



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
NÚCLEO DE SUCRE  
ESCUELA DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

CALIDAD ESPERMÁTICA Y SU ASOCIACIÓN CON *Enterococcus faecalis*,  
AISLADO DE PACIENTES CON PROBLEMAS DE INFERTILIDAD  
(Modalidad: Tesis de Grado)

Rosimar Angélica Molina De Gouveia

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOANÁLISIS

Cumaná, 2011

CALIDAD ESPERMÁTICA Y SU ASOCIACIÓN CON *Enterococcus faecalis*,  
AISLADO DE PACIENTES CON PROBLEMAS DE INFERTILIDAD

APROBADO POR:

---

MSc. José G. Betancourt  
Asesor Académico

---

Lcda. Patricia Cruces  
Co-Asesor

---

MSc. Elvia Michelli  
Jurado

---

Dr. Guillermo Rada  
Jurado

## ÍNDICE

DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS .....	iv
LISTA DE TABLAS.....	v
LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	vii
RESUMEN .....	viii
INTRODUCCIÓN.....	1
METODOLOGÍA.....	7
Población .....	7
Criterios de exclusión.....	7
Muestras .....	7
Examen macroscópico del semen .....	8
Licuefacción .....	8
Aspecto .....	8
Volumen .....	8
Viscosidad .....	8
pH.....	9
Examen microscópico del semen .....	9
Concentración espermática.....	9
Motilidad espermática .....	9
Vitalidad espermática .....	10
Espermocultivo .....	10
Tinción de Gram.....	10
Siembra y aislamiento para la diferenciación de <i>Enterococcus faecalis</i> .....	11
Pruebas bioquímicas diferenciales para <i>Enterococcus faecalis</i> ....	11

RESULTADOS .....	18
DISCUSIÓN .....	25
CONCLUSIONES .....	31
RECOMENDACIONES .....	32
BIBLIOGRAFÍA .....	33
ANEXOS .....	38
Hoja de Metadatos .....	43

## **DEDICATORIA**

A

DIOS TODOPODEROSO, por ser mi guía espiritual, cubriéndome con su manto divino para encaminarme hacia el logro exitoso de mis metas.

Mis padres: Adolfo Molina e Ysidra De Gouveia, hermanas, y toda mi familia, por ser un apoyo incondicional en todo lo que emprendo. Los ADORO.

Mi novio Harmer Salazar, por estar conmigo en las buenas y en las malas durante el largo camino hacia esta meta. Te AMO.

## **AGRADECIMIENTOS**

A

El Prof. José G. Betancourt, por haberme asesorado y brindado su apoyo en la realización de esta investigación.

La Lcda. Patricia Cruces, Lcdo. Antonio Torres y Lcdo. José Estrada, por haberme prestado su colaboración en la investigación.

La Lcda. Diorelis González, por su ayuda y asesoramiento en la preparación de los medios de cultivos utilizados.

Todas esas personas que, de forma desinteresada, contribuyeron a la realización de esta investigación.

Todos ellos, MUCHAS GRACIAS.

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Calidad espermática en pacientes con problemas de infertilidad, provenientes del laboratorio de la Unidad de fertilidad de la Clínica Santa Rosa, Cumaná, estado Sucre. Marzo-julio 2010. ....	18
Tabla 2. Alteraciones en los parámetros espermáticos, en pacientes provenientes del laboratorio de la Unidad de fertilidad de la Clínica Santa Rosa, Cumaná, estado Sucre. Marzo-julio 2010.....	19
Tabla 3. Asociación del volumen espermático con la presencia de <i>E. faecalis</i> , en pacientes provenientes del laboratorio de la Unidad de fertilidad de la Clínica Santa Rosa, Cumaná, estado Sucre. Marzo-julio 2010.....	20
Tabla 4. Asociación de la licuefacción con la presencia de <i>E. faecalis</i> , en pacientes provenientes del laboratorio de la Unidad de fertilidad de la Clínica Santa Rosa, Cumaná, estado Sucre. Marzo-julio 2010. ....	21
Tabla 5. Asociación de la viscosidad con la presencia de <i>E. faecalis</i> , en pacientes provenientes del laboratorio de la Unidad de fertilidad de la Clínica Santa Rosa, Cumaná, estado Sucre. Marzo-julio 2010. ....	21
Tabla 6. Asociación del pH con la presencia de <i>E. faecalis</i> , en pacientes provenientes del laboratorio de la Unidad de fertilidad de la Clínica Santa Rosa, Cumaná, estado Sucre. Marzo-julio 2010.....	22
Tabla 7. Asociación de la concentración espermática con la presencia de <i>E. faecalis</i> , en pacientes provenientes del laboratorio de la Unidad de fertilidad de la Clínica Santa Rosa, Cumaná, estado Sucre. Marzo-julio 2010. ....	22
Tabla 8. Asociación de la motilidad espermática con la presencia de <i>E. faecalis</i> , en pacientes provenientes del laboratorio de la Unidad de fertilidad de la Clínica Santa Rosa, Cumaná, estado Sucre. Marzo-julio 2010.....	23
Tabla 9. Asociación de la vitalidad espermática con la presencia de <i>E. faecalis</i> , en pacientes provenientes del laboratorio de la Unidad de fertilidad	

de la Clínica Santa Rosa, Cumaná, estado Sucre. Marzo-julio 2010..... 23



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribución porcentual de <i>E. faecalis</i> aislados en espermocultivos de pacientes provenientes del laboratorio de la Unidad de fertilidad de la Clínica Santa Rosa, Cumaná, estado Sucre. Marzo-julio 2010. ....	20
Figura 2. Susceptibilidad antimicrobiana de cepas de <i>E. faecalis</i> , de pacientes provenientes del laboratorio de la Unidad de fertilidad de la Clínica Santa Rosa, a la penicilina (P), ampicilina (AMP), eritromicina (E), tetraciclina (TE), ciprofloxacina (CIP), vancomicina (VA) y teicoplanina (TEC). Cumaná, estado Sucre. Marzo-julio 2010. ....	24



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
NÚCLEO DE SUCRE  
ESCUELA DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

CALIDAD ESPERMÁTICA Y SU ASOCIACIÓN CON *Enterococcus faecalis*,  
AISLADO DE PACIENTES CON PROBLEMAS DE INFERTILIDAD  
(Modalidad: Tesis de Grado)

**Autor:** Rosimar A., Molina De G.

## RESUMEN

Se evaluó la calidad espermática y su asociación con *Enterococcus faecalis*, aislado de pacientes con problemas de infertilidad. La población estuvo conformada por 83 pacientes de sexo masculino que acudieron al laboratorio de la Unidad de Fertilidad de la Clínica Santa Rosa de la ciudad de Cumaná, durante los meses marzo-julio 2010, a quienes se les realizaron: espermogramas, según las normas de la OMS, aislamiento e identificación de *E. faecalis* utilizando métodos convencionales para la determinación de género, grupo y especie, susceptibilidad antimicrobiana de *E. faecalis* a penicilina, ampicilina, teicoplanina, eritromicina, ciprofloxacina, tetraciclina y vancomicina. Del total de muestras, 67,47% presentó motilidad espermática anormal, encontrándose también porcentajes de anormalidad de 55,42% para los parámetros: licuefacción, viscosidad y concentración espermática, 36,14% para la vitalidad espermática, 37,35% para el volumen y un 7,23% para el pH. De los espermocultivos evaluados, 13,25% presentaron *E. faecalis*. No se encontró asociación estadísticamente significativa entre la presencia de *E. faecalis* y el volumen, licuefacción, viscosidad, pH, concentración espermática, motilidad espermática y vitalidad espermática. En cuanto a la evaluación de la susceptibilidad antimicrobiana de *E. faecalis* aislado de las muestras en estudio, se encontró una resistencia del 100,00% a la penicilina, seguida de la eritromicina (72,73%) y la tetraciclina (63,64%); y una sensibilidad del 100,00% a la vancomicina y teicoplanina.

## INTRODUCCIÓN

El aparato reproductor masculino está constituido por órganos internos, representados por los testículos, vías espermáticas y vesícula seminal; órganos externos como: el pene y escroto y órganos anexos: glándulas bulbouretrales y próstata. Estos tejidos accesorios producen sustancias de gran importancia biológica, ya que protegen al tracto urinario de agresiones patológicas que invaden la uretra, mediante la secreción de metales como el zinc, proteasas como lisozimas e inmunoglobulinas secretoras. El mecanismo de lavado de la uretra por estas secreciones establece un medio hostil a los agentes invasores (Sanz *et al.*, 1999).

La espermatogénesis es el proceso mediante el cual se forman los espermatozoides en el hombre, éste se inicia a partir de las células ubicadas en la membrana basal de los túbulos seminíferos y consta de tres fases o etapas: a) divisiones mitóticas de la espermatogonia para generar espermaticitos destinados a convertirse en espermatozoos maduros; b) divisiones meióticas de los espermaticitos, para reducir el número de cromosomas y producir espermátides haploides, y c) espermiogénesis, en la cual las espermátides se transforman en espermatozoos maduros, mediante la pérdida de citoplasma y desarrollo de flagelos (Simón, 2003).

