

Diagrama de flujo de la metodología para la población de 121 pacientes.



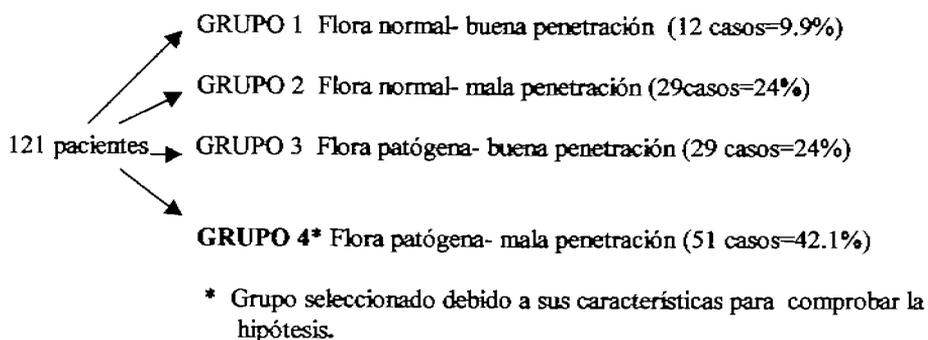
**Figura 7.** Procedimiento del examen bacteriológico.



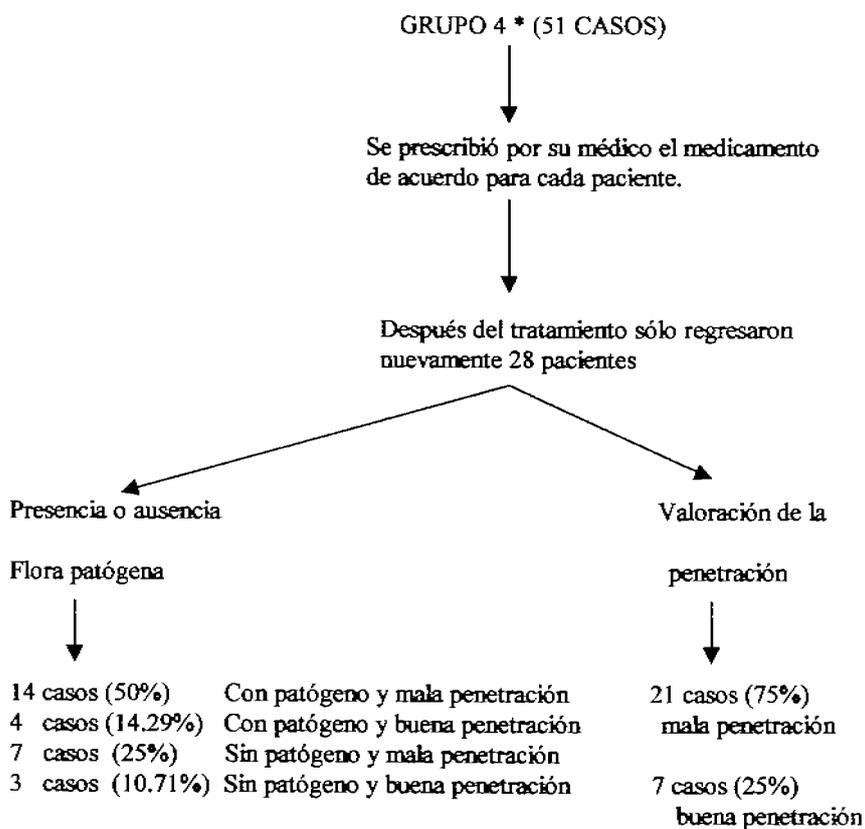
**Antibióticos usados:**

Nitrofurantoína	Meropenem
Trimetoprim con sulfametoxazol	Cloranfenicol
Furazolidone	Tetraciclina
Dicloxacilina	Amikacina
Eritromicina	Carbencilina
Penicilina	Gentamicina

**Figura 8.** Se muestran los 4 grupos en los que se dividió para su mejor estudio la población de 121 pacientes.



**Figura 9.** Procedimiento a seguir del grupo 4 \* seleccionado para comprobar la hipótesis.



\* Grupo seleccionado para recibir el tratamiento antimicrobiano debido a sus características con microorganismos patógenos y mala penetración.

## VIII. RESULTADOS

TABLA 1. Tipo de esterilidad presentada en las pacientes.

Las 121 pacientes a las cuales se muestreó habían sido oscultadas por su médico, emitiendo un diagnóstico de acuerdo al tipo de esterilidad que presentaban. Se puede observar una mayor incidencia en las pacientes con esterilidad primaria en 75 casos (62%), es decir estas pacientes no han tenido un embarazo concluido, en segundo término se encuentra la esterilidad secundaria en 37 (30.6%), estas ya han tenido embarazo a término y con esterilidad debido a otras causas 9 casos correspondiente al ( 7.4%).

<b>ESTERILIDAD</b>	<b>FRECUENCIA</b>	<b>%</b>
PRIMARIA	75	62
SECUNDARIA	37	30.6
OTRAS CAUSAS	9	7.4
TOTAL	121	100

TABLA 2. Edad de 118 pacientes con respecto a la esterilidad presentada.

Se muestra la edad con más incidencia entre las pacientes, la cual fue entre los 30 y 35 años de edad, la mayor parte de éstas se encuentran en edad reproductiva óptima, predominando el diagnóstico de esterilidad primaria.

Cabe mencionar que los resultados son de 118 pacientes, debido a que 3 de ellas no proporcionaron su edad.

EDAD	FRECUENCIA	%	ESTERILIDAD PRIMARIA	ESTERILIDAD SECUNDARIA	ESTERILIDAD POR OTRAS CAUSAS
21-23	2	1.7	3	0	0
24-26	13	11.01	11	2	0
27-29	20	16.95	14	4	1
<b>30-32</b>	<b>36</b>	<b>30.5</b>	<b>15</b>	<b>21</b>	<b>1</b>
<b>33-35</b>	<b>29</b>	<b>24.58</b>	<b>19</b>	<b>5</b>	<b>5</b>
36-38	16	13.56	12	2	1
39-41	2	1.7	1	1	0
TOTAL	118	100	75	35	8

**TABLA 3. Presencia y/o ausencia de flora patógena en el cultivo de las muestras.**

Se dividió la población de 121 muestras de acuerdo al número de microorganismos que presentaron, encontrándose un predominio en las muestras con un solo microorganismo patógeno en una frecuencia de 58 (47.93%), en segundo término las muestras sin microorganismo patógeno en 41 (33.9%), con más de un patógeno 22 muestras (18.18%). Es decir 80 muestras presentaron microorganismo patógeno.

<b>MICROORGANISMO</b>	<b>FRECUENCIA</b>	<b>%</b>
SIN PATOGENO	41	33.9
SOLO UN PATOGENO	58	47.93
MAS DE UN PATOGENO	22	18.18
TOTAL	121	100

TABLA 4. Frecuencia en porcentaje del tipo de flora patógena presente en el cultivo.

La frecuencia de los microorganismos patógenos aislados fueron *Escherichia coli* en 39 muestras (38.23%), *Gardnerella vaginalis* en 17 (16.66%), *Candida albicans* en 15 (14.70%), *Staphylococcus aureus* en 11 (10.78%). Los microorganismos aislados con menos frecuencia fueron *Proteus mirabilis* en 5 (4.90%), *Streptococcus beta hemolítico* en 4 (3.92%), *Klebsiella oxitoca* en 3 (2.94%), *Klebsiella ozaenae* en 2 (1.96%), *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Pseudomona aeruginosa*, *Enterobacter aglomerans*, *Citrobater freundii* y *Trichomona vaginalis* en 1 muestra (0.98%) para cada microorganismo.

Los resultados obtenidos en esta tabla fueron de 80 muestras correspondientes a los grupos 3 y 4, los cuales presentaron microorganismos patógenos en su cultivo, sin tomar en cuenta la penetración espermática. En algunas muestras se aislaron más de un microorganismo patógeno, por lo que el total de patógenos encontrados fue de 102, lo cual corresponde en este caso al 100 %.

Continuación tabla 4

<b>MICROORGANISMO</b>	<b>FRECUENCIA</b>	<b>%</b>
<i>Escherichia coli</i>	39	<b>38.23</b>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	17	<b>16.66</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	<b>10.78</b>
<i>Streptococcus B hemolítico</i>	4	<b>3.92</b>
<i>Klebsiella ozaenae</i>	2	<b>1.96</b>
<i>Klebsiella oxitoca</i>	3	<b>2.94</b>
<i>Proteus mirabilis</i>	5	<b>4.90</b>
<i>Proteus vulgaris</i>	1	<b>0.98</b>
<i>Morganella morganii</i>	1	<b>0.98</b>
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	1	<b>0.98</b>
<i>Enterobacter agglomerans</i>	1	<b>0.98</b>
<i>Citrobacter freundii</i>	1	<b>0.98</b>
<i>Candida albicans</i>	15	<b>14.70</b>
<i>Trichomona vaginalis</i>	1	<b>0.98</b>
<b>TOTAL</b>	<b>102*</b>	<b>100</b>

\* Resultados obtenidos de los grupos 3 y 4 , el total fué de 102 debido a que algunas muestras presentaron más de un microorganismo patógeno.

TABLA 5. Frecuencia en porcentaje de flora normal encontrada en las muestras.

Los microorganismos de flora normal aislados en las 121 muestras cultivadas fueron:

*Staphylococcus epidermidis* en 80 muestras (51.94%), *Lactobacillus spp.* en 43 (27.92%), *Streptococcus* alfa hemolítico en 18 (11.7%) y *Candida spp.* en 13 muestras (8.44%).

Los microorganismos de flora normal aislados fueron considerando los 4 grupos en los cuales se dividió la población de 121 casos, además algunas muestras presentaron más de un microorganismo de flora normal, por lo que el total fue de 154, lo que corresponde al 100%.

MICROORGANISMO	FRECUENCIA	%
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	80	51.94
<i>Lactobacillus spp.</i>	43	27.92
<i>Streptococcus alfa hemolítico</i>	18	11.7
<i>Candida sp.</i>	13	8.44
TOTAL	154	100

**TABLA 6. Evaluación de la prueba postcoital de acuerdo a los parámetros establecidos por la O.M.S.**

Se evaluó la penetración espermática en las 121 muestras, de acuerdo a los parámetros establecidos por la Organización Mundial de la Salud (O.M.S.), existiendo 80 muestras (66.1%) de casos con mala penetración espermática y 41 (33.9%) con buena penetración espermática.

Se puede observar en esta población la existencia de un predominio de mala penetración en las muestras, esto era de esperarse debido al diagnóstico de esterilidad de las pacientes.

<b>PENETRACION</b>	<b>FRECUENCIA</b>	<b>%</b>
<b>MALA</b>	<b>80</b>	<b>66.1</b>
<b>BUENA</b>	<b>41</b>	<b>33.9</b>
<b>TOTAL</b>	<b>121</b>	<b>100</b>

**TABLA 7. Relación existente entre presencia o ausencia de flora patógena y la valoración de la penetración espermática.**

La población de 121 casos de pacientes con problemas de esterilidad, se dividieron en cuatro grupos de acuerdo al tipo de flora y penetración espermática presentada.

En el grupo 1, hubo 12 casos (9.9%) con flora normal y buena penetración espermática.

En el grupo 2, 29 casos (24%) con flora normal y mala penetración espermática.

En el grupo 3, 29 casos (24%) con flora patógena y buena penetración espermática.

El GRUPO 4 fue el seleccionado para el planteamiento de la hipótesis dadas sus características de flora patógena y mala penetración, fue el indicado a recibir el tratamiento antimicrobiano y posteriormente valorar su efecto en la penetración espermática .

	PENETRACION		ESPERMATICA		TOTAL	%
	MALA	%	BUENA	%		
<b>CON PATOGENO</b>	51*	42.1	29	24	80	66.1
<b>SIN PATOGENO</b>	29	24	12	9.9	41	33.9
					121	100

\* El GRUPO 4 fue el seleccionado para llevar a cabo el planteamiento de la hipótesis debido a sus características.

**TABLA 8. Valoración de la penetración espermática y tipo de microorganismos patógenos encontrados, en porciento.**

En esta tabla se muestran los microorganismos patógenos aislados en las muestras correspondientes a los grupos 3 y 4, además se valoró la penetración espermática.

El total de microorganismos patógenos y mala penetración espermática fue de 64 (62.72 %), y los microorganismos patógenos y buena penetración espermática fué de 38 (37.24 %).

Se puede observar en la tabla que microorganismos como *Gardnerella vaginalis* y *Candida albicans* se cultivaron con más frecuencia en el grupo 4 (Mala penetración) que en el grupo 3 (Buena penetración).

El total de microorganismos patógenos aislados fue de 102 , lo que corresponde al 100 %,debido a que algunas muestras presentaron más de un microorganismo patógeno.

(Esta tabla es similar a la tabla 4, pero aquí se presenta la valoración de la penetración espermática).

Continuación tabla 8

MICROORGANISMOS	PENETRACION ESPERMATICA			
	MALA GRUPO 4	%	BUENA GRUPO 3	%
<i>Escherichia coli</i>	20	19.60	19	18.62
<i>Gardnerella vaginalis</i> *	13	12.74	4	3.92
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	6.86	4	3.92
<i>Streptococcus B hemolítico</i>	3	2.94	1	0.98
<i>Klebsiella ozaenae</i>	1	0.98	1	0.98
<i>Klebsiella oxitoca</i>	1	0.98	2	1.96
<i>Proteus mirabilis</i>	3	2.94	2	1.96
<i>Proteus vulgaris</i>	1	0.98	0	0
<i>Morganella morganii</i>	0	0	1	0.98
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	0	0	1	0.98
<i>Enterobacter aglomerans</i>	1	0.98	0	0
<i>Citrobacter freundii</i>	0	0	1	0.98
<i>Candida albicans</i> *	13	12.74	2	1.96
<i>Trichomona vaginalis</i>	1	0.98	0	0
TOTAL	64	62.72	38	37.24

\* Existen diferencias considerables en cuanto a la frecuencia en mala y buena penetración.

TABLA 9. Evaluación de la calidad del moco cervical de las muestras del Grupo 3 y Grupo 4.

Se llevó a cabo la evaluación de la calidad del moco cervical tanto del grupo 3 como del grupo 4, con el fin de observar las diferencias entre estos, obteniendo que el Grupo 3 hubo 23 muestras (79.31%) con buena calidad de moco y 6 (20.68%) con mala calidad de moco. En cuanto al Grupo 4 se obtuvo 19 muestras (37.25%) con buena calidad del moco y 32 (62.71%) con mala calidad del moco. Como se puede ver el Grupo 3 presentó en las muestras una mejor calidad en el moco cervical.

GRUPOS	CALIDAD DEL MOCO CERVICAL					
	BUENA	%	MALA	%	TOTAL	%
GRUPO 3	23	79.31	6	20.68	29	100
GRUPO 4 *	19	37.25	32	62.71	51	100

\* GRUPO 4 Fué el seleccionado para comprobar la hipótesis.

**TABLA 10.** Presencia y /o ausencia de flora patógena antes y después del tratamiento en 28 pacientes.

Se considero únicamente el GRUPO 4 (Flora patógena –mala penetración).En total fueron 51 pacientes en este grupo, a cada una de ellas y a su pareja se indicó bajo prescripción médica, el tratamiento a seguir. Una vez concluido su tratamiento , únicamente 28 pacientes acudieron para ser muestreadas nuevamente para llevar a cabo la comparación de los resultados antes y después del tratamiento.

Se determinó la ausencia y presencia de flora patógena antes y después del tratamiento. Antes del tratamiento 28 casos (100%) presentaron microorganismos patógenos y mala penetración ,después del tratamiento 14 muestras (50%) continuaron con microorganismo patógeno y mala penetración, 4 casos (14.29%) con microorganismo patógeno y buena penetración , 7 muestras (25%) sin patógeno y mala penetración,3 muestras (10.71%) sin patógeno y buena penetración.

	ANTES DEL TRATAMIENTO (1)		DESPUES DEL TRATAMIENTO (2)				TOTAL
	MALA	%	MALA	%	BUENA	%	
<b>CON PATOGENO</b>	28	100	14	50	4	14.29	18(64.29%)
<b>SIN PATOGENO</b>	0	0	7	25	3	10.71	10(35.71%)

(1) Resultados antes del tratamiento.

(2) Resultados después del tratamiento.

**TABLA 11. Valoración de la prueba postcoital antes y después del tratamiento en 28 pacientes.**

En esta tabla se consideró únicamente el GRUPO 4 flora patógena-mala penetración y las 28 pacientes que nuevamente acudieron para toma de muestra después de su tratamiento.

Antes del tratamiento 28 casos(100%) presentaron flora patógena y mala penetración, después del tratamiento 21 casos (75%) continuaron con mala penetración, y 7 casos (25%) con buena penetración. Estos resultados son considerando la penetración espermática antes y después del tratamiento

<b>PENETRACION</b>	<b>ANTES DEL TRATAMIENTO (1)</b>		<b>DESPUES DEL TRATAMIENTO (2)</b>	
	<b>FRECUENCIA</b>	<b>%</b>	<b>FRECUENCIA</b>	<b>%</b>
<b>MALA</b>	28	<b>100</b>	21	<b>75</b>
<b>BUENA</b>	0	<b>0</b>	7	<b>25</b>
<b>TOTAL</b>	28	<b>100</b>	28	<b>100</b>

(1) Resultados antes del tratamiento en 28 pacientes.