La formación del líquido seminal ocurre mediante la mezcla rápida e individual de cuatro fracciones diferentes. Una primera fracción denominada pre-eyaculatoria, de consistencia mucosa, libre de espermatozoides, que proviene de las glándulas bulbouretrales y uretrales, la segunda fracción, consiste en una secreción prostática libre de espermatozoides, con una elevada concentración de ácido cítrico y fosfatasa ácida. La tercera fracción contiene elementos líquidos gelatinosos, rico en espermatozoides y originada

en el epidídimo, conducto deferente y ampolla deferente. La última fracción es la más abundante y constituye del 50,00 al 80,00% del eyaculado, es procedente de las vesículas seminales, tiene pH alcalino y es rica en fructosa (Silva *et al.*, 2001).

El propósito fundamental del análisis básico de semen (espermatograma) radica en evaluar los parámetros descriptivos clásicos de un eyaculado producido por masturbación. Las características a analizar son: aspecto, licuefacción, viscosidad, pH, volumen, concentración espermática, motilidad y vitalidad espermática (Remohi *et al.*, 2003), todo esto con el fin de determinar la calidad espermática, e investigar si los parámetros espermáticos del individuo, están o no dentro de los valores de referencia (OMS, 1999).

La infertilidad es la incapacidad de una pareja de lograr un embarazo, después de 12 meses de mantener relaciones sexuales sin utilizar ningún método anticonceptivo; su incidencia varía notablemente en diferentes países e incluso en diferentes zonas de un mismo país (Poirot y Cherruau, 2005).

La infertilidad no es únicamente un problema de origen femenino sino de pareja; se ha reportado que el 50,00% de las parejas presentan factor de infertilidad atribuible a ambos (Barten, 1998). Hasta hace poco tiempo, no se tomaba conciencia de la importancia del factor masculino en la infertilidad de la pareja. Estudios epidemiológicos determinan que el varón es responsable de la infertilidad, en forma exclusiva o compartida (Hull, 1985; Vanrell *et al.*, 2000; Barja y Berrios, 2003).

Las causas que originan infertilidad masculina pueden ser congénitas (criptorquidia, hipospadias), infecciosas (parotiditis postpuberal,

enfermedades de transmisión sexual), urológicas (prostatitis, litiasis), traumáticas, consecuencia de cirugía inguinoescrotal; también pueden estar asociadas a enfermedades pulmonares crónicas, genéticas, tumorales, disfunciones sexuales (eréctiles, eyaculatorias), por lesiones neurológicas y por factores ambientales y tóxicos. Aunque en la mayoría de los casos se deben a varicocele, infección de las glándulas sexuales accesorias, falla testicular u obstrucción. Por otro lado, el alcohol produce alteración de la función exocrina y endocrina que conlleva a atrofia testicular, con azoospermia, impotencia y feminización; mientras que, el cigarro, además de causar atrofia del testículo, produce detención de la espermatogénesis y alteración de la morfología espermática (Teppa y Palacios, 2004).

Como se mencionó anteriormente, una causa frecuente de infertilidad masculina es el daño producido por infecciones bacterianas. La uretra anterior masculina está colonizada por agentes bacterianos que forman parte de la flora normal, como *Staphylococcus epidermidis*, difteroides y algunas especies de *Streptococcus*. Sin embargo, una cantidad de infecciones del tracto genital causadas por *Enterococcus faecalis*, y otros agentes, pueden tener consecuencias a corto y mediano plazo, provocando infertilidad masculina (Askienazy, 2005).

El género *Enterococcus* tiene características morfológicas tales como: cocos Gram positivos, aislados en pares o en cadenas (cortas y largas), y que eventualmente pueden tener una morfología cocobacilar. Son anaerobios facultativos y tienen un rango óptimo de crecimiento entre 30 y 35°C. Todas las especies crecen en caldos con 6,50% de NaCl e hidrolizan la esculina en presencia de sales biliares (Facklam y Sahm, 1995).

Como causa de patología, los enterococos han sido implicados en una

gran variedad de cuadros clínicos, pero también están relacionados con infecciones nosocomiales, principalmente aquellas provenientes del tracto urinario. Otros tipos de infecciones en las cuales los enterococos tienen importancia, son las infecciones intra abdominales, pélvicas, bacteremias y septicemias (Moellering, 1992). Entre el 5,00 y 20,00% de los casos de endocarditis bacteriana, se ha aislado a *E. faecalis* como agente causal (Megram, 1992).

Las infecciones bacterianas producidas por *E. faecalis* en el tracto genital masculino, afectan sitios anatómicos relacionados con el aparato reproductor (testículo, epidídimo, glándulas accesorias y conductos eyaculadores), conduciendo al deterioro de los diferentes estadios de la espermatogénesis, la cual afecta la producción y la calidad del semen (Terríquez y González, 2003).

Las infecciones de las glándulas accesorias masculinas tienen un efecto negativo sobre la capacidad reproductiva, debido a que la función del espermatozoide es afectada, especialmente en su motilidad y la capacidad de experimentar la reacción de acrosoma. En una investigación realizada en Chile, en la cual se evaluó el efecto de bacterias sobre la reacción del acrosoma en espermatozoides humanos, se comprobó que la incubación con *E. faecalis*, produjo una significativa reducción de la reacción del acrosoma de los espermatozoides (Schulz *et al.*, 2001).

En el Centro de Fertilidad de Maryland (USA), se realizó una investigación para examinar el efecto de espermocultivos positivos con colonias bacterianas en los procesos de fertilización *in vitro*, donde se encontró que el gran porcentaje de espermocultivos reveló la presencia de *Enterococcus*, aunque la presencia o no de esta bacteria no afectó

significativamente la tasa de embarazos (Shalika *et al.*, 1996). Sin embargo, un estudio realizado por Terríquez y González (2003), donde se correlacionó el número de microorganismos en espermocultivos con alteraciones en los índices del análisis seminal, reveló que la presencia de especies bacterianas reactivas al oxígeno, como *E. faecalis*, afecta la motilidad y bloquean los mecanismos de penetración y fecundación espermática, manifestándose como infertilidad masculina.

Es importante señalar que en un trabajo realizado en Chile, donde se evaluó la apoptosis en espermatozoides humanos, inducida por bacterias patógenas, se demostró que *E. faecalis* produjo un aumento significativo en el nivel de apoptosis tardía de los espermatozoides (Villegas *et al.*, 2001).

Los enterococos se caracterizan por presentar resistencia intrínseca de bajo nivel a un gran número de antibióticos ( $\beta$ -lactámicos, lincosaminas, aminoglucósidos y trimetoprim-sulfametoxazol) y por su capacidad para adquirir nuevas resistencias (Koneman *et al.*, 2008). La resistencia adquirida a los  $\beta$ -lactámicos en los enterococos, suele ser causada por la modificación de las proteínas fijadoras de penicilina (especialmente la PBP-5) y por la producción de  $\beta$ -lactamasas (McDonald *et al.*, 1997; Sánchez-Molina *et al.*, 2004). La combinación de un agente inhibidor de la membrana citoplasmática, como  $\beta$ -lactámicos y glicopéptidos, con un aminoglucósido, constituye una antibioticoterapia exitosa para las infecciones enterocócicas severas, debido a su efecto sinergista bactericida (Gray y Pedler, 1992; Koneman *et al.*, 2008).

La función del espermatozoide puede ser afectada, específicamente, por procesos inflamatorios asociados a la infección de las glándulas accesorias masculinas. Estas infecciones frecuentemente son causadas por

*E. faecalis*, siendo una posible causa de infertilidad en el hombre. En Venezuela, la información disponible sobre estas infecciones es limitada, razón por la cual surgió la necesidad de realizar el presente trabajo de investigación, cuyo objetivo general fue evaluar la calidad espermática y su asociación con *E. faecalis*, aislado de pacientes con problemas de infertilidad, con el fin de determinar su papel como agente causal de infertilidad masculina.



## **METODOLOGÍA**

### **Población**

La población estuvo conformada por 83 pacientes de sexo masculino que acudieron al laboratorio de la Unidad de Fertilidad de la Clínica Santa Rosa de la ciudad de Cumaná, durante los meses marzo-julio 2010.

A cada paciente se le indicó, mediante un instructivo, las normas para la toma de muestra de semen, y se le entregó un recolector estéril de boca ancha para la misma. Se les aplicó una encuesta que sirvió para el conocimiento de antecedentes clínicos y factores de riesgos a infecciones bacterianas (anexo 1). Se les informó sobre los alcances y objetivos de la investigación, así como las ventajas y desventajas de su participación y se solicitó su consentimiento escrito (De Abajo, 2001) (anexo 2).

### **Criterios de exclusión**

Para esta investigación se excluyeron aquellos pacientes con problemas de varicocele, alcoholismo, tabaquismo y con tratamiento antimicrobiano.

### **Muestras**

Las muestras de líquido seminal fueron obtenidas por masturbación en un recolector de orina estéril, con una abstinencia sexual de 3 a 5 días, dichas muestras se trasladaron inmediatamente al laboratorio de la Unidad de Fertilidad de la Clínica Santa Rosa de la ciudad de Cumaná para su procesamiento, en un tiempo no mayor de treinta (30) minutos (OMS, 1999).