(2) Resultados después del tratamiento en 28 pacientes.

## I X. ANALISIS ESTADISTICO <sup>(7)</sup>

Debido a las características del estudio, se llevó a cabo la prueba de  $\chi^2$  (ji-cuadrada)

**TABLA 10.** Presencia y/o ausencia de flora patógena antes y después de un tratamiento en 28 pacientes.

AD.T \ AP	AP		CP		SP		$\Sigma$
AT	OB 28	ES 23	OB 0	ES 5			28
DT	OB 18	ES 23	OB 10	ES 5			28
$\Sigma$	46		10				56

AP = Ausencia y presencia de m.o. patógeno.

AD.T = Administración del tratamiento

AT = Antes del tratamiento.

DT = Después del tratamiento.

CP = Con patógeno

SP = Sin patógeno

Para determinar las frecuencias esperadas se sustituyen los valores en la fórmula 1 :

**Frecuencias esperadas = (Total marginal de celda) (Total marginal de celda)/Total**

$$e = 28 \times 46/56 = 23$$

$$e = 28 \times 46/56 = 23$$

$$e = 28 \times 10/56 = 5$$

$$e = 28 \times 10/56 = 5$$

**HIPOTESIS PLANTEADAS:**

**H<sub>0</sub>:** La presencia o ausencia de microorganismo patógeno, es independiente a la administración del tratamiento.

**H<sub>1</sub>:** La presencia o ausencia de microorganismo patógeno es dependiente de la administración del tratamiento.

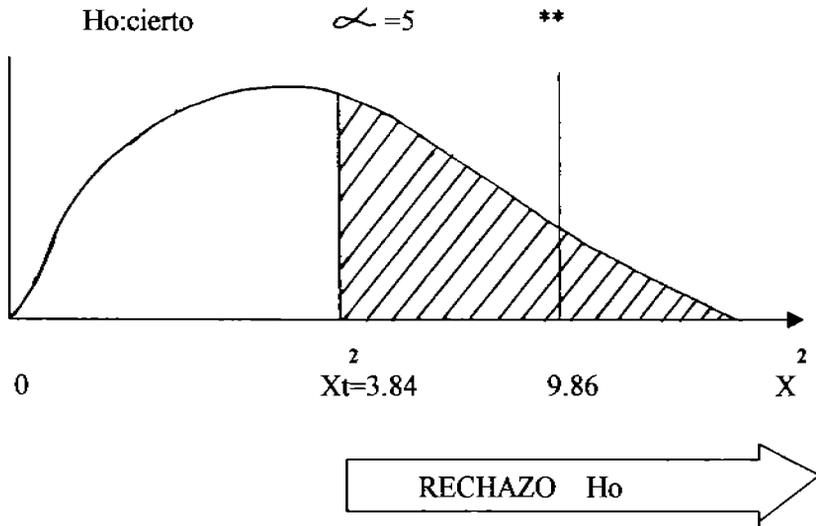
Utilizando la formula 2 :

$$\chi^2 = \frac{\sum (O_{ij} - e_{ij})^2}{e_{ij}} =$$

donde =  $O_{ij}$  = Frecuencias observadas

$e_{ij}$  = Frecuencias esperadas

$$\chi^2 = \frac{(12-23)^2}{23} + \frac{(10-5)^2}{5} + \frac{(18-23)^2}{23} + \frac{(10-5)^2}{5}$$
$$= 0.880 + 4.05 + 0.880 + 4.05 = 9.86^{**}$$



El valor obtenido cae en la zona de rechazo para la hipótesis  $H_0$ :

**POR LO TANTO ACEPTO LA HIPOTESIS  $H_i$ , ES DECIR, LA PRESENCIA O AUSENCIA DE MICROORGANISMO PATOGENO, ES DEPENDIENTE DE LA ADMINISTRACION DEL TRATAMIENTO.**

TABLA 11. Valoración de la prueba postcoital antes y después de un tratamiento en 28 pacientes.

PE \ AD.T	MALA		BUENA		$\Sigma$
AT	OB 28	ES 24.5	OB 0	ES 3.5	28
DT	OB 21	ES 24.5	OB 7	ES 3.5	28
$\Sigma$	49		7		56

PE= Penetración espermática

AD.T= Administración del tratamiento

AT= Antes del tratamiento.

DT= Después del tratamiento.

OB= Frecuencia observada

ES= Frecuencia esperada

Utilizando la formula 1 :

$$e = 28 \times 49 / 56 = 24.5$$

$$e = 28 \times 7 / 56 = 3.5$$

$$e = 28 \times 49 / 56 = 24.5$$

$$e = 28 \times 7 / 56 = 3.5$$

### HIPOTESIS PLANTEADAS:

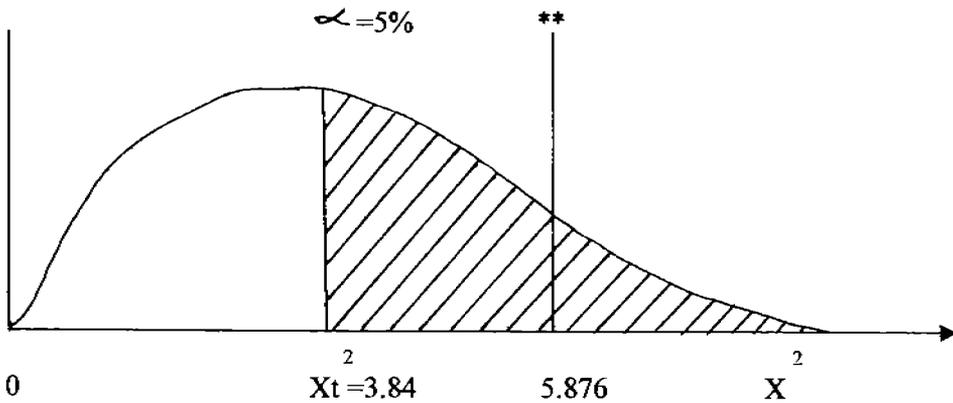
**H<sub>0</sub>:** La penetración espermática no mejora con la administración del tratamiento.

**H<sub>1</sub>:** La penetración espermática mejora con la administración del tratamiento.

Utilizando la formula 2 :

$$\begin{aligned}
 X_c &= \frac{(128-24.5)^2}{24.5} + \frac{(10-3.5)^2}{3.5} + \frac{(121-24.5)^2}{24.5} + \\
 &\quad \frac{(7-3.5)^2}{3.5} = \\
 &= 0.367 + 2.571 + 0.367 + 2.571 = 5.876^*
 \end{aligned}$$

Ho:cierto



RECHAZO Ho

El valor obtenido cae en la zona de rechazo para la hipótesis  $H_0$ :

**POR LO TANTO ACEPTO LA HIPOTESIS  $H_1$ , ES DECIR, LA PENETRACION ESPERMATICA MEJORA CON LA ADMINISTRACION DEL TRATAMIENTO.**

## X. DISCUSION

La población estudiada fue de 121 casos, de los cuales 75 (62%) presentó esterilidad primaria, 37 (30.6%) esterilidad secundaria y en 9 (7.4%) la esterilidad debido a otras causas, estos resultados tienen una similitud a los reportados por Thonneau y col. (36) en el año de 1993, donde el 67% de los casos presentaron esterilidad primaria y el resto de los casos esterilidad secundaria.

La mayor parte de las pacientes estudiadas se encontraban en edad fértil, de acuerdo a los estudios de Botella (4) y Pérez (30), indican que la fertilidad declina gradualmente a partir de los 30 años y es más acentuada alrededor de los 35 años. Y posteriormente a los 40 años la fertilidad es mínima, en el estudio realizado sólo hubo 2 casos (0.7%) en esta edad, puesto que los centros especializados en el manejo de parejas estériles, no las aceptan después de esta edad. (4,30)

Diversos autores mencionan que uno de los factores que más afectan de manera negativa la actividad espermática y las características del moco cervical son las infecciones producidas por microorganismos patógenos. (1,20,23,38,39,40) Los resultados en este estudio presentan esta tendencia; de las 121 muestras, 58 (47.93%) presentaron un sólo microorganismo patógeno, 22 (18.18%) con más de un microorganismo patógeno, es decir, 80 muestras (66.1%) presentaron microorganismo patógeno y sólo 41 muestras (33.9%) sin microorganismo patógeno.

De las muestras con microorganismo patógeno, hubo algunas con más de uno por ello, el total fué de 102 microorganismos patógenos. Se aisló *Escherichia coli* en 39 muestras (38.23%) (18,19,29,35), *Gardnerella vaginalis* en 17 (16.66%) (19,30), *Candida albicans* en 15 (14.70%) (19), *Staphylococcus aureus* en 11 (10.78%), *Streptococcus beta hemolitico* en 4 (3.92%) (29), *Proteus mirabilis* en 5 (4.90%) (19,30), *Klebsiella ozanae* en 2 (1.96%). En menos casos *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* (18,29), *Enterobacter agglomerans*, *Citrobacter freundii*, *Morganella morgani* y *Trichomona vaginalis* (19,30) fueron aislados en 1 muestra (0.98%) para cada uno de ellos. La mayor parte de los microorganismos aislados en el estudio han sido reportados por diversos investigadores como microorganismos patógenos.

*Candida albicans*, *Neisseria gonorrhoea*, *Gardnerella vaginalis*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Clostridium welchi* han sido implicados en infertilidad por alterar la actividad del espermatozoide en el moco cervical, según lo reportado por Leng Tang y col.(20)

De acuerdo a lo reportado por wolff y colaboradores (39) hay bacterias que tienen la habilidad de interactuar con el espermatozoide humano por inducir aglutinación como *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*. También *Escherichia coli* causan daño directo por adherencia al espermatozoide, de acuerdo a lo reportado por Zarate y col.(40)

Se realizó la valoración de penetración espermática en estas muestras con microorganismo patógeno, observando en mayor frecuencia mala penetración espermática en 64 casos (62.72%) y con menor frecuencia buena penetración espermática en 38 casos (37.24%).

Los resultados se deben a que los microorganismos patógenos provocan problemas infecciosos disminuyendo la capacidad de penetración de los espermatozoides (33) impidiendo la migración espermática (38), además el moco pierde su característica de spinnbarkeit cuando existe infección o presencia de este tipo de microorganismos. (20)

*Escherichia coli* fué el microorganismo patógeno aislado con mayor frecuencia, este atrae nuestro interés, pues su frecuencia fue casi igual 19 muestras (18.62 %) en el caso de buena penetración y 20 (19.60%) mala penetración espermática, aparentemente no existe diferencia en cuanto a la penetración espermática y la presencia de este microorganismo, por lo cual puede ser tema para un estudio posterior.

Larsen, Mandell, Paavonen indican que microorganismos como *Staphylococcus epidermidis* se presentan en un 50% de las mujeres, *Lactobacillus sp*, *Streptococcus alfa hemolítico* y *Candida spp*. son considerados como flora normal (18,22,29), lo cual coincide con este estudio , pues los microorganismos aislados fueron *Lactobacillus spp*. en 43 muestras (27.92 %), *Staphylococcus epidermidis* en 80 muestras (51.94 %), *Streptococcus alfa hemolítico* en 18 muestras (11.7%) y *Candida spp*. en 13 muestras (8.44%).

Los *Lactobacillus* son una importante defensa microbiana contra la colonización de microorganismos patógenos, de acuerdo a lo indicado por Hillier y Mandell (12,22), estos microorganismos se aislaron con poca frecuencia en las muestras de la población estudiada, esto puede explicar la alta incidencia de infección provocada por microorganismos patógenos.

Por lo general la evaluación de la prueba postcoital en parejas con diagnóstico de esterilidad es poco satisfactoria, esto lo demuestran los resultados obtenidos en el estudio, de las 121 muestras, 80(66.1%) de estas presentaron mala penetración y sólo 41 muestras (33.9%) buena penetración, esto puede deberse a la presencia de microorganismos patógenos según lo indicado por Andolz (1) Leng Tang (20), Manual de la O.M.S. (23), Verduzco (38), ya que estos pueden alterar la actividad del espermatozoide en el moco cervical (20), impidiendo la migración espermática (38), pueden interactuar con el esperma humano induciendo aglutinación (39), además el moco al infectarse puede perder su característica de spinnbarkeit o filancia (20). La migración espermática no sólo se puede ver afectada por infecciones, sino puede estar impedida por otros factores como inmunológicos, anomalías anatómicas, moco anormal, calidad del semen, hipoplasia del cérvix, aporte hormonal, técnica coital o bien por la combinación de estos factores. (25,38)

De acuerdo al tipo de patógeno la población estudiada de 121 muestras, se dividieron en 4 grupos para lograr un mejor estudio de estas, en el grupo 1 están las muestras con flora normal y buena penetración con 12 muestras (9.9%), grupo 2 las muestras con flora normal y mala penetración con 29 muestras (24%), grupo 3 flora patógena y buena penetración en 29 muestras (24%) y el grupo 4 flora patógena y mala penetración con 51 muestras (42.1%), este último fue el grupo que tenía más importancia para este estudio pues al presentar flora patógena y mala penetración fue el seleccionado para administrar el tratamiento antimicrobiano y observar como se veía afectada la penetración espermática de acuerdo a lo mencionado por Howard y col. (13)

En el grupo 1, a pesar de presentar buenos resultados, tanto en la penetración espermática como en el cultivo bacteriológico las pacientes presentaban problemas de esterilidad, probablemente a causas no concernientes a este estudio. En el grupo 2 se aisló microorganismos de flora normal y sin embargo existía mala penetración espermática, esto puede deberse a diversos factores como inmunológicos técnica coital inadecuada, cantidad y calidad del moco cervical, alteraciones en el semen, aporte hormonal o incluso a microorganismos no cultivados en este estudio por falta de recursos en el laboratorio como *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, los cuales influyen de manera importante en la infertilidad (37). Se realizó comparaciones entre la calidad del moco cervical así como también de los microorganismos aislados en el grupo 3 y el grupo 4.

En cuanto a la calidad del moco cervical el grupo 3 presentó 23 muestras (79.31 %) con buena calidad y 6 (20.68 %) con mala calidad en el moco cervical ; en el grupo 4 hubo 19 muestras (37.25 %) con buena calidad y 32 (62.71 %) con mala calidad en el moco cervical. Es decir el grupo 3 presentó una mejor calidad en el moco cervical, a pesar de la presencia de microorganismos patógenos.

Al realizar comparación de los microorganismos patógenos aislados entre el grupo 3 y 4, se observó que en el grupo 4 se aisló en mayor frecuencia algunos microorganismos patógenos como *Gardnerella vaginalis*, y *Candida albicans*, los cuales se encontraron en menor porcentaje en el grupo 3 , por lo tanto la presencia de estos microorganismos patógenos en particular podrían estar alterando en gran medida tanto la calidad del moco cervical así como contribuir en una manera negativa a la penetración espermática , aún más que los demás microorganismos patógenos aislados.

Los resultados de mayor interes para este estudio se encuentran en las tablas 10 y 11. En la tabla 10 se presentan los resultados de ausencia y/o presencia de flora patógena , en la tabla 11 se muestra la valoración de la prueba postcoital (ambas antes y después del tratamiento) . En estas tablas se puede observar la existencia de casos en los cuales se logró erradicar el microorganismo patógeno y la penetración espermática mejoró, probablemente por la administración adecuada del medicamento.

En otros casos no se erradicó el microorganismo patógeno, no mejorando la penetración espermática, esto puede deberse a diversos factores que no podemos controlar como hábitos de higiene, resistencia del microorganismo patógeno al medicamento, promiscuidad, tratamiento mal llevado, desacuerdo de la pareja en tomar el medicamento o por no concluirlo.

De acuerdo a lo mencionado por Howard (13) al realizar una prueba postcoital (prueba de Hühner) se puede encontrar frecuentemente un moco cervical hostil que suele estar infectado, y en ocasiones, una vaginitis específica puede contaminar en forma secundaria al moco cervical, así que vale la pena cultivar el moco en estos casos. Cuando el moco es de mala calidad, pueden encontrarse leucocitos, bacterias y espermatozoides inmovilizados en dos pruebas distintas, por lo tanto es necesario administrar un antibiótico de amplio espectro. Esto asegura un efecto bactericida máximo. Posteriormente se repite la prueba postcoital y se registran los cambios en cuanto a la presencia de bacterias, leucocitos y motilidad espermática. Cuando el moco infectado fue la causa de esterilidad puede haber embarazo en un periodo de 4 a 6 meses si el moco cervical mejora en su calidad.