Espermatograma

### **Examen macroscópico del semen**

Se evaluaron los siguientes parámetros, siguiendo los criterios de la OMS (1999):

#### Licuefacción

Se determinó en un período de 20 a 30 minutos a temperatura ambiente, evidenciándose éste por la desintegración de coágulos de fibrina presentes en el semen por acción enzimática de las aminopeptidasas y pepsinas.

#### Aspecto

El semen normalmente es un líquido homogéneo opalescente de color blanquecino amarillento. Este parámetro se evaluó mediante la observación del color y la presencia de cuerpos mucosos o gelatinosos.

#### Volumen

El volumen del eyaculado se determinó a través de un aspirado con una pipeta graduada. Se consideró normal los que presentaban entre 2,00 a 4,00 ml.

#### Viscosidad

Se evaluó introduciendo un aplicador de madera en la muestra, observando la longitud del filamento que se formó al retirarlo. Se consideró una viscosidad normal cuando el filamento no midió más de 2 cm.

pH

Para la determinación del pH, se extendió con uniformidad una gota de semen sobre papel indicador (cintas de pH a intervalos de 6,50 a 9,20) y a los 30 segundos se comparó con la escala de calibración para determinar su valor. Se consideró un pH normal entre 7,50 a 8,00.

### **Examen microscópico del semen**

Según los criterios de la OMS (1999), se evaluaron los siguientes parámetros:

#### Concentración espermática

Se evaluó haciendo una dilución del semen en una proporción 1:20, con una solución inmovilizadora (1 000 ml de agua destilada, 50 g de  $\text{NaHCO}_3$ , 10 ml de solución de formaldehído al 35,00% y 0,25 g de azul tripano). La dilución se mezcló enérgicamente y se colocaron 10  $\mu\text{l}$  en una cámara de Neubauer, donde, una vez sedimentadas las células, se realizó el recuento de espermatozoides en el microscopio óptico, con el objetivo de 40X, contando sólo los espermatozoides que se encontraban en el interior del cuadrado, así como aquellos que limitaban los bordes superior e izquierdo. Luego, se multiplicó el número obtenido por el factor  $10^6$ , como resultado se obtuvo el número de espermatozoides por mililitro de muestra. Se consideró una concentración espermática normal de  $20 \times 10^6$  espermatozoides/ml o más.

#### Motilidad espermática

La motilidad de los espermatozoides de la muestra de semen se realizó en un directo, contando solamente los espermatozoides libres y no los que

estuvieran agregados entre sí o a otras células. Para tal fin, se llevo a cabo el recuento de espermatozoides móviles e inmóviles en varios campos seleccionados al azar y con objetivo de 40X. En función a la motilidad que presentaron, se clasificaron según las siguientes categorías: categoría a, si el movimiento espermático es progresivo rápido y lineal; categoría b, si el movimiento espermático es progresivo lento o perezoso y con frecuencia no lineal; categoría c, si el movimiento es no progresivo (*in situ*); y categoría d, cuando los espermatozoides se encuentran inmóviles. Se consideró normal 50,00% o más con progresión (entre a y b).

#### Vitalidad espermática

La vitalidad espermática se determinó mediante la mezcla del semen con una solución de eosina en proporciones iguales, de esta mezcla se agregó una gota en un portaobjeto y se cubrió con una laminilla para su observación al microscopio óptico, con objetivo de 40X. Luego, se contaron los espermatozoides vivos (no teñidos) y los muertos (teñidos), expresados en porcentajes, considerándose normal 75,00% o más de espermatozoides vivos.

#### **Espermocultivo**

#### Tinción de Gram

Las muestras de semen fueron procesadas inmediatamente después de la toma, se realizaron extendidos, los cuales se dejaron secar a temperatura ambiente, luego se fijaron mediante calor y se colorearon mediante la técnica de coloración de Gram (Hucker y Conn, 1923). Esto permitió observar la

presencia de células bacterianas, su morfología y afinidad.

Siembra y aislamiento para la diferenciación de *Enterococcus faecalis*

Se realizó la siembra de las muestras de semen, mediante la técnica de estriado en 4 cuadrantes en agar sangre y chocolate; luego se incubaron a 37°C, en microaerofilia, por 48 horas. Transcurrido este tiempo, se realizó la observación macroscópica a las colonias y el tipo de hemólisis formada. Las colonias típicas (redondas, lisas, blanquecinas, de consistencia blanda y  $\alpha$ ,  $\beta$  o  $\gamma$ -hemolíticas) se evaluaron mediante la técnica de Gram, para apreciar las características microscópicas de las células bacterianas (cocos Gram positivos, dispuestos en cadenas cortas o largas, en pares o aislados) (Koneman *et al.*, 2008).

Pruebas bioquímicas diferenciales para *Enterococcus faecalis*

### **Diagnóstico de género**

Para el diagnóstico de género se utilizaron las siguientes pruebas bioquímicas según, Facklam y Collins (1989); Ruoff (2002) y Herve y Porte (2007):

### **Prueba de la catalasa**

Se basa en la capacidad de los microorganismos de producir la enzima catalasa, mediante la descomposición del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. Ésta se realizó transfiriendo con un palillo de madera parte del

centro de una colonia sospechosa a la superficie de un portaobjetos de vidrio, el cual disponía de una gota de peróxido de hidrógeno al 3,00%; la aparición rápida y sostenida de burbujas o efervescencia constituyó una reacción positiva.

#### Prueba de tolerancia de crecimiento en 6,50% de cloruro de sodio (NaCl)

Esta prueba permitió comprobar la capacidad que tienen los microorganismos de crecer en presencia de cloruro de sodio al 6,50%. Se colocaron de dos a tres colonias sospechosas en el caldo con NaCl al 6,50%, luego se incubó a 37°C por 24 horas, en condiciones de aerobiosis. Una prueba positiva se manifestó por la presencia de desarrollo bacteriano evidente en el medio, con cambio de color del indicador púrpura de bromocresol.

#### Prueba de hidrólisis de bilis y esculina

Esta prueba se basa en la capacidad que tienen ciertas bacterias de hidrolizar el glucósido esculina a esculetina y glucosa en presencia de bilis. Con un asa bacteriológica se tomaron de dos a tres colonias sospechosas, y se sembraron mediante estría en el pico de flauta del medio bilis esculina; luego se incubó a 37°C por 24 horas, en condiciones de aerobiosis. El ennegrecimiento difuso de más de la mitad del pico de flauta indicó hidrólisis de la esculina.

#### Prueba de pirrolidonil beta naftilamida (PYR)

Esta prueba determinó la producción de la enzima pirrolidonil arilamidasa, a través de la hidrólisis del pirrolidonil beta naftilamida (PYR).

Este diagnóstico se realizó, utilizando un disco impregnado con el sustrato (PYR), al cual se le agregaron de dos a tres colonias sospechosas, se dejó actuar por dos minutos y luego se le añadió una gota del reactivo revelador (p- dimetilaminocinamaldehido); la formación de un color de rosado a rojo indicó positividad de la prueba.

#### Prueba de leucino aminopeptidasa (LAP)

Esta prueba determinó la presencia de la enzima leucino aminopeptidasa (LAP) mediante la hidrólisis del sustrato leucina- $\beta$ -naftilamida. Este diagnóstico se realizó, utilizando un disco impregnado con el sustrato (leucina-  $\beta$ -naftilamida), al cual se le agregaron de dos a tres colonias sospechosas, se dejó actuar por dos minutos y luego se le añadió una gota del reactivo revelador (p-dimetilaminocinamaldehido); la formación de un color de rosado a rojo indicó positividad de la prueba.

#### Crecimiento a 45°C

Esta prueba se basa en la capacidad que tiene el género *Enterococcus* de crecer a altas temperaturas. Se realizó mediante la inoculación de dos a tres colonias sospechosas en caldo infusión cerebro corazón, luego se incubó a 45°C por 7 días, en condiciones de aerobiosis. El desarrollo bacteriano en el medio indicó la positividad de la prueba.

#### Diagnóstico de grupo

Para el diagnóstico de grupo se emplearon las siguientes pruebas bioquímicas, descritas por Facklam y Collins (1989); Ruoff (2002) y Herve y Porte (2007), las cuales son:

### Fermentación de manitol y sorbitol

Se basa en la capacidad que tienen los microorganismos de utilizar los alcoholes polihídricos manitol y sorbitol, con la consiguiente acidificación del medio. Se colocaron de dos a tres colonias sospechosas en el caldo con manitol o sorbitol, luego se incubó a 37°C por 24 horas, en condiciones de aerobiosis. Una prueba positiva se manifestó por la presencia de desarrollo bacteriano evidente en el medio, con cambio de color del indicador rojo fenol.

### Fermentación de sorbosa

Se basa en la capacidad que tienen los microorganismos de utilizar el monosacárido L-sorbosa, con la consiguiente acidificación del medio. Se colocaron de dos a tres colonias sospechosas en el caldo con sorbosa, luego se incubó a 37°C por 24 horas, en condiciones de aerobiosis. Una prueba positiva se manifestó por la presencia de desarrollo bacteriano evidente en el medio, con cambio de color del indicador púrpura de bromocresol.