De acuerdo a lo anterior se llevó a cabo un análisis estadístico de  $X^2$  (ji-cuadrada) para los resultados obtenidos antes y después del tratamiento en la tabla 10, mostrando resultados muy significativos, pues la presencia o ausencia

de microorganismos patógenos depende del tratamiento; es decir, **el tratamiento es efectivo para combatir los microorganismos patógenos.**

También se realizó el análisis estadístico  $X^2$  (ji- cuadrada) para los resultados antes y después del tratamiento en la tabla 11, encontrándose un resultado significativo, **demostrando que la penetración espermática mejoró con la administración del tratamiento antimicrobiano prescrito a las pacientes, presentando un resultado favorable para la penetración espermática. Por lo tanto el tratamiento antimicrobiano es efectivo para combatir los microorganismos patógenos, además de favorecer la penetración espermática.**

Los resultados obtenidos en las tablas 10 y 11 al realizar el análisis estadístico  $X^2$  (ji-cuadrada) fueron significativos y coinciden en gran medida a lo indicado por Howard y col.(13)

## XI. CONCLUSIONES

- Las parejas con problemas de esterilidad presentaron alterada la valoración de la prueba postcoital ,probablemente como una causa de la presencia de microorganismos patógenos en el moco cervical. Cabe señalar que existen otros factores que pueden alterar la prueba postcoital.(25,38)
- En el moco cervical de las pacientes con problemas de esterilidad estudiadas, se aislaron microorganismos patógenos como *Escherichia coli* en 39 muestras ( 38.23%) , *Gardnerella vaginalis* en 17 (16.66 %), *Candida albicans* en 15 ( 14.70%)        *Staphylococcus aureus* en 11 (10.78%) . Los microorganismos patógenos aislados en menor frecuencia *Proteus mirabilis* en 5 (4.90 %), *Streptococcus B hemolítico* en 4 (3.92%) *Klebsiella oxitoca* en 3 (2.94%), *Klebsiella ozaenae* en 2 (1.96 %),*Proteus vulgaris*,        *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeuroginosa*, *Enterobacter aglomerans*,*Citrobacter freundii* y *Trichomona vaginalis* 1 muestra (0.98 %) para cada microorganismo.
- Cabe señalar que microorganismos como *Gardnerella vaginalis*, y *Candida albicans* pueden estar afectando de alguna manera la penetración espermática, aún más que los    otros microorganismos patógenos aislados en el estudio.

- Se realizó una comparación de los resultados obtenidos antes y después del tratamiento por medio de análisis estadístico de  $X^2$  (ji- cuadrada), obteniendo que la penetración espermática mejoró con la administración de tratamiento antimicrobiano y este es efectivo para combatir los microorganismos patógenos.

## XII. COMENTARIOS Y SUGERENCIAS

Cabe mencionar existen variables que no se controlaron en este caso, debido a no poder vigilar u obligar a las pacientes y a su pareja a seguir las indicaciones de la administración del tratamiento específico, o acudan a su cita nuevamente; esto afectó al estudio o a cualquier estudio experimental que se requiera la colaboración de pacientes, pues se redujo la cantidad de éstos, pues se esperaba contar con más muestras para realizar la comparación antes y después del tratamiento. A las pacientes se les indicó regresar a programar cita después de su tratamiento e incluso se les buscó telefónicamente, pero no acudieron a la cita, esto principalmente a la pérdida de interés de ellas pues son sometidas a muchos estudios con el fin de determinar la causa de su esterilidad y poderla corregir.

Este estudio da pie a realizar otra investigación y así contribuir a aumentar conocimientos a lo que se ha comprobado, además de la ayuda brindada a las pacientes, principalmente del grupo 4, pues presentaban infección provocada por microorganismos patógenos y éstas no lo sabían; esto contribuía a que presentaran un resultado desfavorable en la penetración espermática.

En algunos casos se logró erradicar la infección administrando el medicamento prescrito, y con esto se logró tener mejores resultados en la penetración espermática, para tener una probabilidad más amplia de lograr la concepción.

En ésta investigación se estudió como alteraba la presencia de microorganismos patógenos en la penetración espermática antes y después de un tratamiento antimicrobiano, pero existen otras causas que pueden impedir la migración espermática como inmunológicos, obstrucción del canal cervical, por anomalías anatómicas, hipoplasia del cérvix, traumatismos, mal posición cervical, aporte hormonal, moco anormal, técnica coital, calidad del semen, o bien por la combinación de éstos factores. (13,25,38)

Un aspecto importante sería sugerir al personal directivo del hospital de Ginecología No. 3 que se abriera una sección especialmente para el aislamiento y diagnóstico de *Mycoplasma hominis* y de *Ureaplasma urealyticum*, *Chlamydia trachomatis* ya que son microorganismos que pueden estar implicados en pacientes con esterilidad, además es un problema de salud pública que no se le ha dado la importancia que tiene, pues no existe el material, ni las instalaciones adecuadas para su detección dentro del laboratorio clínico de esta institución.

### XIII. BIBLIOGRAFIA

1. Andolz, P. Bielsa, A.M. Semen Humano Manual y Atlas. Grasi, 1995. p.p.128-135.
2. Ashley, R. Anatomía Humana. Uteha, México, 1995. p.p. 261.
3. Beltsos, N.A., Fisher, S. Meike, L.M., Clegg, D.E., Zinaman, M. 1996. The relationship of the postcoital test and semen characteristics to pregnancy rates in 200 presumed fertile couples. Int-J-Fertil-Menopausal-Stud. 41(4):405-411.
4. Botella, L.J., Clavero, N.J. Tratado de Ginecología. Díaz de Santos, Madrid, 1993. p.p. 987-994.
5. Consejo Nacional para la enseñanza de la biología, A.C. Biología Interacción de experimentos e ideas. Limusa., México, 1976. p.p. 36-43.
6. Cowan, S.T. Manual for the identification of medical bacteria. University Printing House, Great Britain, 1975. p.p. 91-120.
7. Daniel, W.W. Bioestadística base para el análisis de las ciencias de la salud. Limusa, México, 1983. p.p 325-355.
8. Gardner, Gray, O'Rahilly. Anatomía de Gardner. Interamericana Mc Graw Hill, México, 1986. p.p. 563-564.

9. Glatstein, Z.I., Best, L.C., Palumbo, A., Sleeper, A.L., Friedman, J.A. y Hornstein, D.M. 1995. The reproducibility of the postcoital test: a prospective study. Obstetrics and Gynecology. 85 (3): 396-399.
10. Guid Oei, S., Kitty, W.M., Gloemenkamp, Helmerhorst, F.M., Naaktgeboren, N. y Marc, J.N.O. 1996. Evaluation of the postcoital test for assessment of cervical factor infertility. European Journal of obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. 64(2): 217-20.
11. Gunnar, F.J. 1996. A morphologist's approach to the vagina. Acta obstetricia et gynecologica scandinavica. 75 (supl 163): 3-10
12. Hillier, L.S., Krohn A.M., Klebanoff, J.S. Y eschenbach, A.D. 1992. The relationship of hydrogen peroxide producing lactobacilli to bacterial vaginosis and genital microflora in pregnant women. Obstetrics and Gynecology. 83 (2): 369-372
13. Howard, W. y Jones III. Tratado de Ginecología de Novak. Interamericana Mc Graw Hill, México, 1991. p.p. 231,232,243-249.
14. Italo, T.R. Esterilidad e infertilidad humanas. Médica panamericana, Argentina, 1989. p.p. 112-118, 410.
15. Katz, D.F., Slade, D.A., Y Nakajima, S.T. 1997. Analysis of pre-ovulatory changes in cervical mucus hydration and sperm penetrability. Adv-Contracept. 13 (2-3): 143-151.

16. Koneman, V.E., Stephen, A.D., Diagnóstico microbiológico texto y atlas a color. Medica Panamericana, México, 1991. p.p. 380-402.
17. Kruse, W.E., Kohler, A., Rohr, G. Y Runnebaum, B. 1993. The pH as an important of sperm-mucus interaction fertility and sterility. 59 (3): 617-327
18. Larsen, B. Y Galask, P.R. 1982. Vaginal Microbial Flora: Composition and Influences of host Physiology. Annals of Internal Medicine. 96 (suppl 6): 926-930.
19. Ledger, J.W. Infecciones en obstetricia y ginecología. Medica panamericana, Argentina, 1982. p.p. 38-50, 82-92.
20. Leng Tan, S., Scammell, G. y Howang, E. 1987. The midcycle microbial flora as studied by the weighed sawb method, and its possible correlation with results of sperm cervical mucus penetration tests. Fertility and Sterility. 47: 941-946.
21. Mac Faddin, J.F., Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Medica Panamericana, México, 1990. p.p. 234-236.
22. Mandell, Bennett, Douglas. Enfermedades infecciosas principios y práctica. Médica Panamericana. 1997 p.p. 1197-1209.
23. 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. Panamericana, Argentina, 1994. p.p. 24-32.
24. Manual de medios de cultivo. Merk, 1990.

25. Marshburn, B.P. y Kuttch, H.W. 1994. The role of antisperm antibodies in infertility. Fertility and sterility. 61 (5): 799-808.
26. Moore, L.K. Anatomía con orientación clínica. Médica panamericana, España, 1996. p.p. 297-299.
27. Morales, P., Roco, M. y Vigil, P. 1993. Human Cervical mucus: relationship between biochemical characteristics and ability to alloww migration of spermatozoa.. Human Reproduction. 8 (1): 78-83.
28. Murillo, V.A., Carranza, L.S., Matienzo, F., Montiero,J.,Rodríguez, L.M., Murrieta, S., Merino,G.y Morán, C. 1995. Evaluación del factor cervical en la mujer con inducción de la ovulación. Ginecología y obstetricia de México. 63: 115-118.
29. Paavonen,J. 1983. Physiology and Ecology of the vagina. Scand J Infect. Dis. Suppl 40: 31-35.
30. Pérez, P.E. Infertilidad, esterilidad y endocrinología de la reproducción un enfoque integral. Salvat, México, 1995. p.p. 1-6.
31. Pritchard, A.J. Williams Obstetricia. Salvat, México, 1992. p.p. 11-13.
32. Rosas, J.,Toca, P.L., Díaz, C., Nava, F.N., 1993. Infección por *chlamydia trachomatis* en cervix uterino. Ginecología y obstetricia de México. 61: 326-328.

33. Samberg, Y., Martin-Dui-Pan, R. y Bourrit, B. 1985. The Value of the postcoital test according to etiology and outcome on infertility. Acta Europea Fertilitatis. 16 (2): 147-149.
34. Sharara, I.F., Beatse, N.S., Bailey, A.S., Neal, S.G., Coddington, C.C y Scott, T.R. Jr. 1994. Characterization of Tru-Trax in - vitro penetration testing of cervical mucus. Human reproduction. 9 (11): 2027-2031.
35. Sweet, L.R., Roy, S., O'Brien, F.W., San Filippo, S.J. y Seidlin, M. 1994. Piperacillin and Tazobactam Versus Clindamycin and Gentamicin in the tretment of hospitalized women with pelvic infection. Obstetrics and Gynecology. 83 (2): 280-285.
36. Thonneau, P., Dycot, B. y Spira, A. 1993. Risk factors in men and women consulting for infertility. Int- J- Fertl-Menopausal-Stud. 38 (1): 37-43.
37. Toca, P.L., Rosas, A.J. y Nava, F.J. Infecciones por *chlamydia trachomatis* y por mycoplasmas en esterilidad. Medicina en Ginecología, Obstetricia y Perinatología. Hospital de Gineco-Obstetricia CM "La Raza".p.p. 70-73
38. Verduzco, P.G. Esterilidad Conyugal. Limusa, México, 1987. p.p. 60-69
39. Wolff, H., Panhans, A. y Stolz, W. 1993. Adherence of Escherichia Coli to sperm: a mannose mediated phenomenon leading to agglutination of sperm and E. Coli. Fertility and Sterility. 60 (1): 154-158
40. Zarate, Canales, Mc Gregor. Esterilidad e Infertilidad. La prensa Médica Mexicana, México, 1986. p.p. 77-79; 102-105.

## ANEXOS

### A ) MEDIOS DE CULTIVO (16,24)

#### Agar Mac Conkey

Composición:

Peptona de caseína	17.0 g
Peptona de carne	3.0 g
Cloruro sódico	5.0 g
L a c t o s a	10.0 g
Mezcla de sales biliares	1.5 g
Rojo neutro	0.03 g
Violeta cristal	0.001 g
Agar-agar	13.5 g

pH : 7.1 - + 0.1

#### Preparación :

Disolver 50 g en un litro de agua destilada, esterilizar en autoclave (15 min. a 121°C) y verter en placas.

#### Forma de actuación:

Las sales biliares y el violeta cristal inhiben considerablemente la flora gram positiva. La lactosa es el único hidrato de carbono. Las bacterias fermentadoras de Lactosa forman colonias de diferentes tonos de rojo, debido al viraje del indicador rojo neutro ( rojo a pH menor de 6.8 ) por la producción de ácidos mixtos.(16)

#### Interpretación :

Las colonias lactosa negativas son incoloras y las lactosa positivas son rojas con un halo turbio, debido al descenso de pH provocado por los ácidos biliares.

## Agar-Manitol-Sal

### Composición:

Peptona	10.0 g
Extracto de carne	1.0 g
Cloruro sódico	75.0 g
D(-)- manitol	10.0 g
Rojo de fenol	0.025 g
Agar-Agar	12.0 g

pH : 7.4 - + 0.1

### Preparación :

Disolver 108 g en un litro de agua destilada, esterilizar en autoclave (15 min. a 121°C) y verter en placas.

### Forma de actuación:

Debido a la concentración tan alta de sal (7.5%), permite sólo el crecimiento de microorganismos tolerantes a ella, como el género *Staphylococcus*. La degradación del manitol con formación de ácido, es indicativo de la presencia de *Staphylococcus aureus*.

## Agar Biggy

### Composición :

Citrato de amonio y Bismuto	5.0 g
Sulfito de sodio	3.0 g
Dextrosa	10.0 g
Glicina	10.0 g
Extracto de levadura	1.0 g
Agar (desechado)	10.0 g

pH final 6.8 - + 0.2

### Preparación :

Suspender 45 g en un litro de agua destilada, calentar agitando frecuentemente y hervir durante no más de un minuto. Dejar enfriar a 45 – 50 C. Agitar circularmente para dispersar el material insoluble y verter en placas usando 20 ml. No esterilizar en autoclave.

## **Agar Sangre**

### **Composición:**

Sustrato nutritivo (extracto de corazón y peptonas)	20.0 g
Cloruro sódico	5.0 g
Agar-agar	15.0 g
Aditivo :	sangre 50-80 ml

pH : 6.8 - + 0.2

### **Preparación :**

Disolver 40 g en un litro de agua destilada, esterilizar en autoclave (15 min. a 121°C), dejar enfriar a 45-50°C, incorporar 5 a 8% de sangre desfibrinada y verter en placas.

### **Forma de actuación:**

Su abundante base nutritiva ofrece condiciones óptimas de crecimiento a todos los microorganismos presentes. El valor del pH de 6.8 es favorable para la conservación de los eritrocitos y para la formación de halos hemolíticos claros.

## Agar Chocolate

### Composición:

Sustrato nutritivo (extracto de corazón y peptonas)	20.0 g
Cloruro sódico	5.0 g
Agar-agar	15.0 g
Aditivo :	sangre 50-80 ml

pH: 6.8 - + 0.2

### Preparación :

Disolver 40 g en un litro de agua destilada, esterilizar en autoclave (15 min. a 121°C), dejar enfriar a 45-50°C, incorporar 5 a 8% de sangre desfibrinada, agitar frecuentemente. Se mantiene el medio de cultivo aproximadamente a 80°C durante unos 10 minutos, hasta que adquiera un color pardo “achocolatado”.

### Empleo e interpretación:

Es un medio nutritivo excelente.

Sembrar las placas en superficie.

Incubación: Bajo condiciones óptimas casi siempre de 24 a 48 horas a 37°C.

Estudio y determinación de las formas de hemólisis.

## **Agar Mueller – Hinton (Antibiograma).**

### **Composición:**

Infusión de carne	2.0 g.
Hidrolizado de caseína	17.5 g.
Almidón	1.5 g.
Agar-agar	13.0 g.

pH 7.4 + - 0.2

### **Preparación:**

Disolver 34 g. en un litro, esterilizar con cuidado en autoclave 10 minutos a 115°C, verter en placas. Las placas con medio de cultivo son claras y de color amarillento.

### **Forma de actuación:**

La composición de éstos medios de cultivo garantiza condiciones favorables de crecimiento y por otra parte, cuenta con la ausencia, muy considerable, de antagonistas de las sulfamidas.

### **Empleo e interpretación:**

Se utiliza para la realización del ensayo de difusión en placas, se lleva a cabo de la manera prescrita para este fin. (24)

### **Caldo Infusión cerebro corazón (BHI)**

#### **Composición :**

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

pH final 7.4 + - 0.2

#### **Preparación :**

Disolver 37 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada y calentar, esterilizar en autoclave durante 15 min. a 121 ° C.

#### **Forma de actuación :**

Este medio se basa en el principio del caldo ROSENOW preparado con trozos de cerebro y son adecuados para el cultivo de muchas bacterias exigentes, como estreptococos, pneumococos, meningococos y otros.

El caldo de cerebro-corazón es especialmente adecuado para el cultivo de Estafilococos destinados al ensayo de coagulasa y para la realización de hemocultivos.

## **Agar Thayer Martin**

Se utiliza la base de agar GC :

Mezcla de peptonas	15 g
Almidón de maíz	1 g
Fosfato dipotásico	4 g
Fosfato monopotásico	1 g
Cloruro de sodio	10 g
Agar	10 g
Agua destilada	1000 ml

pH final 7.2 - + 0.2

### **Preparación :**

Suspender 36 g 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 y meter a baño maría a 65-80 ° C por 10 min.

La sangre adquiere un color achocolatado ya que se destruyen las sustancias inhibidoras propias . Agregar 10 ml de inhibidor VCN ( Vancomicina 0.0033 g/L de medio, Colistin 0.0074 g/L de medio y Nistacina 12,500 U/L de medio). Agregar 10 ml de polienriquecido (Bioxon 304). Mezclar y vaciar en las cajas petri.