### Descarboxilación de arginina

Esta prueba se basa en la capacidad de los microorganismos de convertir la arginina, en dos etapas: una primera etapa, donde se forma la citrulina por una reacción de dihidrolasa, esta citrulina, a su vez, se convierte en ornitina, y una segunda etapa que se caracteriza por la formación de putrescina, producto de la descarboxilación de la ornitina. Para ello, se colocaron de dos a tres colonias sospechosas en el caldo con arginina, luego se incubó a 37°C por 24 horas, en condiciones de aerobiosis. Una prueba positiva se manifestó por la presencia de desarrollo bacteriano evidente en el medio, sin cambio de color del indicador púrpura de bromocresol.



## Diagnóstico de especie

Para el diagnóstico de especie se utilizaron las siguientes pruebas bioquímicas, descritas por Facklam y Collins (1989); Ruoff (2002) y Herve y Porte (2007). Dichas pruebas fueron las siguientes:

### Fermentación de arabinosa

Esta prueba se basa en la capacidad que tienen los microorganismos de utilizar el monosacárido D-arabinosa, con la consiguiente acidificación del medio. Se colocaron de dos a tres colonias sospechosas en el caldo con arabinosa, luego se incubó a 37°C por 24 horas, en condiciones de aerobiosis. Una prueba positiva se manifestó por la presencia de desarrollo bacteriano evidente en el medio, con cambio de color del indicador púrpura de bromocresol.

### Prueba de motilidad

Se basa en la capacidad que tienen los microorganismos de desplazarse a través del medio por la presencia de flagelos. Para esta prueba, se tomaron de dos a tres colonias sospechosas con una aguja bacteriológica y se sembraron por punción en el medio motilidad, luego se incubó a 37°C por 24 horas, en condiciones de aerobiosis. La presencia de turbidez en el medio indicó la positividad de la prueba.

### Antibiograma

La determinación de los patrones de susceptibilidad se llevó a cabo por medio de difusión con discos, en agar Mueller Hinton (Bauer *et al.*, 1966).

Para ello, se preparó un inóculo de *E. faecalis* en solución salina fisiológica estéril a partir de un crecimiento de 24 horas, sembrado en agar sangre, ajustando dicho inóculo al patrón 0,5 en la escala de Mac Farland. Una vez obtenida la turbidez correspondiente, se procedió a impregnar un hisopo estéril en la suspensión, se eliminó el exceso de muestra y luego, se sembró la superficie entera del agar, por estrías, en tres direcciones diferentes, rotando la placa en ángulo de 60°. Posteriormente, se colocaron los discos de antibióticos: penicilina (10 u), ampicilina (10 µg), teicoplanina (30 µg), eritromicina (15 µg), ciprofloxacina (5 µg) y tetraciclina (30 µg). Luego, se incubó a 37°C por 24 horas, una vez transcurrido el tiempo, se realizó la medición de los halos de inhibición de acuerdo a lo recomendado por el Instituto de Estándares de Clínica y Laboratorio, del inglés: Clinical and Laboratory Standards Institute.

La susceptibilidad a la vancomicina, se determinó por concentración mínima inhibitoria (CMI), a través del método de dilución en agar, el cual consistió en sembrar el inóculo de *E. faecalis* estudiado, en placas de agar Mueller Hinton, cada una de las cuales contenía una concentración diferente de vancomicina (0,5 - 64 µg/mL); luego se incubó a 37°C por 24 horas. Después de este tiempo, se realizó la interpretación de los resultados, donde la CMI fue la menor concentración de antimicrobiano que inhibió completamente el crecimiento bacteriano (CLSI, 2009). Para los antimicrobianos ciprofloxacina y eritromicina, aquellos halos que quedaron en la categoría de intermedio se tomaron como resistentes, ya que no se realizó CMI para ellos.

#### Control de calidad

Para el control de calidad de las pruebas de susceptibilidad

antimicrobiana se utilizó la cepa de *E. faecalis* ATCC 29212 (CLSI, 2009).

#### Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se presentaron a través de estadística descriptiva (tablas y/o figuras). Además, se aplicó la prueba de Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ) con un nivel de confiabilidad de 95% (Sokal y Rohlf, 1981), ésto con la finalidad de asociar la calidad espermática (licuefacción, aspecto, volumen, viscosidad, pH, concentración espermática, motilidad espermática y vitalidad espermática) con la presencia de *E. faecalis* en las muestras analizadas.

## RESULTADOS

En todos los pacientes estudiados se encontró algún parámetro espermático alterado, donde de un total de 83 pacientes analizados, 56 de ellos (67,47%) mostraron motilidad espermática anormal, observándose también un porcentaje de anormalidad de manera considerable en los siguientes parámetros espermáticos: licuefacción (55,42%), viscosidad (55,42%), concentración espermática (55,42%), volumen espermático (37,35%) y vitalidad espermática (36,14%) (tabla 1).

Tabla 1. Calidad espermática en pacientes con problemas de infertilidad, provenientes del laboratorio de la Unidad de fertilidad de la Clínica Santa Rosa, Cumaná, estado Sucre. Marzo-julio 2010.

Variables	Normal	%	Anormal	%
Volumen espermático	52	62,65	31	37,35
Licuefacción	37	44,58	46	55,42
Viscosidad	37	44,58	46	55,42
pH	77	92,77	6	7,23
Concentración espermática	37	44,58	46	55,42
Motilidad espermática	27	32,53	56	67,47
Vitalidad espermática	53	63,86	30	36,14

%= porcentaje

En la tabla 2, se observa el porcentaje de alteraciones en algunos de los parámetros espermáticos de los pacientes estudiados, donde la astenozoospermia y la oligozoospermia presentan porcentajes elevados,

67,47% y 48,19%, respectivamente. Además, se visualiza la presencia de hipospermia en 12 pacientes, representando el 14,46%, y azoospermia en 6 pacientes, lo que representó el 7,23%.

Tabla 2. Alteraciones en los parámetros espermáticos, en pacientes provenientes del laboratorio de la Unidad de fertilidad de la Clínica Santa Rosa, Cumaná, estado Sucre. Marzo-julio 2010.

Parámetros espermáticos anormales	Valores anormales	Nº de pacientes	%
Oligozoospermia	Menos de 20 millones de espermatozoides.	40	48,19
Azoospermia	Sin espermatozoides.	6	7,23
Astenozoospermia	Menos del 50% de espermatozoides móviles.	56	67,47
Hipospermia	Volumen espermático por debajo de 2 ml.	12	14,46

%= porcentaje

En la figura 1, se muestra la distribución porcentual de *E. faecalis* aislados en los espermocultivos analizados, donde el 13,25% (11/83) corresponde a los cultivos positivos para *E. faecalis* y el 86,75% (72/83) a los cultivos negativos.

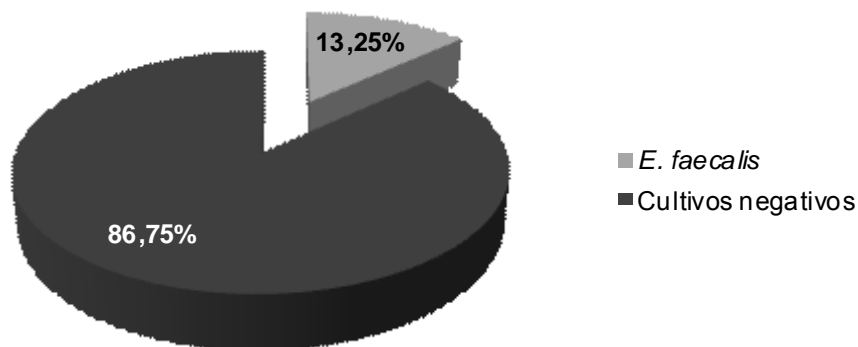


Figura 1. Distribución porcentual de *E. faecalis* aislados en espermocultivos de pacientes provenientes del laboratorio de la Unidad de fertilidad de la Clínica Santa Rosa, Cumaná, estado Sucre. Marzo-julio 2010.

Es importante destacar que de los once (11) pacientes con cultivos positivos para *E. faecalis*, ocho (8) presentaron dos o más parámetros espermáticos alterados.

En la tabla 3, se observa la asociación del volumen espermático con la presencia de *E. faecalis* en los pacientes evaluados, donde no se encontró una asociación estadísticamente significativa ( $\chi^2=0,17$ ;  $p>0,05$ ) entre las variables estudiadas.

Tabla 3. Asociación del volumen espermático con la presencia de *E. faecalis*, en pacientes provenientes del laboratorio de la Unidad de fertilidad de la Clínica Santa Rosa, Cumaná, estado Sucre. Marzo-julio 2010.

Volumen espermático	Cultivo positivo	%	Cultivo negativo	%	Total	Total (%)
Normal	8	9,64	44	53,01	52	62,65
Anormal	3	3,61	28	33,74	31	37,35
Total	11	13,25	72	86,75	83	100,00

ns= no significativo, ( $p>0,05$ )  $\chi^2= 0,17$  ns, corrección de Yates, %= porcentaje

En la tabla 4, se evidencia que no hubo asociación estadísticamente significativa ( $\chi^2=1,08$ ;  $p>0,05$ ) entre la licuefacción y la presencia de *E. faecalis* en los pacientes estudiados.

Tabla 4. Asociación de la licuefacción con la presencia de *E. faecalis*, en pacientes provenientes del laboratorio de la Unidad de fertilidad de la Clínica Santa Rosa, Cumaná, estado Sucre. Marzo-julio 2010.

Licuefacción	Cultivo positivo	%	Cultivo negativo	%	Total	Total (%)
Normal	7	8,43	30	36,15	37	44,58
Anormal	4	4,82	42	50,60	46	55,42
Total	11	13,25	72	86,75	83	100,00

ns= no significativo, ( $p>0,05$ )  $\chi^2= 1,08$  ns, corrección de Yates, %= porcentaje

Al asociar la viscosidad con la presencia de *E. faecalis* en los pacientes analizados, no se encontró una asociación estadísticamente significativa ( $\chi^2=1,08$ ;  $p>0,05$ ) entre las variables estudiadas (tabla 5).

Tabla 5. Asociación de la viscosidad con la presencia de *E. faecalis*, en pacientes provenientes del laboratorio de la Unidad de fertilidad de la Clínica Santa Rosa, Cumaná, estado Sucre. Marzo-julio 2010.

Viscosidad	Cultivo positivo	%	Cultivo negativo	%	Total	Total (%)
Normal	7	8,43	30	36,15	37	44,58
Anormal	4	4,82	42	50,60	46	55,42
Total	11	13,25	72	86,75	83	100,00

ns= no significativo, ( $p>0,05$ )  $\chi^2= 1,08$  ns, corrección de Yates, %= porcentaje

En la tabla 6, se muestra la asociación del pH con la presencia de *E. faecalis* en los pacientes evaluados, observándose que no hubo asociación

estadísticamente significativa ( $\chi^2=0,14$ ;  $p>0,05$ ) entre dichas variables.

Tabla 6. Asociación del pH con la presencia de *E. faecalis*, en pacientes provenientes del laboratorio de la Unidad de fertilidad de la Clínica Santa Rosa, Cumaná, estado Sucre. Marzo-julio 2010.

pH	Cultivo positivo	%	Cultivo negativo	%	Total	Total (%)
Normal	10	12,04	67	80,73	77	92,77
Anormal	1	1,21	5	6,02	6	7,23
Total	11	13,25	72	86,75	83	100,00

ns= no significativo, ( $p>0,05$ )  $\chi^2= 0,14$  ns, corrección de Yates, %= porcentaje

En la tabla 7, se observa la asociación de la concentración espermática con la presencia de *E. faecalis* en los pacientes estudiados, evidenciándose, según la prueba de Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ), que no hubo una diferencia estadísticamente significativa ( $\chi^2=2,86$ ;  $p>0,05$ ) para asociar las variables.

Tabla 7. Asociación de la concentración espermática con la presencia de *E. faecalis*, en pacientes provenientes del laboratorio de la Unidad de fertilidad de la Clínica Santa Rosa, Cumaná, estado Sucre. Marzo-julio 2010.

Concentración espermática	Cultivo positivo	%	Cultivo negativo	%	Total	Total (%)
Normal	8	9,64	29	34,94	37	44,58
Anormal	3	3,61	43	51,81	46	55,42
Total	11	13,25	72	86,75	83	100,00

ns= no significativo, ( $p>0,05$ )  $\chi^2= 2,86$  ns, corrección de Yates, %= porcentaje

En la tabla 8, se presenta la asociación de la motilidad espermática con la presencia de *E. faecalis* en los pacientes analizados, donde se observó que no hubo asociación estadísticamente significativa ( $\chi^2=0,003$ ;  $p>0,05$ ) entre estas variables.



Tabla 8. Asociación de la motilidad espermática con la presencia de *E. faecalis*, en pacientes provenientes del laboratorio de la Unidad de fertilidad de la Clínica Santa Rosa, Cumaná, estado Sucre. Marzo-julio 2010.

Motilidad espermática	Cultivo positivo	%	Cultivo negativo	%	Total	Total (%)
Normal	4	4,82	23	27,71	27	32,53
Anormal	7	8,43	49	59,04	56	67,47
Total	11	13,25	72	86,75	83	100,00

ns= no significativo, ( $p>0,05$ )  $\chi^2= 0,003$  ns, corrección de Yates, %= porcentaje

Al asociar la vitalidad espermática con la presencia de *E. faecalis* en los pacientes evaluados, se observó que no hubo diferencia estadísticamente significativa ( $\chi^2=0,10$ ;  $p>0,05$ ) para la asociación de dichas variables (tabla 9).

Tabla 9. Asociación de la vitalidad espermática con la presencia de *E. faecalis*, en pacientes provenientes del laboratorio de la Unidad de fertilidad de la Clínica Santa Rosa, Cumaná, estado Sucre. Marzo-julio 2010.

Vitalidad espermática	Cultivo positivo	%	Cultivo negativo	%	Total	Total (%)
Normal	8	9,64	45	54,22	53	63,86
Anormal	3	3,61	27	32,53	30	36,14
Total	11	13,25	72	86,75	83	100,00

ns= no significativo, ( $p>0,05$ )  $\chi^2= 0,10$  ns, corrección de Yates, %= porcentaje

En la figura 2, se muestra la susceptibilidad antimicrobiana de *E. faecalis*, observándose que la mayor resistencia encontrada correspondió a la penicilina con un 100,00%, mientras que, en el caso de la vancomicina y teicoplanina, los aislados fueron 100,00% sensibles.

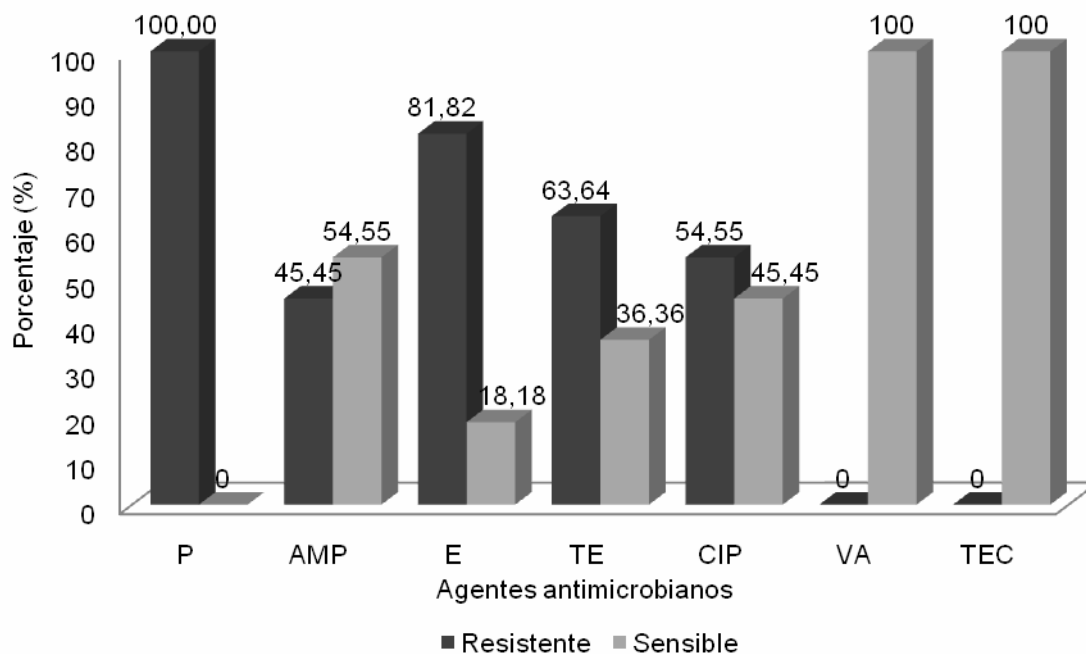


Figura 2. Susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *E. faecalis*, de pacientes provenientes del laboratorio de la Unidad de fertilidad de la Clínica Santa Rosa, a la penicilina (P), ampicilina (AMP), eritromicina (E), tetraciclina (TE), ciprofloxacina (CIP), vancomicina (VA) y teicoplanina (TEC). Cumaná, estado Sucre. Marzo-julio 2010

## DISCUSIÓN

El estudio de la calidad espermática es el examen de laboratorio más importante en la fertilidad masculina, y es una de las prácticas que se efectúan en los servicios de atención a parejas infértiles. Algunos estudios epidemiológicos publicados indican que en las últimas décadas, la calidad espermática se está deteriorando en diferentes países del mundo (Vanrell *et al.*, 2000; Barja y Berrios, 2003). En esta investigación se determinó que el 67,47% de los pacientes con problemas de infertilidad presentaron motilidad espermática anormal, así como alteración en otros parámetros como licuefacción (55,42%), viscosidad (55,42%) y concentración espermática (55,42%), lo que indica que dicha población podría estar siendo afectada por alguna causa, que pudieran ser: factores ambientales, drogas e infecciones. La OMS considera que existe infertilidad masculina cuando hay alteración del espermatograma, fundamentalmente, en la calidad espermática, definida por la concentración de espermatozoides, la motilidad espermática, la vitalidad espermática y morfología espermática, asociada a alteraciones propias del semen (OMS, 1999).