## B ) PRUEBAS BIOQUIMICAS (16,24)

### Caldo Malonato

#### Composición:

Extracto de levadura	1.0 g
Sulfato de amonio	2.0 g
Hidrogenofosfato dipotásico	0.6 g
Dihidrogenofosfato potásico	0.4 g
Cloruro de sodio	2.0 g
Malonato de sodio	3.0 g
Azul de bromotimol	0.025 g

pH : 6.6 - + 0.1

#### Preparación :

Disolver 10 g en un litro de agua, distribuir en tubos llenándolos unos 5 cm de altura y esterilizarlos en autoclave (10 min. a 115°C).

#### Principio :

La degradación del malonato como única fuente de carbono, da lugar a una alcalinización del medio, que se manifiesta por un viraje de verde a azul del indicador azul de bromotimol.

### Empleo e interpretación:

Los tubos se siembran masivamente con un cultivo puro del germen problema.

Prueba positiva : el medio de cultivo se torna azul.

Prueba negativa : el medio de cultivo permanece verde.

### Citrato de Simmons

#### Composición:

Fosfato diácido de amonio	1.00 g
Fosfato dipotásico	1.00 g
Cloruro de sodio	5.00 g
Citrato de sodio	2.00 g
Sulfato de magnesio	0.20 g
Azul de bromotimol	0.08 g
Agar-agar	13.0 g

pH final : 6.6 - + 0.1

#### Preparación :

Disolver 22.5 g en un litro de agua, esterilizar en autoclave (15 min. a 121°C) y preparar tubos inclinados.

### Principio :

El citrato de sodio es la única fuente de carbono y fosfato de amonio como única fuente de nitrógeno. Las bacterias que utilizan el citrato también pueden extraer nitrógeno de la sal de amonio, con producción de amoniaco ( $\text{NH}_3 +$ ), llevando a la alcalinización del medio por conversión del  $\text{NH}_3 +$  en hidróxido de amonio ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ). El indicador es el azul de bromotimol, que es amarillo a pH menor de 6 y azul a pH mayor de 7.6. (16)

### Empleo e interpretación:

Se siembra por estría en la superficie del medio de cultivo.

Incubar el tubo a 35°C de 24 a 48 horas

Prueba positiva : Colonias de crecimiento tenue, o bien cambio de color verde a azul intenso, ésto revela que el organismo en estudio ha sido capaz de utilizar el citrato, con la formación de productos alcalinos. (16)

Prueba negativa : No presentan crecimiento, ni cambio de color alguno.

### **LIA (Agar Lisina Hierro)**

#### **Composición:**

Peptona de carne	5.0 g
Extracto de levadura	3.0 g
D (+)- glucosa	1.0 g
L-lisina monoclorhidratado	10.0 g
Tiosulfato de sodio	0.04 g
Citrato de amonio e hierro (III)	0.5 g
Púrpura de bromocresol	0.02 g
Agar-agar	12.5 g

pH : 6.7 - + 0.1

#### **Preparación :**

Disolver 32 gr en un litro de agua destilada, distribuir en tubos y esterilizar en autoclave (15 min. a 121°C). Dejar enfriar en posición inclinada (el medio preparado es claro y de color gris violeta).

#### **Principio :**

Los microorganismos que descarboxilan la lisina, la transforman en la amina cadaverina, ésto produce un viraje al violeta del indicador púrpura de bromocresol. La descarboxilación tiene lugar en medio ácido (pH inferior 6.0), por lo cual previamente hay fermentación de la glucosa.

Los microorganismos que no descarboxilan la lisina pero fermentadores de la glucosa, producen un viraje al amarillo en el medio de cultivo.

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

#### Empleo e interpretación:

El medio se estría sobre la superficie inclinada, así como por picadura central.

Viraje al amarillo : El microorganismo fermenta la glucosa, pero no descarboxila la lisina.

Viraje al amarillo y violeta : El microorganismo llevó a cabo la descarboxilación de la lisina.

### **Agar Kligler (Agar-hierro-dos azúcares)**

#### **Composición:**

Extracto de carne	3.0 g
Extracto de levadura	3.0 g
Peptona	15.0 g
Proteasa peptona	5.0 g
Lactosa	10.0 g
Glucosa	1.0 g
Sulfato ferroso	0.2 g
Cloruro de sodio	5.0 g
Tiosulfato de sodio	0.3 g
Rojo fenol	0.024 g
Agar	12.0 g

pH : 7.4

#### **Preparación :**

Disolver 55.5 g en un litro de agua destilada, distribuir en tubos y esterilizar en autoclave (15 min. a 121°C). A continuación dejar solidificar inclinado. El medio preparado es claro y de color rojizo parduzco.

### Principio:

La degradación del azúcar con formación de ácido, se manifiesta por un cambio de color del indicador rojo de Fenol que vira de anaranjado - rojizo a amarillo, o por un viraje a rojo intenso en caso de alcalinización. El tiosulfato es reducido por algunos gérmenes a ácido sulfhídrico, el cual reacciona con la sal férrica produciendo sulfuro de hierro de color negro.

### Empleo e interpretación:

El medio se siembra por estría en la superficie inclinada, así como por estría central (picadura).

Pico alcalino / fondo alcalino	No hay fermentación de azúcares
Pico alcalino / fondo ácido	Glucosa fermentada, lactosa no fermentada
Pico alcalino / fondo ácido (negro)	Glucosa fermentada, lactosa no fermentada, producción de gas H <sub>2</sub> S
Pico ácido/ fondo ácido	Glucosa y lactosa fermentadas

### **SIM (Indol, motilidad, ácido sulfhídrico)**

#### Composición:

Peptona de caseína	20.0 g
Peptona de carne	6.6 g
Citrato de amonio e hierro (III)	0.2 g
Tiosulfato de sodio	0.2 g
Agar-agar	3.0 g

pH : 7.3 - + 0.1

#### Preparación :

Disolver 30 g en un litro de agua destilada, distribuir en tubos (hasta 4 cm de altura) y esterilizar en autoclave (15 min. a 121°C). Dejar solidificar en posición vertical. El medio de cultivo preparado es claro y de color ligeramente amarillo.

#### Principio :

Las bacterias que poseen la enzima triptofanasa son capaces de hidrolizar y desaminar el triptófano, con producción de indol, ácido pirúvico y amoniaco. Al agregar el reactivo de Kovac's, el indol reacciona con el grupo aldehído del p-dimetilaminobenzaldehído formando un complejo de color rojo.

Los medios para detectar movilidad contienen concentraciones de agar de 0.4% o menos. A mayores concentraciones el gel es demasiado firme como para permitir la libre diseminación de los organismos. (16)

### Empleo e interpretación:

El cultivo se siembra por picadura del medio. La motilidad se pone de manifiesto por la turbidez difusa del medio de cultivo alrededor de la picadura, cuando no existe la motilidad hay crecimiento exclusivamente a lo largo de la picadura. La formación de  $H_2S$  se reconoce por el ennegrecimiento de la zona de crecimiento.

Al agregar el reactivo de Kovac's forma un complejo de color rojo en la capa superior del medio.

## MIO (Motilidad, indol, ornitina)

### Composición:

Extracto de levadura	3.0 g.
Peptona de gelatina	10.0 g.
Peptona de caseína	10.0 g.
L - ornitina	5.0 g.
Dextrosa	1.0 g.
Agar	2.0 g.
Purpura de Bromocresol	0.02 g

pH Final      6.5 + - 0.2

### Preparación:

Disolver 31 g. de polvo en un litro de agua destilada. Calentar a ebullición un minuto hasta disolver y colocar en tubos de 13x100, esterilizar en autoclave a 15 libras de presión durante 15 minutos.

### Forma de actuación:

Las descarboxilasas son un grupo de enzimas capaces de actuar sobre la porción carboxilo (COOH) de los aminoácidos, con formación de aminas dando reacción alcalina. Esta reacción, conocida como descarboxilación, produce dióxido de carbono como producto secundario. Cada una de las descarboxilasas es específica para un aminoácido. La ornitina sufre descarboxilización para formar putrescina. (16)

## PRUEBA DE CITOCROMO OXIDASA

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. El sistema citocromo se encuentra en los organismos aerobios o anaerobios facultativos, de modo que la prueba de oxidasa es importante para identificar aquellos organismos que carecen de la enzima o son anaerobios obligados. La prueba es muy útil para detectar colonias sospechosas de ser enterobacterias ( todas negativas) y para la identificación de especies de pseudomonas o Neisseria ( positivas ).

La prueba de citocromo oxidasa utiliza ciertos reactivos, como el diclorhidrato de p-fenilendiamina, que actúan como aceptores artificiales de electrones, sustituyendo al oxígeno. La p-fenilendiamina es incolora en estado reducido, pero en presencia de citocromo oxidasa y oxígeno atmosférico se oxida formando azul de indofenol.

### Técnica:

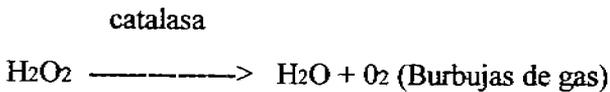
En tiras o discos de papel, en la que se añaden unas gotas de reactivo en una tira de papel de filtro o a tiras o discos comerciales impregnados con reactivos y secos. En la zona de papel donde se halla el reactivo se extiende un asa de la colonia sospechosa.

### Interpretación:

Las colonias bacterianas con actividad de citocromo oxidasa desarrollan en segundos un intenso color azul en el sitio de inoculación. No se deben de emplear alambres de acero inoxidable, dado que los productos de oxidación de la superficie formados al esterilizarlos a la llama, puede producir reacciones falsas positivas.(16)

## PRUEBA CATALASA

El peróxido de hidrógeno como uno de los productos finales del metabolismo oxidativo de los hidratos de carbono. Si se deja acumular, el peróxido de hidrógeno es letal para las bacterias. La catalasa es una enzima que transforma el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, como lo demuestra la siguiente reacción:



Excluyendo los estreptococos, la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas poseen actividad de catalasa.

#### Técnica:

1. Con una aguja de punción o un palillo aplicador transferir del centro de una colonia bien aislada a la superficie de un portaobjetos.
2. Añadir una o dos gotas de peróxido de hidrógeno al 3%. Se recomienda no añadir el organismo al reactivo, especialmente si se utilizan agujas o asas que contienen hierro, ya que se pueden producir resultados falsos positivos.

#### Interpretación:

La rápida aparición y producción sostenida de burbujas de gas o efervescencia indica una reacción positiva.<sup>(16)</sup>

### PRUEBA DE TUBO GERMINAL

1. Una muy pequeña porción de colonia de la levadura en estudio se suspende en un tubo de ensayo que contiene 0.5 ml. de suero humano o de conejo.
2. El tubo se incuba a 37°C durante no más de tres horas.
3. Una gota de la suspensión levadura-suero se pone sobre un portaobjeto, se coloca un cubreobjeto y se examina al microscopio para comprobar la presencia de tubos germinales.

Esta prueba se utiliza para la identificación de *Candida albicans* ya que es la única que forma tubos germinales.

## PRUEBA DE COAGULASA

La coagulasa es una enzima proteica con actividad semejante a la protrombina capaz de transformar el fibrinógeno en fibrina, provocando la formación de un coágulo visible. La prueba se utiliza para diferenciar al *Staphylococcus aureus* ( coagulasa positivo ) de otros estafilococos.

La coagulasa se halla en dos formas; “ libre “ y “ fija “:

a) Coagulasa fija (prueba en portaobjeto): conocida como factor de aglutinación, está unida a la pared celular bacteriana y no está presente en los filtrados de cultivos. Los hilos de fibrina formados entre las bacterias suspendidas en plasma ( fibrinógeno ) provocan su aglutinación, indicada por la presencia de agregados visibles en el portaobjeto.

b) Coagulasa libre ( prueba en tubos): es una sustancia semejante a la trombina, que se halla presente en los filtrados de cultivos. Cuando una suspensión de bacterias productoras de coagulasa se mezcla en partes iguales con una pequeña cantidad de plasma en un tubo de ensayo, se forma un coágulo visible como consecuencia de la utilización de los factores de coagulación del plasma de manera similar a cuando se añade trombina.

Técnica:

Prueba en tubo:

1. Colocar 0.5 ml. de plasma de conejo o de humano en un tubo estéril.
2. Añadir 0.5 ml. de un cultivo puro de 18 a 24 horas en caldo del organismo.

3. Mezclar por rotación suave, sin agitar el contenido.
4. Colocar el tubo en un baño de agua a 37°C., observar la formación de un coagulo visible.

Interpretación:

La reacción se considera positiva ante cualquier grado de coagulación visible, el coagulo o gel permanece en el fondo del tubo.

Las bacterias fuertemente coagulasa positiva pueden producir un coagulo en 4 horas; se recomienda observar a intervalos de 30 minutos durante las primeras cuatro horas de la prueba. Todas las pruebas negativas a las cuatro horas, deben observarse después de 18 a 24 horas de incubación.<sup>(16)</sup>

### C) CARACTERISTICAS DE MICROORGANISMOS. (16,22)

#### ***Staphylococcus sp.***

- Cocos Gram (+)
- Inmoviles
- Se aislan en pares o formando racimos de uvas.
- Aerobios o anaerobios facultativos
- Catalasa (+) fuerte, Oxidasa (+)
- Morfología : colonias grandes, cremosas, con bordes bien definidos, color blanco, amarillo y naranja.
- Medios de cultivo : Agar sal y manitol, agar sangre, agar chocolate, agar 110.
- Staphylococcus aureus* es coagulasa (+)
- Staphylococcus epidermidis* es coagulasa (-)

#### ***Streptococcus sp.***

- Bacterias ovoides y cocales Gram (+)
- Inmoviles
- Se aislan en pares o cadenas
- Aerobios y anaerobios facultativos
- Catalasa (-), Oxidasa (-)
- Morfología : Colonias pequeñas, puntiformes, pueden presentar hemólisis total (beta), parcial (alfa).
- Medios de cultivo : Principalmente agar sangre, agar chocolate.

### ***Gardnerella vaginalis***

- Bastones pequeños,pleomorficos Gram (-)
- Inmovil
- Anaerobios facultativos
- Catalasa (-), Oxidasa (-)
- Morfología : Colonias pequeñas ,puntiformes con pequeña zona de hemólisis beta.
- Algunos medios de cultivo : Agar Cassman, agar sangre, agar sangre, agar chocolate, agar peptona-almidón-dextrosa.

Para su diagnóstico se debe cumplir con 3 de las siguientes características :

- pH de la secreción vaginal mayor a 4.5.
- Presencia de células "clave" o guía en el exámen en fresco o Gram.
- Secreción vaginal grisácea , delgada y homogénea.
- Prueba positiva al KOH al 10 %.

### ***Pseudomona aeruginosa***

- Bacilos Gram (-), rectos o ligeramente curvados.
- Motilidad positiva.
- Aerobio obligado.
- Catalasa(+), Oxidasa (+)
- Medio de cultivo : Agar Mac Conkey.
- Producción de pigmentos: piocianina(azul-verdosa) y fluorescina(amarillo).

### ***Escherichia coli***

- Bacilos o cocobacilos Gram (-).
- Aerobios o anaerobios facultativos.
- Catalasa (+), Oxidasa (-)
- Crecen en Agar Mac Conkey como colonias Lac(+) fuertes.
- Algunos medios de cultivo : Agar Mac Conkey, Agar Eosina Azul de Metileno (EMB).

### ***Klebsiella sp.***

- Bacilos Gram (-)
- Inmovil.
- Aerobios y anaerobios facultativos.
- Catalasa (+), Oxidasa (-)
- Crecen en Agar Mac Conkey como colonias Lac (+) débil.

### ***Lactobacillus sp.***

- Bacilos o cocobacilos Gram (+), delgados, largos o cortos.
- Se aislan en cadenas o solos.
- Inmovil.
- Aerobios o anaerobios facultativos.
- Catalasa (-)
- Son colonias pequeñas con ligera hemólisis beta.
- Algunos medios de cultivo : Agar sangre, Agar chocolate.

D) TABLA DE PRUEBAS BIOQUIMICAS PARA IDENTIFICACION DE BACTERIAS.(6,16,21)

M.O. / B.Q.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>Escherichia coli</i>	-	-	+	-	+	+	+/-	+	d
<i>Klebsiella ozaenae</i>	-	d	d	-	(+)	d	-	-	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	.	+	+	-	+	+	-	+	-
<i>Proteus mirabilis</i>	-	(+)	-	+	-	+	+	-	+
<i>Proteus vulgaris</i>	-	d	-	+	-	+	+	+	-
<i>Morganella morganii</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>Pseudomona aeruginosa</i>		+	-		-	+	+	-	-
<i>Enterobacter spp.</i>		+	D	-		+	+	-	+
<i>Citrobacter freundii</i>	-	+	-	+	(d)	+	+	-	d

1 Malonato

2 Citrato de Simmons

3 Descarboxilación de Lisina

4 H<sub>2</sub>S en TSI

5 Lactosa

6 Gas a partir Glucosa

7 Motilidad de positivos tardios.

8 Índol

9 Descarboxilación de Ornitina

- 90 % de aislamientos negativos.

+ 90 % de aislamientos positivos.

+/- mayoría positiva, pero menos del 90% positiva

( ) reacción retardada o crecimiento retardado.

d positiva tardía (3-5 días).

(d) diferente reacción por diferentes cepas, positivos tardios

D diferentes reacciones dadas por género, especie, variedad. No conocido.