Muchas veces, los resultados satisfactorios de estos parámetros seminales convencionales no se corresponden con los resultados que desde el punto de vista de fertilidad tienen estos individuos, por lo que clínicamente no son siempre suficientes para demostrar la función espermática y fertilidad masculina. El hecho de no encontrar alteraciones en los parámetros espermáticos, no indica que la capacidad funcional de los espermatozoides no se encuentra comprometida, ya que tanto las bacterias, como sus productos metabólicos, podrían ocasionar cambios bioquímicos y moleculares en la membrana espermática, que afectan la reacción acrosómica y su capacidad de fusión con el ovocito, así como daños en el

ADN espermático (Hungerhuber *et al.*, 2004).

En el espermatograma se pueden hallar algunas alteraciones en los parámetros espermáticos tanto macroscópicos como microscópicos que pueden afectar la calidad espermática, entre los que se encuentran: la astenozoospermia y oligozoospermia. En esta investigación, se encontraron porcentajes de astenozoospermia y oligozoospermia de 67,47% y 48,19 %, respectivamente, lo que indica que los individuos estudiados tienen un alto porcentaje de estas anomalías. Estos resultados son similares a los propuestos por Alvizuri (1999), quien determinó que la alteración seminal más frecuente fue la astenozoospermia con un 64,10%, en un estudio realizado en 404 varones del servicio de Andrología (Hospital Militar Central) en Perú. En otro estudio realizado en ese mismo país, entre los años de 1990 a 1992, específicamente, en 242 varones del servicio de andrología (Hospital Cayetano Heredia), se encontró que la anomalía más frecuente en espermatogramas de varones era la astenozoospermia, con un 33,00%, consecuencia probable de un proceso inflamatorio en el tracto reproductivo (Torres y Gonzáles, 1995). En otra investigación realizada en el año 2002, se encontró que de 878 espermatogramas estudiados la alteración con más frecuencia fue la astenozoospermia con un 39,10%, seguido de la oligozoospermia, con un 14,00% (Barja y Berrios, 2003).

La astenozoospermia es la disminución de la motilidad de los espermatozoides en el hombre; esta anomalía es importante ya que si los espermatozoides no se mueven, no se pueden desplazar desde la vagina hasta las trompas, que es donde se encuentran con el óvulo, contribuyendo así a la infertilidad en el hombre. Por el contrario, la oligozoospermia, se refiere a la baja cantidad de espermatozoides (menos de 20 millones) en el semen eyaculado; tal disminución puede ser debida a un déficit en su

producción o a una obstrucción parcial de la vía seminal, siendo la primera la más frecuente. Esta baja calidad del espermatozoides, puede implicar un problema de fertilidad (Poirot y Cherruau, 2005).

Las infecciones seminales en el hombre con frecuencia son de poca sintomatología, por lo que permanecen largo tiempo sin ser identificadas y generan secuelas que pueden conducir a la infertilidad. En los cultivos bacterianos de los pacientes con problemas de infertilidad estudiados se encontró un porcentaje de cultivos con *E. faecalis* del 13,25%, esto demuestra que dichos pacientes se encuentran expuestos a infecciones bacterianas. Estos resultados coinciden con los reportados en un estudio realizado por Mendoza *et al.* (2004), quienes encontraron una frecuencia de *E. faecalis* del 13,04%. En el Centro de Fertilidad de Maryland (USA), se realizó una investigación para examinar el efecto de espermocultivos positivos con colonias bacterianas en los procesos de fertilización *in vitro*, y se encontró que la gran mayoría de espermocultivos, reveló la presencia de *Enterococcus* con un 73,00% (Shalika *et al.*, 1996). Sin embargo, Terríquez y González (2003) encontraron la presencia de distintas bacterias, siendo la más frecuente *E. faecalis*, con un 40,10%.

Las infecciones del tracto reproductivo se han convertido en un serio problema de salud a nivel mundial, afectando tanto a hombres como a mujeres, las cuales, pueden tener diversas consecuencias, entre ellas, la infertilidad. Sólo en la última década se ha empezado a dar importancia a las infecciones como causa de infertilidad en las parejas (Hungerhuber *et al.*, 2004).

Una causa frecuente de infertilidad masculina es la infección bacteriana producida por *E. faecalis* en el tracto genital, que inhibe muchas veces la

movilidad del espermatozoide, así como también puede causar daño en los túbulos seminíferos, originando deterioro en la calidad del semen. La presencia de *E. faecalis* en los pacientes estudiados, pudo haber comprometido la calidad del líquido seminal, ya que, se encontraron valores alterados en la motilidad espermática, viscosidad y licuefacción.

En el presente estudio no se encontraron diferencias significativas cuando se asoció la presencia de *E. faecalis* con los parámetros espermáticos, licuefacción, viscosidad, concentración espermática y motilidad espermática (tablas 4, 5, 7 y 8). De la misma manera, no se encontró una asociación estadísticamente significativa entre el volumen espermático, pH y vitalidad espermática con la presencia de *E. faecalis* (tablas 3, 6 y 9). A pesar de que no se encontraron asociación significativa entre los parámetros espermáticos estudiados con la presencia de *E. faecalis*, se observaron porcentajes considerablemente elevados en muchos de estos parámetros. Al respecto, Villegas *et al.* (2001), demostraron que la incubación de espermatozoides con *E. faecalis* produjo un aumento significativo en el nivel de apoptosis tardía de los espermatozoides. De igual manera, en una investigación realizada por Schulz *et al.* (2001), se comprobó que la incubación de espermatozoides con *E. faecalis* originó una significativa reducción de la reacción de acrosoma de los espermatozoides, lo que indica que en los pacientes con infecciones de las glándulas accesorias masculinas, no sólo se ve afectada la motilidad espermática y el aumento de espermatozoides apoptóticos.

Es importante también destacar que, en un trabajo realizado por Terríquez y González (2003), encontraron que la presencia de especies bacterianas reactivas al oxígeno, como *E. faecalis*, afecta la motilidad y bloquean los mecanismos de penetración y fecundación espermática,

manifestándose como infertilidad masculina.

La presencia de agentes bacterianos que infectan la próstata, pueden dar lugar a procesos inflamatorios que obstruyen la vía seminal a cualquier nivel, perjudicando la concentración de espermatozoides en el líquido seminal, además, al estar afectada la próstata se genera un aumento de la viscosidad y la no licuefacción del semen. De igual forma, estas bacterias pueden adherirse a los espermatozoides, afectando la movilidad o la capacidad fecundante. Los microorganismos pueden favorecer la producción de anticuerpos antiespermáticos con toda una serie de efectos perjudiciales. Las infecciones del semen aún siendo asintomáticas, son capaces de inducir alteraciones en la viscosidad y la licuefacción del líquido seminal, produciendo inmovilización secundaria del espermatozoide (Weidner y Ludwig, 2003).

Al evaluar la susceptibilidad de *E. faecalis*, se obtuvo una resistencia a la penicilina del 100,00%, seguida por la eritromicina (81,82%), tetraciclina (63,64%), ciprofloxacina (54,55%) y ampicilina (45,45%). Resultados que difieren de la investigación de Sánchez-Molina *et al.* (2004), donde *E. faecalis* fue sensible a penicilina (98,00%) y resistente a la eritromicina (53,00%). Es importante destacar que los enterococos se caracterizan por presentar resistencia intrínseca de bajo nivel a un gran número de antibióticos y por su capacidad de adquirir nuevas resistencias (Koneman *et al.*, 2008). La resistencia de ciertas cepas de *E. faecalis* a la penicilina se debe a la producción de  $\beta$ -lactamasas, así como también a la modificación de las proteínas fijadoras de penicilina; por otra parte, la resistencia de *E. faecalis* a la eritromicina se debe a la producción de eritromicina esterasas, a través de estos mecanismos el *E. faecalis* es capaz de evitar ser inhibido por la penicilina y la eritromicina (McDonald *et al.*, 1997; Sánchez-Molina *et al.*,

2004).

En este estudio, *E. faecalis* mostró una sensibilidad del 100,00% a vancomicina y teicoplanina; seguidos por la ampicilina (54,55%), ciprofloxacina (45,45%), tetraciclina (36,36%) y eritromicina (18,18%). En un estudio realizado por Causse *et al.* (2006), encontraron resultados muy similares a la presente investigación, con un 100,00% de sensibilidad del *E. faecalis* frente a la vancomicina y teicoplanina. Sin embargo, los resultados obtenidos en este estudio difieren de lo reportado por Aznar *et al.* (2004), quienes hallaron *E. faecalis* resistentes a vancomicina y teicoplanina (100,00%). Tanto la vancomicina como la teicoplanina presentan una gran afinidad por ciertos precursores de la pared celular elaborados por *E. faecalis*, específicamente los que terminan en la secuencia de aminoácidos D-Alanil-D-Alanina; que una vez que se unen a ellos bloquea la síntesis de la pared celular y por tanto, la multiplicación de *E. faecalis* (McDonald *et al.*, 1997; Sánchez-Molina *et al.*, 2004).

Debido a la importancia que desde el punto de vista de diagnóstico y pronóstico tienen las infecciones en el líquido seminal de hombres infértiles y que todavía se subestiman, es necesario el monitoreo continuo en cuanto a la detección de *E. faecalis* y su rol en la infertilidad; así como, la determinación de sus patrones de susceptibilidad, los cuales permitan orientar el tratamiento antimicrobiano adecuado.



## CONCLUSIONES

La motilidad espermática, la licuefacción, viscosidad y la concentración espermática en la población estudiada, presentaron altos porcentajes de anormalidad, de igual manera el volumen, el pH y la vitalidad espermática presentaron anormalidad pero en menor proporción.

La frecuencia de aislamientos de *E. faecalis* fue de 13,25% en los pacientes con problemas de infertilidad estudiados.

La presencia o no de *E. faecalis* en pacientes con problemas de infertilidad, no se asoció con los parámetros espermáticos como: volumen espermático, licuefacción, viscosidad, pH, concentración espermática, motilidad espermática y vitalidad espermática.

*E. faecalis* presentó un elevado porcentaje de resistencia a penicilina, eritromicina y tetraciclina.

Hubo una sensibilidad del 100,00% del *E. faecalis* frente a los agentes antimicrobianos vancomicina y teicoplanina.

## RECOMENDACIONES

Aumentar la muestra en estudios posteriores, de manera que permitan estudiar de forma más exhaustiva la presencia de *E. faecalis* en pacientes con problemas de infertilidad.

Promover el estudio bacteriológico del líquido seminal en pacientes infértiles con el fin de controlar y evitar posible infertilidad masculina.

Realizar programas continuos de educación, orientados a un ejercicio responsable de la sexualidad.

Realizar estudios más precisos y especializados donde se tome en cuenta los cambios bioquímicos y moleculares que pueda ocasionar el *E. faecalis* a los espermatozoides.

## BIBLIOGRAFÍA

Alvizuri, H. 1999. Prevalencia de oligozoospermia y factores asociados en varones que acudieron por infertilidad al Hospital Militar Central 1993-1998. Tesis Especialista Endocrinología. Lima-Perú

Askienazy, M. 2005. Male genital tract infection: the point of view of the bacteriologist. *Gynecol. Obstet. Fertil.*, 33(9): 691-697.

Aznar, E.; Buendía, B.; García, E.; Escudero, E.; Alarcón, T. y López, M. 2004. Infección urinaria causada por un aislamiento clínico de *E. faecalis* resistente a la vancomicina. *Rev. Esp. Quimioterap.*, 17(3): 263-265.

Barja, I. y Berrios, L. 2003. Alteraciones de los espermogramas en varones que acudieron por infertilidad de pareja a la unidad de reproducción humana del hospital Edgardo Rebagliati Martins. Enero-Diciembre 2002. Trabajo de Post Grado. Facultad de Medicina. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú.

Barten, J. 1998. Screening for infertility in Indonesia results of examination of 863 infertile couples. *Bull. W. Health Organ.*, 76(2): 183-187.

Bauer, A.; Kirby, W.; Sherris, J. y Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.*, 45(4): 493-496.

Causse, M.; Franco, F.; García, A.; Rodríguez, F. y Casal, M. 2006. Sensibilidad a los antimicrobianos de *Enterococcus faecalis* aislados de pacientes en la provincia de Córdoba-España. *Rev. Esp. Quimioterap.*, 19(2):

140-143.

Clinical and Laboratory Standards Institute. 2009. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; nineteenth informational supplement. document M100-S19. Wayne, Pennsylvania. 29(3): 60-62.

De Abajo, F. 2001. La declaración de Helsinki VI. *Rev. Esp. Salud Pública*, 75: 407-420.

Facklam, R. y Collins, M. 1989. Identification of *Enterococcus* species isolated from human infections by a conventional test scheme. *J. Clin. Microbiol.*, 27: 731-734.

Facklam, R. y Sahm, F. 1995. *Enterococcus*. In: Sixth edition manual of clinical microbiology. american society of microbiology. Murray P.; Baron, E.; Tenover F.; Facklam R. y Sahm F. (eds). Washington D.C.

Gray, J. y Pedler, S. 1992. Antibiotic resistant enterococci. *J. Hosp. Infect.*, 2(1): 1-14.

Herve, B. y Porte, L. 2007. *Enterococcus* sp. Parte II. *Rev. chil. infect.*, 24(4) 311-312.

Hucker, G. y Conn, H. 1923. Methods of Gram staining. *Tech. Bull. N. Y. St. Agric. Exp.*, 93(5): 1-7.

Hull, M. 1985. Population study of causes treatment and outcome of infertility. *Brit. Med. J.*, 291: 1693-1967.

Hungerhuber, E.; Stef, C. Y Siebels, M. 2004. Urogenital infections in the male and their implications on fertility. *J. Of Rep. And Contr.*, 15: 193-200.

Koneman, E.; Allen, S.; Procop, G.; Janda, W.; Schreckenberger, P.; Woods, G. y Wim, W. 2008. *Diagnóstico microbiológico*. Sexta edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires.

McDonald, L.; Kuehnert, M.; Tenover, F. y Jarvis, W. 1997. Vancomycin resistant enterococci outside the health-care setting: Prevalence, sources, and public health implications. *Emerg. Infect. Dis.*, 3: 311-317.

Megram, D. 1992. Enterococcal endocarditis. *Clin. Infect. Dis.*, 15: 63.

Mendoza, N.; Aguirre, R.; Del Castillo, A.; Loza, C.; Melgarejo, W.; Medina, R.; Celiz, E.; Zegarra, L. 2004. Evaluación de la sensibilidad del cultivo de semen en el diagnóstico de prostatitis bacteriana crónica. *Rev. Med. Hered.*, 15(1): 37-43.

Moellering, R. 1992. Emergence of *Enterococcus* as a significant pathogen. *Clin. Infect. Dis.*, 14: 1173-1190.

Organización Mundial de la Salud. 1999. *Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction*. Cambridge: Cambridge University Press.

Poirot, C. y Cherruau, B. 2005. Infertilidad masculina, aspectos clínicos e investigaciones biológicas. *Bioquim. Clin. Latinoamer.*, 39(2): 225-241.

Remohi, J.; Romero, J.; Pellicer, A.; Simón, C. y J. Navarro. 2003.

*Manual práctico de esterilidad y reproducción humana*. Editorial McGraw-Hill Interamericana. Madrid.

Ruoff, K. 2002. Miscellaneous catalase-negative, Gram-positive cocci: emerging opportunists. *J. Clin. Microbiol.*, 40: 1129-1133

Sánchez-Molina, M.; Martín, D. y Valladares, C. 2004. Sensibilidad del género *Enterococcus* a nuevos antimicrobianos. *Rev. Esp. Quimioterap.*, 17: 184-188.

Sanz, E.; Ávila, L.; Gaitán, P., Escobar, M.; Santos, A.; Fernandez, A.; Ruiz, J. y Madero, J. 1999. Células redondas. *Med. Reprod.*, 2(2): 17-25.

Schulz, M.; Villegas, J.; Soto, L.; Iglesias, T.; Boehme, C. y Sánchez, R. 2001. Efecto de bacterias sobre la reacción de acrosoma en espermatozoides humanos. *Rev. Med.*, 131: 502-506.

Shalika, S.; Dugan, K.; Smith, R. y Padilla, S. 1996. The effect of positive semen bacterial and *Ureaplasma* cultures on in-vitro fertilization success. *Human. Reprod.*, 11(12): 2789-2792.

Silva, L.; Rechkemmer, A. y Allemant, J. 2001. Diagnóstico y tratamiento de la infertilidad masculina. *Ginecol. Obstet.*, 47: 144-157.

Simón, M. 2003. Avances en el conocimiento de la espermatogénesis. Implicaciones clínicas. *Rev. Iberoamer. Fértil.*, 20(4): 213- 225.

Sokal, R y Rohlf, F. 1981. *Biometría, principios estadísticos en la investigación biológica*. Blume. Madrid, España.

Teppa, A. y Palacios, A. 2004. Evaluación actual de la infertilidad masculina. *Rev. Invest. Clin.*, 45(4): 355-370.

Terrández, M. y González, J. 2003. Correlación entre el número de colonias bacterianas en espermocultivos con alteraciones en los índices del análisis seminal. *Col. Mex. Urol.*, 18(3): 100-105.

Torres, D. y Gonzáles, G. 1995. El factor masculino en un servicio de infertilidad de Lima. *Rev. Invest. Clin.*, 34(2). 17-22.

Vanrell, J.; Colon, J.; Balasch, J. y Visco, P. 2000. *Infertilidad y esterilidad humana*. Edición Masson. España.

Villegas, J.; Sánchez, R.; Schulz, M.; Soto, L.; Iglesias, T.; Óveme, C. y Miska, W. 2001. Apoptosis en espermatozoides humanos inducida por bacterias patógenas. *Rev. Med.*, 131: 613-616.

Weidner, W. y Ludwig, M. 2003. Common organisms in urogenital infections with special impact on Prostatitis. *Eur. Urol.*, 2: 15-18.

## ANEXOS

### ANEXO 1

#### ENCUESTA EXPLORATIVA

Fecha: \_\_\_\_\_ Muestra N°: \_\_\_\_\_

Nombre: \_\_\_\_\_ C.I.: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_

Días de Abstinencia: \_\_\_\_\_ Hora de Recolección: \_\_\_\_\_

1. ¿Por qué se realiza un examen de líquido seminal?
  
2. ¿Tiene infecciones urinarias con frecuencia?  
Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_
3. ¿Alguna vez ha sufrido de infecciones de transmisión sexual?  
Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_  
¿Cuáles?
4. ¿Padece de algunos de los siguientes trastornos?  
Varicocele \_\_\_\_\_ Tabaquismo \_\_\_\_\_  
Alcoholismo \_\_\_\_\_ Otros \_\_\_\_\_
5. ¿Ha sido operado? Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_ De ser "Si" su respuesta, señale cuál de ellas e identifique fecha (al menos el año):  
Varicocele \_\_\_\_\_ Vasectomía \_\_\_\_\_ Otra(s): \_\_\_\_\_
6. ¿Presenta algún trastorno endocrino? Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_ De ser "Si" su respuesta, señale cuál de ellas:  
Hipopituitarismo \_\_\_\_\_ Hipertiroidismo \_\_\_\_\_ Hipotiroidismo \_\_\_\_\_  
Diabetes \_\_\_\_\_ Otra(s) \_\_\_\_\_
7. ¿Actualmente está bajo tratamiento médico? Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_ De ser "Si", especifique: \_\_\_\_\_



## ANEXO 2

### CONSENTIMIENTO VÁLIDO

Bajo la coordinación del MSc. José Gregorio Betancourt, profesor de Bacteriología Clínica del Departamento de Bioanálisis de la Universidad de Oriente de Sucre, se está realizando el proyecto de investigación titulado: Calidad espermática y su asociación con *Enterococcus faecalis*, aislado de pacientes con problemas de infertilidad, cuyo objetivo es el de evaluar la calidad espermática y su asociación con *Enterococcus faecalis*, aislado de pacientes con problemas de infertilidad, y como objetivos específicos: determinar la calidad espermática en los pacientes con problemas de infertilidad, a través del espermograma; identificar *Enterococcus faecalis* en los espermocultivos, a través de métodos convencionales; determinar la susceptibilidad antimicrobiana de *Enterococcus faecalis* por medio de la difusión con discos; asociar la calidad espermática con la presencia de *Enterococcus faecalis* en las muestras de semen analizadas.

Yo:

C.I.:

Estado Civil:

Nacionalidad:

Domiciliado en:

Siendo mayor de edad, en uso pleno de mis facultades mentales y sin que medie coacción ni violencia alguna, en completo conocimiento de la naturaleza, forma, duración, propósito, inconvenientes y riesgos relacionados con el estudio indicado, declaro mediante la presente:

1. Haber sido informado de manera clara y sencilla por parte del grupo de investigadores de este proyecto de todos los aspectos relacionados con el proyecto de investigación titulado: Calidad espermática y su asociación con *Enterococcus faecalis*, aislado de pacientes con problemas de infertilidad.

2. Tener conocimiento claro de que el objetivo del trabajo antes señalado es evaluar la calidad espermática y su asociación con *Enterococcus faecalis*, aislado de pacientes con problemas de infertilidad.
3. Conocer bien el protocolo experimental expuesto por el investigador, en el cual se establece que mi participación en el trabajo consiste en: donar de manera voluntaria una muestra de semen.
4. Que la muestra que acepto donar será utilizada única y exclusivamente para evaluar la calidad espermática y para la realización de un espermocultivo.
5. Que el equipo de personas que realizan esta investigación coordinada por el MSc. José Gregorio Betancourt, me ha garantizado confidencialidad relacionada tanto a mi identidad como a cualquier otra información relativa a mi persona a la que tengan acceso por concepto de mi participación en el proyecto antes mencionado.
6. Que bajo ningún concepto podré restringir el uso para fines académicos de los resultados obtenidos en el presente estudio.
7. Que mi participación en dicho estudio no implica riesgo e inconveniente alguno para mi salud.
8. Que cualquier pregunta que tenga relación con este estudio me será respondida oportunamente por parte del equipo de investigación, con quienes me puedo comunicar por el teléfono 0416- 1823683 con la Br. Rosimar Molina.
9. Que bajo ningún concepto se me ha ofrecido ni pretendo recibir ningún beneficio de tipo económico producto de los hallazgos que puedan producirse en el referido proyecto de investigación.

## DECLARACIÓN DEL VOLUNTARIO

Luego de haber leído, comprendido y aclaradas mis interrogantes con respecto a este formato de consentimiento y por cuanto a mi participación en este estudio es totalmente voluntaria, acuerdo:

1. Aceptar las condiciones estipuladas en el mismo y a la vez autorizar al equipo de investigaciones a realizar el referido estudio en la muestra de semen que acepto donar para los fines indicados anteriormente.
2. Reservarme el derecho de revocar esta autorización y donación en cualquier momento sin que ello conlleve algún tipo de consecuencia negativa para mi persona.

Firma del voluntario:

Nombre y Apellido:

C.I.:

Lugar:

Fecha:

Firma del testigo:

Nombre y Apellido:

C.I.:

Lugar:

Fecha:

Firma del testigo:

Nombre y Apellido:

C.I.:

Lugar:

Fecha:

## **DECLARACIÓN DEL INVESTIGADOR**

Luego de haber explicado detalladamente al voluntario, la naturaleza del protocolo mencionado, certifico mediante la presente que, a mi leal saber, el sujeto que firma este formulario hace constar que este proyecto de investigación comprende la naturaleza, requerimientos, riesgos y beneficios de la participación en este estudio. Ningún problema de índole médico, de idioma o de instrucción ha impedido al sujeto tener una clara comprensión de su compromiso con este estudio.

Por el proyecto,

Nombre: Rosimar Molina

Lugar y Fecha:

## **HOJA DE METADATOS**

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/5

<b>Título</b>	CALIDAD ESPERMÁTICA Y SU ASOCIACIÓN CON <i>Enterococcus faecalis</i> , AISLADO DE PACIENTES CON PROBLEMAS DE INFERTILIDAD.
<b>Subtítulo</b>	

### Autor(es)

<b>Apellidos y Nombres</b>	<b>Código CVLAC / e-mail</b>	
<b>Molina De G., Rosimar A.</b>	<b>CVLAC</b>	<b>18079228</b>
	<b>e-mail</b>	<b>Rosiang@hotmail.com</b>
	<b>e-mail</b>	
	<b>CVLAC</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>CVLAC</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>CVLAC</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>e-mail</b>	

### Palabras o frases claves:

<b>Calidad espermática</b>
<b>Infertilidad masculina</b>
<b><i>Enterococcus faecalis</i></b>

# Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/5

## Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencia	Bioanálisis

## Resumen (abstract):

Se evaluó la calidad espermática y su asociación con *Enterococcus faecalis*, aislado de pacientes con problemas de infertilidad. La población estuvo conformada por 83 pacientes de sexo masculino que acudieron al laboratorio de la Unidad de Fertilidad de la Clínica Santa Rosa de la ciudad de Cumaná, durante los meses marzo-julio 2010, a quienes se les realizaron: espermogramas, según las normas de la OMS, aislamiento e identificación de *E. faecalis* utilizando métodos convencionales para la determinación de género, grupo y especie, susceptibilidad antimicrobiana de *E. faecalis* a penicilina, ampicilina, teicoplanina, eritromicina, ciprofloxacina, tetraciclina y vancomicina. Del total de muestras, 67,47% presentó motilidad espermática anormal, encontrándose también porcentajes de anormalidad de 55,42% para los parámetros: licuefacción, viscosidad y concentración espermática, 36,14% para la vitalidad espermática, 37,35% para el volumen y un 7,23% para el pH. De los espermocultivos evaluados, 13,25% presentaron *E. faecalis*. No se encontró asociación estadísticamente significativa entre la presencia de *E. faecalis* y el volumen, licuefacción, viscosidad, pH, concentración espermática, motilidad espermática y vitalidad espermática. En cuanto a la evaluación de la susceptibilidad antimicrobiana de *E. faecalis* aislado de las muestras en estudio, se encontró una resistencia del 100,00% a la penicilina, seguida de la eritromicina (72,73%) y la tetraciclina (63,64%); y una sensibilidad del 100,00% a la vancomicina y teicoplanina.

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/5

### Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Betancourt, José Gregorio	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	8649514
	e-mail	Jbetanvi@gmail.com
	e-mail	
Cruces, Patricia	ROL	CA <input checked="" type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	12664848
	e-mail	Pycruces@hotmail.com
	e-mail	
Michelli, Elvia	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	8644673
	e-mail	elviamichelli@yahoo.com
	e-mail	
Rada, Guillermo	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	3174623
	e-mail	Guillermorada@gmail.com
	e-mail	

### Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2011	06	08

Lenguaje: spa



## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/5

### Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis-MolinaR.doc	Application/Word

### Alcance:

Espacial: Nacional (Opcional)

Temporal: Temporal (Opcional)

### Título o Grado asociado con el trabajo:

Lcda. en Bioanálisis

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciado

Área de Estudio: Bioanálisis

### Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:

Universidad de Oriente

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/5

**Derechos:**

Yo Rosimar Molina como autora intelectual de esta tesis le doy el derecho a la Universidad de Oriente para divulgar esta tesis siempre y cuando resguardando la patente de industria y comercio si se diera el caso

---



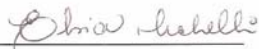
Rosimar Molina  
AUTOR



MSc. José G. Betancourt  
ASESOR



Lcda. Patricia Cruces  
Co-ASESOR



MSc. Elvia Michelli  
JURADO 1



Dr. Guillermo Rada  
JURADO 2

POR LA COMISIÓN DE TESIS:

