



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

**ESTUDIO DEL HERPESVIRUS HOMINIS EN
PACIENTES CON SINTOMAS CLINICOS DE
GINGIVOESTOMATITIS**

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
CIRUJANO DENTISTA
P R E S E N T A:
MARIO ENRIQUE PEREZ MOLINA

Antonio Lopez

México, D. F.

1983



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

C O N T E N I D O .

I.- INTRODUCCION

II.- ANTECEDENTES

III.- MATERIAL Y METODOS

IV.- RESULTADOS

V.- DISCUSION

VI.- CONCLUSIONES

VII.- BIBLIOGRAFIA

CAPITULO I .

INTRODUCCION .

En el ejercicio de nuestra actividad profesional, uno de los problemas que con mayor frecuencia se enfrenta el odontólogo es la presencia de lesiones gingivoestomatíticas en pacientes jóvenes y adultos.

Es el objetivo de esta tesis, presentar un trabajo de investigación sobre el aislamiento del Herpesvirus hominis como causante de la Gingivoestomatitis herpética.

Con el deseo de que este trabajo beneficie a quienes están interesados en el estudio de este virus, así como que ayude a evitar ó a encontrar un tratamiento específico para esta enfermedad, se incluye un capítulo mencionando las características y el comportamiento que este virus presenta al ser cultivado en células vivas (embrión de pollo).

Es el odontólogo el que con frecuencia puede y debe ser el primero en detectar la enfermedad, por lo que él debe ser el más interesado en encontrar un tratamiento eficaz para combatir este padecimiento tan común y generalizado en toda la población mundial.

CAPITULO II.

a) ANTECEDENTES.

El curso de las enfermedades que afectan al hombre ha cambiado notablemente en el siglo pasado y más aún durante los últimos veinte años del presente siglo. En los países más opulentos, los avances de la higiene y de la quimioterapia han reducido notablemente la mortalidad, y en menor grado la morbilidad debidas a las enfermedades bacterianas y por protozoarios, pero han tenido poco efecto en la morbilidad debida a las infecciones virales.

Sin embargo el panorama de las enfermedades virales también ha cambiado. La inmunización y otras medidas preventivas han conducido a la desaparición virtual de la fiebre amarilla y de la viruela; en los países tecnológicamente desarrollados la poliomielitis y el sarampión están desapareciendo también y la rubeola pronto podrá seguirlos. La misma civilización condujo primero a la aparición de la poliomielitis epidémica y después a su control por la vacunación.

Existen enfermedades para las cuales la ciencia aún no ha encontrado forma de prevención, una de ellas es la producida por el Herpesvirus hominis (Herpes simple), que produce la Gingivoestomatitis.

El Herpesvirus es quizá el virus que está más constantemente presente en el hombre. La infección primaria ocurre durante los primeros años de la vida, cuando declinan los anticuerpos maternos y a menudo toma la forma de estomatitis vesicular.

Aunque se produzcan anticuerpos el virus no es eliminado del cuerpo; se establece el estado de portador, que dura toda la vida y es interrumpido por una serie de ataques transitorios de herpes. Si se logra evitar la primoinfección -- durante la niñez, puede ya no presentarse posteriormente, lo cual se debe a que los adultos pueden ser menos susceptibles a la infección herpética primaria (quizá como resultado de que su epitelio es más grueso y resistente), y también a -- que la verosimilitud de ser infectado dentro del hogar puede no ser tan grande para los adultos como para los niños (menos exposición a las contaminaciones por saliva).

La frecuencia más alta de portadores sanos del virus en la bucofaringe ocurre en niños cuyas edades van de los 6 -- meses a los 3 años de edad; el virus se encuentra con menos frecuencia en los niños de 4 a 14 años, siendo raro en las -- personas de 15 años o mayores, ó en niños menores de 6 meses. Un corolario de esto es la observación de que 70%-90% de los adultos tienen anticuerpos.

El virus es transmitido más fácilmente entre las familias de los grupos económicos más bajos; la explicación más aparente es su vida en condiciones de hacinamiento así como las normas higiénicas.

Se piensa que el virus se disemina por contacto directo (saliva o heces) o en forma indirecta por intermedio de utensilios contaminados con la saliva de un portador del virus. La fuente de la infección para un niño es por lo general alguno de los padres que ha tenido alguna lesión herpética recurrente unos cuantos días antes de que se inicie en el niño.

Aunque pueden resultar complicaciones clínicas graves por la infección de Herpesvirus recurrente, poco esfuerzo ha sido hecho para desarrollar una vacuna eficaz.

Los odontólogos y los estudiantes de odontología estamos siendo testigos de un aumento comparable en la frecuencia de la Gingivostomatitis herpética, y la finalidad de este trabajo es poder aislar en el laboratorio a los virus causales, como un prelude esencial aplicable a los estudios de los investigadores expertos en la materia.

Aquellos que van a ser odontólogos en los próximos años necesitan entender la naturaleza de esos cambios y conocer lo suficiente de la biología molecular de la réplica viral, para sacar provecho de la quimioterapia antiviral

cuando se desarrolla en procedimientos practicos, y para _
apreciar la posibilidad del papel de los virus como agentes_
causales. Otra finalidad de este trabajo es proporcionar al_
estudiante y profesional de la odontología un conocimiento _
básico que lo capacite para considerar las enfermedades vira_
les tal como afligen al género humano en las sociedades urba_
nizadas en dos sentidos: como problema, en el manejo a nivel_
del paciente individual y como problemas en la salud pública.

Es sabido que en el momento en que nosotros realizamos
el examen oral al paciente encontramos en muchos de los ca-
sos signos y síntomas de gingivoestomatitis, causada por el
Herpesvirus hominis, que se lleva como una infección laten-
te adquirida, enfermedad que interesa ser conocida.

b) CARACTERISTICAS DE LA ENFERMEDAD.

Dandole importancia a lo expresado sobre la necesidad de entender la naturaleza y la biología de la réplica viral a continuación en una forma somera expreso las características de la gingivoestomatitis.

Esta es probablemente una de las enfermedades virales que con más frecuencia afectan al hombre. Se producen dos tipos de infección, una primaria en una persona sin anticuerpos neutralizantes y la segunda es una recurrente en personas que tienen esos anticuerpos.

La Estomatitis herpética es una enfermedad bucal común que aparece en niños y adultos jóvenes. Es raro que se produzca antes de los 6 meses de edad, de seguro por la presencia de anticuerpos circulantes en el niño, derivados de la madre inmune.

La enfermedad que se da en niños es con frecuencia, el ataque primario y se caracteriza por fiebre, irritabilidad, cefalea, dolor al tragar y linfadenopatía regional. A los pocos días la boca se torna dolorosa y la encía se inflama intensamente. También puede estar afectados labios, lengua, mucosa vestibular, paladar, faringe y amígdalas. Al poco

tiempo se forman vesículas amarillentas, llenas de líquido, se rompen y forman úlceras que varían considerablemente de tamaño. Es importante reconocer que la inflamación gingival precede a la formación de úlceras por varios días.

El hecho de que sea posible recuperar el virus del herpes en la saliva de pacientes durante la enfermedad, lleva a la suposición de que la transmisión se produce mediante la infección por gotas, aunque algunos investigadores creen que es necesario que haya contacto directo.

La otra manifestación de la enfermedad es la estomatitis recurrente herpética que suele ser observada en pacientes adultos y se manifiesta en la clínica como una forma atenuada de la enfermedad primaria.

La forma recurrente de la enfermedad está asociada con traumatismo, fatiga, menstruación, embarazo, infección de vías respiratorias superiores, trastornos emocionales, alegría, exposición a la luz solar ó lámparas ultravioletas ó trastornos gastrointestinales.

Se desconoce el mecanismo mediante el cual estos diversos factores desencadenantes provocan el estallido de lesiones. El virus una vez introducido en el cuerpo, reside en estado latente dentro de las células epiteliales, de manera que las lesiones recurrentes representan una actividad de virus residuales y no una reinfección.

Las lesiones recurrentes por el herpes virus se producen en labios o en la boca. En cualquiera de las localizaciones, las lesiones suelen ir precedidas de una sensación de ardor y tirantez, hinchazón o leve sensibilidad en el lugar donde se han de formar las vesículas.

Es interesante saber que el herpes labial raras veces se presenta con otras lesiones intrabucuales y se piensa que el sitio permanente del herpesvirus latente sea el ganglio trigémino, pero las lesiones herpéticas pueden en muchas ocasiones ser fuente propiciadora de infecciones bacterianas -- especialmente en los casos en que el virus produce lesiones ulcerativas.

c) CARACTERISTICAS DEL AGENTE ETIOLOGICO. (Herpesvirus hominis).

Los virus han sido definidos como entidades submicroscópicas que se producen únicamente dentro de células vivientes específicas y que pueden penetrar en esas células huésped -- desde el exterior. En este trabajo me concreté sólo a tratar al virus Herpes simple, denominado ahora Herpesvirus hominis, y es por eso que a continuación expreso las características más importantes que presenta este microorganismo ultramicroscópico.

Desde 1919 es bien sabido que el Herpesvirus hominis puede ser aislado de úlceras febriles y que los tejidos que con preferencia ataca que derivan del ectodermo y son piel, mucosa, ojos y sistema nervioso central.

Puede también encontrarse en la faringe, en la saliva y en las heces. Como en ocasiones es posible aislarlo a partir de la faringe de portadores aparentemente sanos, el aislamiento del virus del herpes no es por sí mismo suficiente evidencia como para considerar a este virus como agente etiológico de la enfermedad, cuyo diagnóstico se intenta establecer.

Este virus es redondo y su tamaño varía de 133 a 233 nanómetros con un promedio en diámetro de 175 nanómetros.

Cuando se le observa al microscopio electrónico se distingue una estructura interna y una capa viscosa en el exterior.

El virus del herpes simple degenera rápidamente en solución salina fisiológica (es extraordinariamente termosensible), pero se estabiliza cuando se le diluye en agua destilada. En estado seco, puede tolerar temperaturas tan altas hasta de 90°C y puede ser conservado en solución glicérica al 50% a 4°C.

Se desarrolla fácilmente en cultivos de tejidos epiteliales, en cultivos de células y en la membrana corioalantoidea del embrión de pollo, formando en estas placas blancas superficiales tenues y engrosamiento de la membrana del embrión. Además presenta un grupo de huéspedes susceptibles muy amplio, ya que puede infectar a conejos, cobayos, ratones, hamsters, ratas y como se mencionó anteriormente a la membrana corioalantoidea del embrión de pollo.

CAPITULO III.

MATERIAL Y METODOS.

a) PACIENTES DE DIFERENTES EDADES Y SEXOS (CASOS CLINICOS).

En este trabajo se estudiaron 12 casos clínicos de Gingivoestomatitis en personas con edades comprendidas entre -- los 2 y los 65 años, tanto del sexo masculino como femenino. Estos casos fueron estudiados en un consultorio del D.F y en un laboratorio de producción de la industria farmacéutica, -- las muestras que ahí se obtuvieron se estudiaron y cultivaron posteriormente en embriones de pollo y medios aerobios y anaerobios en el laboratorio clínico.

El grupo de pacientes estudiado presentaba diferentes -- estados patológicos que iban acompañando las manifestaciones clínicas de la Gingivoestomatitis, para poder resumir las -- características que presentaban estos pacientes he formulado un cuadro el cual se encuentra a continuación.

CUADRO I

No.	SEXO	EDAD	SITUACIONES O CAUSAS	ESTADOS PATOLOGICOS DEL O. C. O. R. E. N.
1	FEMBRINO	25 años	VISTORIAS Y LESIONES EN LA CARNE IMPERIA DE LOS GUERRILLOS.	RESTRICCIÓN Y STRESS.
2	FEMBRINO	30 años	CUBIERTA EN LA CARNE IMPERIA DE LOS GUERRILLOS.	SPLÉNICO
3	MASCULINO	28 años	VISTORIAS EN CARNE IMPERIA DE LOS GUERRILLOS.	STRESS
4	MASCULINO	18 años	MISIONES EN CARNE IMPERIA DE LOS GUERRILLOS.	OTITIS
5	MASCULINO	2 años	VISTORIAS EN CARNE IMPERIA DE LOS GUERRILLOS.	SPLÉNICO
6	FEMBRINO	7 años	VISTORIAS EN CARNE IMPERIA DE LOS GUERRILLOS.	SPLÉNICO

C U R R I C U L U M

No.	SEXO	EDAD	LUGAR DE NACIMIENTO Y DISTRITO	ESTADO CIVIL Y OCUPACION
7	MASCULINO	13 años	CALLE DE LA VIGILANCIA, DISTRITO DE LOS ANDES Y BOLIVARIAS, P.R.	CONSTRUCCION
8	MASCULINO	65 años	VIVIENDA Y VESTIBULO EN PISO DE LA ESC. Y FONDO DE LA ESC.	NINGUNO
9	MASCULINO	17 años	VIVIENDA EN CARRERA ANTICUA DE CARRIZOS Y LINDIOS .	SERVIDO
10	MASCULINO	4 años	AP. DEL VECINO ACOMPAÑADO DE UNIDAD Y VESTIBULO EN PISO DE LA ESC.	PIEDRA
11	MASCULINO	12 años	ALDEA DE LA VIGILANCIA, DISTRITO DE LOS ANDES Y BOLIVARIAS, P.R.	PIEDRA
12	MASCULINO	10 años	VIVIENDA EN PISO DE LA ESC. Y FONDO DE LA ESC.	CONSTRUCCION

b) MATERIAL DE LABORATORIO PARA TOMA DE MUESTRAS.

La selección y uso adecuado del material de laboratorio es fundamental para el éxito de todo trabajo experimental. - La eficacia del trabajo exige disponer de material adecuado en cantidad y calidad, tenerlo en buenas condiciones, convenientemente preparado e identificado, y bien ordenado para poder usarlo inmediatamente en cualquier momento. Toda técnica debe ser cuidadosamente planeada preparando todo el material que se necesite.

Como gran parte de este trabajo requiere de material estéril deben observarse precauciones de asepsia en el manejo del mismo para evitar contaminaciones. Todo el material debe de esterilizarse inmediatamente después de su empleo, para que pueda ser manipulado sin peligro de transmisión y difusión.

A continuación se describe una lista de material que fue indispensable utilizar en el laboratorio para la toma de muestras y aislamiento del virus.

- Jeringa de tuberculina de 1 c.c graduadas en 0.01 c.c .
- Pinzas curvas de punta delgada .

- Agujas hipodérmicas calibre 27,
de media pulg. y 12-13 mm de long.
- Pinzas oftálmicas
- Tijeras de punta afilada
- Vidrio de reloj .
- Cubre-objetos
- Porta-objetos
- Pipetas capilares
- Tubos de ensayo, algodón, gasa,
cordón y papel.

Para demostrar la existencia de un virus, o para aislarlo, la primera etapa es la recogida de la muestra del hospedador infectado. La toma debe hacerse en el momento en que se suponga que la concentración de virus es máxima, en nuestro caso cuando se presenta la vesícula y antes de que se rompa; todas las muestras deben de recogerse asépticamente.

c) INSTRUMENTAL DENTAL

El instrumental dental utilizado en este trabajo fue del que nosotros utilizamos básicamente en Operatorio Dental.

Las características que tiene que reunir este instrumental es que debe estar perfectamente esterilizado y manejarse con muchas precauciones para evitar alguna contaminación en las muestras.

A continuación se describe la lista del instrumental que fue indispensable utilizar para el examen bucal de los pacientes.

- Espejo Dental.
- Hisopos de Algodón.
- Pinzas de Curación.
- Puntas de Papel.
- Abate Lenguas.
- Algodón.

d) EMBRIONES DE POLLO .

Antes de 1950, cuando el impacto del cultivo celular en la virología comenzó a hacerse sentir, el huésped estándar para el cultivo de virus humanos fue el huevo embrionado de gallina (el embrión de pollo en desarrollo). La técnica fue descubierta por Goodpasture en 1931 y extensamente desarrollada por Burnet en los siguientes años. Casi todos los virus conocidos en esa época se cultivaron en células de una o de otra de las membranas embrionarias, es decir el amnios, alantoides, corion o el saco vitelino.

Corrientemente se emplean casi exclusivamente embriones de pollo, por las siguientes razones:

- Se pueden adquirir con facilidad
- Son baratos
- Tienen un tamaño adecuado
- Están relativamente exentos de infecciones y de contaminaciones extrañas
- No se forman anticuerpos contra el virus proyectado

Para utilizar con éxito el cultivo de embriones aviares se requiere conocer el desarrollo y fisiología de los mismos.

El embrión comienza a desarrollarse bajo la forma de una membrana de células que recubre el polo superior de la yema (vitelo). Durante los primeros días se aprecia con difi

cultad, pero a los 4-5 días de incubación puede observarse fácilmente con el ovoscopio. A partir del 9o día pueden observarse a veces movimientos de deglución. Después del 10o día el embrión aumenta de tamaño y aparecen las plumas. El aparato respiratorio se desarrolla entre los días 12o y 15o. A medida que el embrión aumenta de tamaño, disminuye paralelamente el volumen de los líquidos extra-embriónicos. Durante la incubación hay una constante pérdida de agua por transpiración a través de la cáscara.

A partir del 5o día de incubación se unen los pliegues laterales del amnios, quedando completamente el envuelto. Del 6o al 13o día el líquido amniótico es aproximadamente 1 cc. por término medio. Hacia el día 10o el corion rodea casi totalmente todo el contenido del huevo y está en contacto inmediato con la membrana que tapiza interiormente la cáscara (fárfara).

El alantoides aparece al 3er día y rápidamente aumenta de tamaño a los 11 y 13 días. El corion y alantoides fusionados se conocen con el nombre de membrana corioalantoidea, muy vascularizada, que funciona como órgano respiratorio del embrión.

En las primeras fases del desarrollo, los líquidos amnióticos y alantoideo son, en esencia, soluciones salinas -

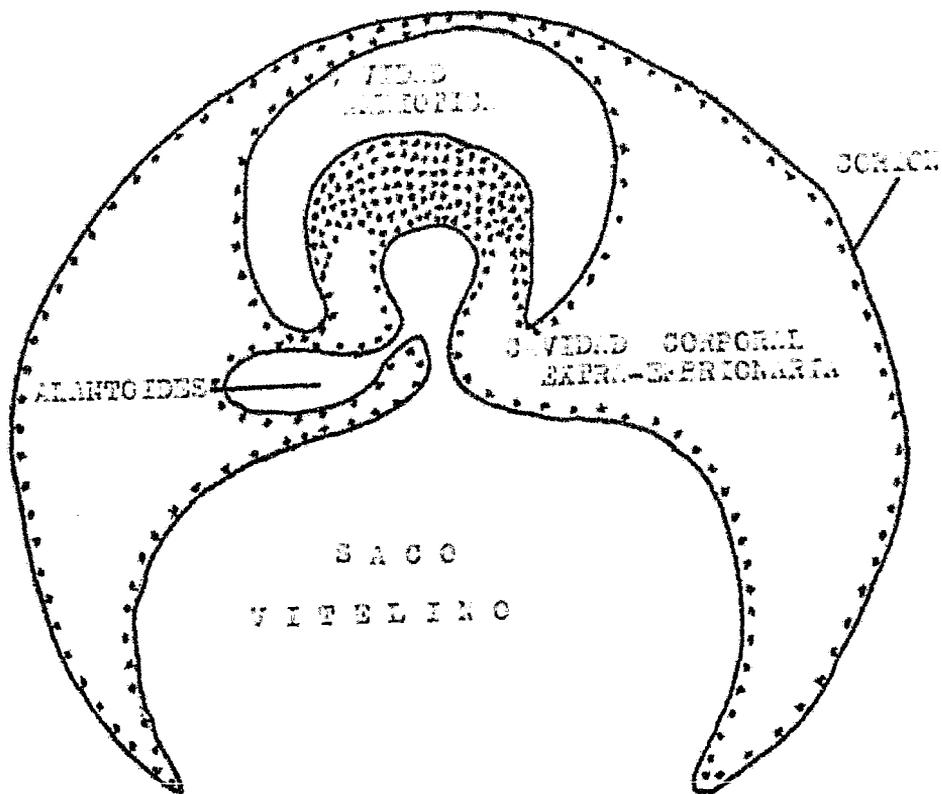
fisiológicas. Después del 12o día aproximadamente, el contenido proteico y la viscosidad del líquido amniótico aumentan este líquido es ligeramente alcalino durante los días 7o al 12o, pero al final de la incubación su ph puede ser 6.

Durante las últimas 24-48 horas de incubación, el saco vitelino queda incluido en la cavidad abdominal.

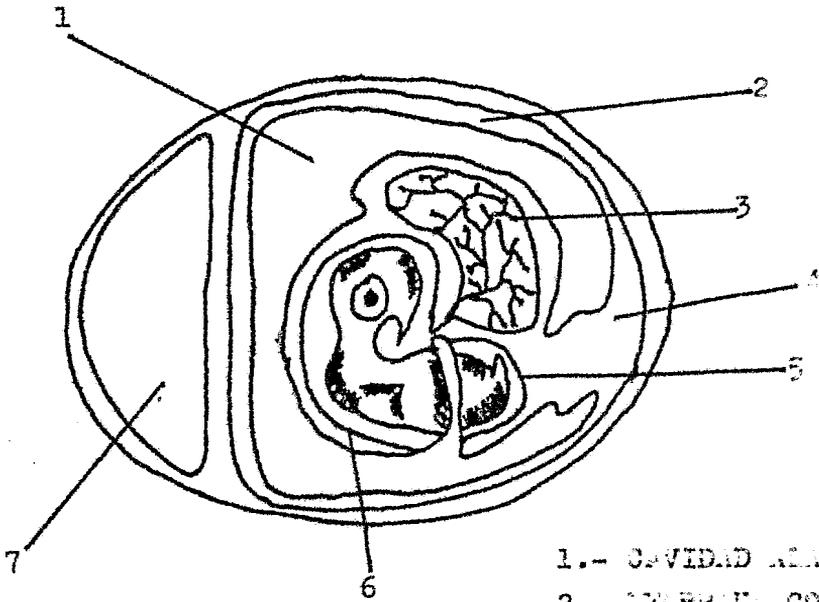
Algunos de los factores que influyen sobre el crecimiento de virus en embriones de pollo son:

- Edad del embrión
- Vía de Inoculación
- Dilución y volumen del inóculo
- Temperatura de incubación
- Tiempo de incubación tras la inoculación
- Estado fisiológico y de nutrición de las aves .

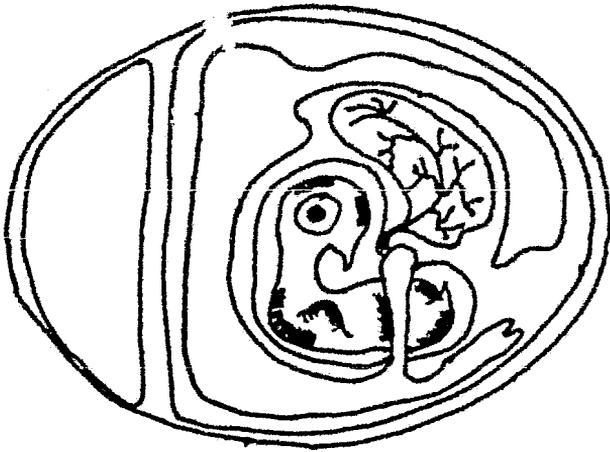
Los cinco primeros deben de estudiarse cuidadosamente para cada virus, puesto que cada uno de ellos implica un problema diferente e independiente.



DESARROLLO DE LAS
MEMBRANAS EXTRA-EMBRIONARIAS.



- 1.- CAVIDAD AMNIOTICA
- 2.- MEMBRAN. CORTO I. YTCIDIA
- 3.- SACO VITELINO
- 4.- ALBUMEN
- 5.- CAVIDAD AMNIOTICA
- 6.- CAVIDAD EXTRAEMBRYONICA
- 7.- SACO DE AIRE



e) CULTIVO DEL VIRUS.

Los virus son parásitos intracelulares obligados, no pueden ser cultivados en ningún medio carente de células, -- por muy complejo que este sea; crecen únicamente en el interior de las células. Esta necesidad puede satisfacerse disponiendo de células adecuadas que actúen como hospedadores. Las virosis humana y animales se manifiestan con signos clínicos de infección, que son suma de las interacciones de virus célula, y representan la respuesta del tejido, órgano o sistema. Algunos virus tienen una rígida limitación o estricta preferencia por el hospedador natural.

Debe resumirse entonces a los animales de laboratorio, embriones de pollo y cultivos histicos (celulares). Cada uno de estos métodos tiene sus ventajas específicas. Sería tarea difícil encomiar excesivamente la utilidad de unos y de otros, para el conocimiento pleno de los virus. Dejando a un lado el hospedador empleado, el requisito esencial es depositar o llevar el virus al punto en que pueda iniciar la infección y reproducirse.

Los animales de laboratorio, embriones de pollo y medios histicos se emplean para el aislamiento e identificación del virus.

Los animales son los hospedadores más complejos, ya que estructuralmente están integrados por tejidos y órganos

muy especializados.

El embrión aviar, como los animales, posee tejidos y órganos muy diferenciados, pero proporciona sistemas de intensa actividad reproductora, que permite el estudio de los virus en capas de una sola fila de células embrionarias. El cultivo de virus en el embrión aviar es más semejante a la interacción virus-célula, que lo podíamos llamar infección ortodoxa en los animales.

Los medios celulares o hísticos todavía nos acercan más a las manifestaciones de la infección vírica al nivel celular. La característica fundamental y única del cultivo celular es su aplicación al estudio analítico de los mecanismos biológicos, ya que sirve como modelo de las funciones de los tejidos y órganos muy especializados.

El cultivo de los virus en un nuevo hospedador, requiere con frecuencia pases sucesivos, llamados a veces "ciegos" o de "fe", hasta que los primeros síntomas de infección son evidentes. La adaptación puede ir acompañada de una modificación de las características del virus, que pueden llegar hasta la pérdida de la patogenicidad para el hospedador natural.

Algunos virus son inestables y propensos a la variación cuando se inoculan a huevos hospedadores, mientras que otros exhiben más rígidamente características constantes.

Las variantes generalmente son estables e irreversibles en cuanto a su espectro de hospedadores, aunque vuelvan a inocu- larse al hospedador natural.

La inoculación a animales receptores fue el primer pro- cedimiento empleado para el cultivo de virus. Este método ha sido substituido en parte por el cultivo en embrión de pollo.

El hospedador natural es ideal para la multiplicación de los virus, pero esto no puede hacerse en la practica con el hombre y los grandes animales.

Para el cultivo de los virus hay varios métodos que se podrían utilizar, pero para la realización de este estudio a mí me pareció utilizar el que a continuación describo por considerarlo el más indicado y preciso.

En este método se hace una cámara de aire artificial para tener la seguridad de que todo el inóculum se ha depositado en la membrana corioalantoidea. Esta técnica es muy útil para contar el número de pústulas producidas por el virus que dan lugar a lesiones macroscópicas en esta membrana. Los pasos a seguir son los sig.-

- 1.- Señalar exactamente la posición del embrión, examinando el huevo al ovoscopio.

2.- Colocando el huevo horizontalmente con el embrión hacia arriba, señalar en una zona equidistante de ambos polos, cualquiera de los sig. dibujos:

- a) Un área de 1 cm^2
- b) Un triángulo de 1 cm
- c) Una línea de 19 mm aprox.

3.- Con un pequeño carborundo cortar la cáscara en los puntos señalados, sin lesionar la fáfara. Hacer una pequeña incisión en la cáscara a la altura de la cámara de aire.

4.- Desinfectar las incisiones con tintura de metafeno o iodo y dejar secar.

5.- Empleando una aguja de disección, romper la fáfara en la cámara de aire -- previamente abierta pero sin lesionar la membrana corioalantoidea.

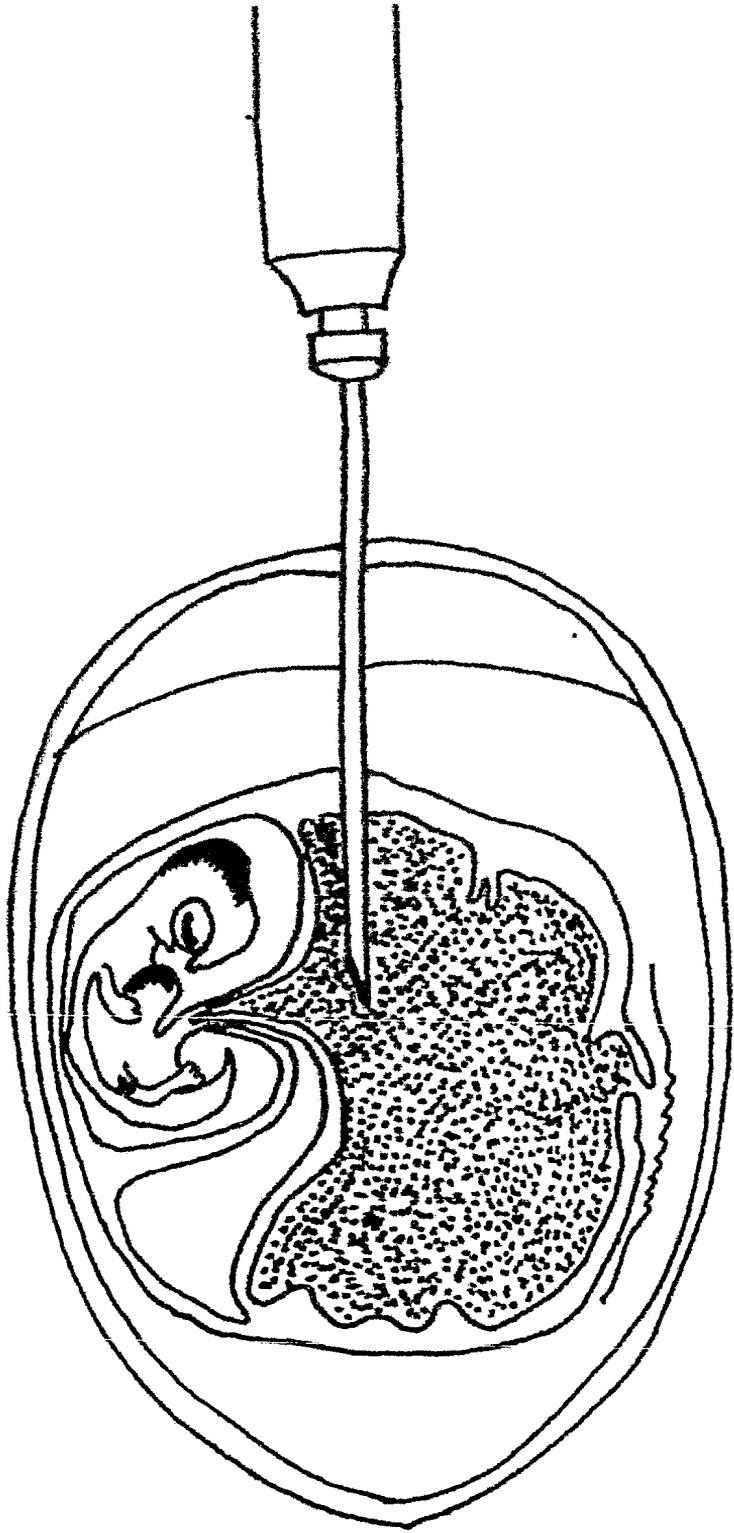
6.- Con una perita de goma aplicada al polo obtuso del huevo sobre la cámara de aire, hacer un ligero vacío. De este modo, el aire pasa através de la abertura fraguada en la fáfara, en uno de

los lados del huevo, permitiendo que la membrana corioalantoidea se separe de ella. El embrión, membranas y líquidos pasan a ocupar el espacio de la cámara de aire normal del huevo, apareciendo una cámara de aire artificial.

7.- Depositar el inóculum sobre la membrana corioalantoidea, insertado una aguja del calibre 27 y 1/2 pulg. de longitud a través del orificio lateral de la cáscara, con el bisel hacia abajo.

8.- Retirar la aguja, inocular otro huevo, o depositar la jeringa en el tubo estéril del que se tomó para la inoculación.

9.- Cerrar las aberturas triangulares o cuadrangulares que hayamos hecho en la cáscara con cinta adhesiva o esparadrapo de tamaño adecuado.



f) MEDIOS DE CULTIVO BACTERIOLOGICOS.

- Medio de Tioglicolato

El medio de tioglicolato fue descrito originalmente por Brewer, como un medio que favorece el desarrollo de microorganismos estrictamente anaeróbicos así como de aerobios. El medio de tioglicolato original fue modificado para que tuviera la calidad nutritiva del caldo de soya. Como resultado de esto, la fórmula corregida tiene un espectro de desarrollo muy amplio de muchos tipos de microorganismos de licados tanto de especies patógenas como de las no patógenas.

La fórmula original también contenía azul de metileno, pero actualmente no se le reincorpora el indicador Eh. Esto evita la posible toxicidad del indicador y facilita también el reconocimiento de un desarrollo temprano. Por lo tanto, el medio de tioglicolato, es el medio de elección para trabajos de diagnóstico.

Fórmula en gramos por litro de agua destilada

Peptona	17.00
Peptona Phytone	3.00
Dextrosa	6.00
Cloruro de Sodio	2.50
Tioglicolato de Sodio	0.50

Agar	0.70
L-cistina	0.25
Sulfito de Sodio	0.10
pH final 7.0 -	

Preparación.- Haga una suspensión con 30 grs. del material deshidratado en un litro de agua destilada. Mezcle hasta obtener una suspensión uniforme. Caliente agitando frecuentemente y hierva durante un minuto. Distribuya en tubos de ensayo, llenándolos hasta la mitad, y empleando de 15 a 18ml en tubos de 15x2 cm. Si se usan matraces o frascos, debe conservarse la proporción de superficie a volumen.

Para la conservación de los cultivos, especialmente de los tipos altamente fermentativos, coloque una pequeña cantidad (aproximadamente 0.1 gramos) de CaCO_3 en cada tubo - antes de introducir el líquido.

Esterilice en autoclave de 118° a 121°C (no más de 15 libras de presión) durante quince minutos. El medio debe de enfriarse a temperatura ambiente antes de usarlo. Debe almacenarse a temperatura ambiente y en lugar obscuro, si no es tá en recipientes sellados. Los recipientes sellados deben de almacenarse en refrigeración.

El medio de tioglicolato en tubos de ensayo tapados - con torundas de algodón puede usarse hasta una semana después de su preparación.

Si se prepara en recipientes cerrados con tapa de rosca para evitar la pérdida de agua y la oxidación del medio, este puede conservarse inmediatamente e indefinidamente. Para obtener el más alto grado de sensibilidad y de eficiencia del medio de tioglicolato, los tubos deben hervirse y enfriarse a temperatura ambiente inmediatamente antes de usarse. Esto es de gran importancia para los cultivos, pues la ebullición le devuelve su apariencia uniformemente nebulosa.

Uso General.-

El medio de tioglicolato se caracteriza por su capacidad extrema de favorecer el desarrollo, de inoculaciones mínimas, de una gran variedad de microorganismos aerobios y anaerobios. Las especies más estrictamente aeróbicas se desarrollan en la parte superior, mientras que los tipos anaeróbicos se desarrollan en las profundidades del medio.

El medio de tioglicolato es por lo tanto muy recomendado como un medio de usos generales, y para el examen de cultivos de sangre y de otros muchos materiales en los cuales es posible la presencia de una variedad de microorganismos aerobios, facultativos o anaerobios.

CAPITULO IV .

RESULTADOS.

El trabajo refiere el estudio de 12 pacientes cuyos antecedentes y manifestaciones clínicas aparecen anotados en los cuadros I y II.

Fueron 12 pacientes los sometidos a los estudios de laboratorio correspondientes de los cuales cinco (pacientes 1, 3, 8, 9 y 11) resultaron positivos al crecimiento del virus en la membrana corioalantoidea del embrión de pollo, los resultados obtenidos están contenidos en el cuadro V; el paciente no. 10 del sexo femenino y de 4 años que padecía ataque agudo acompañado de úlceras y vesículas en lengua y piso de la boca que al momento de la consulta se le encontró con fiebre no dió al cultivo lesiones francamente positivas, el resto de los casos los pacientes no. 2, 4, 5, 6, 7 y 12 resultaron negativos después de haber tratado de aislar el virus en la membrana corioalantoidea del embrión de pollo.

Las muestras tomadas directamente de las vesículas usando jeringas hipodérmicas estériles fueron conservadas en proporciones de 1 a 10 en solución glicerizada estéril al 50%; las muestras tomadas de lesiones ulcerosas fueron tomadas a través de hisopo impregnado de exudados y saliva de la región lesionada y conservando el hisopo sumergido en la solución glicerizada al 50% sin respetar ninguna proporción con relación a volumen.

Las pruebas bacteriológicas efectuadas en el medio líquido de tioglicolato fueron positivas a crecimiento de gérmenes aerobios y anaerobios gram positivos y gram negativos, lo que se consideró secundario en este estudio debido a que el propósito principal del trabajo es evidenciar la presencia del Herpes virus hominis en las lesiones gingivoestomatíticas.

En los cultivos de tioglicolato se observó que los casos de los pacientes que padecen lesiones ulcerosas en las diferentes partes de la cavidad bucal ofrecieron un crecimiento bacteriano de mayor evidencia.

Los cultivos bacteriológicos en los casos en que se pudo obtener líquidos de las vesículas fueron hechos depositando 0.1 de la muestra obtenida en 10 ml del medio de cultivo.

Después de haber procedido al aislamiento del Herpes virus hominis (herpes simple), y de haberlo inoculado en el embrión de pollo se encontraron varios casos positivos cuyos resultados e interpretaciones aparecen en el cuadro V, los resultados obtenidos y el método a seguir fue el siguiente:

Paciente No.1- Presentaba vesículas y úlceras en cara interna de carrillos, la muestra que se tomó fue de las vesículas en la región de los carrillos, presentó crecimiento bacteriano positivo escaso en el medio de tioglicolato y en el embrión fue positivo a presencia de virus con engrosamiento de la membrana corioalantoides.

Paciente No.2- Presentaba Ulceras en labio inferior, la muestra que se tomó fue de esa misma region, presentó crecimiento bacteriano positivo en el medio de tioglicolato y en el embrión fue negativo. No se encontró ninguna lesión en el embrión de pollo.

Paciente No.3- Presentaba vesículas en comisura labial y úlcera en carrillos, la muestra que se tomó fue de la saliva y las úlceras en zona de carrillos, presentó crecimiento bacteriano positivo en el medio de tioglicolato y en el embrión fue positivo a presencia de virus con escasa opacidad de la membrana corioalantoidea.

Paciente No.4- Presentaba Ulceras en piso de boca y fondo de saco, la muestra se tomó de las úlceras en piso de boca, presentó crecimiento bacteriano positivo en el medio de tioglicolato y en el embrión fue negativo. No se encontró ninguna lesión en el embrión de pollo.

Paciente No.5- Presentaba ataque agudo con presencia de úlceras y vesículas en lengua, carrillos y labios, la

muestra se tomó de las vesículas en lengua y carrillos, presentó crecimiento bacteriano positivo escaso en el medio de tioglicolato y en el embrión fue negativo. No se encontró ninguna lesión en el embrión de pollo.

Paciente No.6- Presentaba úlceras en fondo de saco, la muestra se tomó de la saliva y las úlceras de esa región, presentó crecimiento bacteriano positivo en el medio de tioglicolato y en el embrión fue negativo. No se encontró ninguna lesión en el embrión de pollo.

Paciente No.7- Presentaba úlceras en cara interna de los labios y comisura labial, la muestra que se tomó fue de las úlceras en comisura labial, presentó crecimiento bacteriano positivo en el medio de tioglicolato y en el embrión fue negativo. No se encontró ninguna lesión en el embrión de pollo.

Paciente No.8- Presentaba vesículas y úlceras en piso de la boca y fondo de saco, las muestras que se tomaron fueron de la saliva y vesículas de fondo de saco, presentó crecimiento bacteriano positivo en el medio de tioglicolato y en el embrión fue positivo a presencia de virus, con lesiones no específicas en la membrana corioalantoidea.

Paciente No.9- Presentaba vesículas en cara interna de carrillos y labios, la muestra que se tomó fue de las vesí-

culas de los carrillos, presentó crecimiento bacteriano positivo en el medio de tioglicolato y en el embrión fue positivo a presencia de virus, con presencia de placas blancas en diferentes partes de la membrana corioalantoidea.

Paciente No.10- Presentaba ataque agudo acompañado de úlceras y vesículas en lengua y piso de boca, la muestra que se tomó fue de las vesículas y úlceras de la lengua, presentó crecimiento bacteriano positivo en el medio de tioglicolato y en el embrión fue negativo, además no se encontraron lesiones plenamente confirmativas en la membrana corioalantoidea.

Paciente No.11- Presentaba vesículas en el labio inferior la muestra que se tomó fue de la saliva y vesículas del labio inferior, presentó crecimiento bacteriano positivo en el medio de tioglicolato y en el embrión fue positivo a presencia de virus con presencia de placas blancas y opacidad en la membrana corioalantoidea.

Paciente No.12- Presentaba úlceras en piso de boca y fondo de saco, la muestra que se tomó fue de las úlceras en piso de boca, presentó crecimiento bacteriano positivo en el medio de tioglicolato y en el embrión fue negativo. No se encontró ninguna lesión en el embrión de pollo.

CUADRO III

AISLAMIENTO DE HERPES - VIRUS HOLLIS				
PACIENTE	ORIGEN DE LA MUESTRA	MEDIO DE CULTIVO	VIA DE INOCULACION	EVIDENCIA DE LA INFECCION EN EL MEDIO
1	VESICULAS EN REGION DE CARRILLOS	TIOGLICOLATO Y EMBRION DE POLLO.	- DIRECTA - CORIO-AMNIOIDES	TIOGLICOLATO: CRECIMIENTO BACTERIANO POSITIVO. EMBRION: POSITIVO.
2	ULCERAS EN REGION DEL LABIO INFERIOR	- TIOGLICOLATO Y EMBRION DE POLLO	- DIRECTA - CORIO-AMNIOIDES	TIOGLICOLATO: CRECIMIENTO BACTERIANO POSITIVO. EMBRION: NEGATIVO.
3	SALIVA Y ULCERA DE CARRILLOS	TIOGLICOLATO Y EMBRION DE POLLO	- DIRECTA - CORIO-AMNIOIDES	TIOGLICOLATO: CRECIMIENTO BACTERIANO POSITIVO. EMBRION: POSITIVO A PRESENCIA DE VIRUS.
4	ULCERAS DE PISO DE BOCA	TIOGLICOLATO Y EMBRION DE POLLO	- DIRECTA - CORIO-AMNIOIDES	TIOGLICOLATO: CRECIMIENTO BACTERIANO POSITIVO. EMBRION: NEGATIVO
5	VESICULAS EN LENGUA Y CARRILLOS	TIOGLICOLATO Y EMBRION DE POLLO	- DIRECTA - CORIO-AMNIOIDES	TIOGLICOLATO: CRECIMIENTO BACTERIANO POSITIVO ALCASC. EMBRION: NEGATIVO.
6	SALIVA Y ULCERAS EN FONDO DE BOCA	TIOGLICOLATO Y EMBRION DE POLLO	- DIRECTA - CORIO-AMNIOIDES	TIOGLICOLATO: CRECIMIENTO BACTERIANO POSITIVO. EMBRION: NEGATIVO.

CUADRO IV

AISLAMIENTO DE HERPESVIRUS HO. HEP.				
PACIENTE	ORIGEN DE LA MUESTRA	MEDIO DE CULTIVO	VIA DE INOCULACION	EVIDENCIA DE LA INFECCION EN EL MEDIO USADO
7	ULCERAS EN COMECURA LABIALES	TIOGLICOLATO. EMBRIÓN DE POLLO.	- DIRECTA. - CORIO-ALANTOIDEA.	TIOGLICOLATO: CRECIMIENTO BACTERIANO POSITIVO. EMBRIÓN: NEGATIVO.
8	SALIVA Y VESICULAS DE FONDO DE SACO	TIOGLICOLATO. EMBRIÓN DE POLLO.	- DIRECTA. - CORIO-ALANTOIDEA.	TIOGLICOLATO: CRECIMIENTO BACTERIANO POSITIVO. EMBRIÓN: POSITIVO A PRESENCIA DE VIRUS.
9	VESICULAS DE LOS CARILLOS	TIOGLICOLATO. EMBRIÓN DE POLLO.	- DIRECTA. - CORIO-ALANTOIDEA.	TIOGLICOLATO: CRECIMIENTO BACTERIANO POSITIVO. EMBRIÓN: POSITIVO A PRESENCIA DE VIRUS.
10	VESICULAS Y ULCERAS DE LENGUA	TIOGLICOLATO. EMBRIÓN DE POLLO.	- DIRECTA. - CORIO-ALANTOIDEA.	TIOGLICOLATO: CRECIMIENTO BACTERIANO POSITIVO. EMBRIÓN: NEGATIVO.
11	SALIVA Y VESICULAS EN LABIO INFERIOR	TIOGLICOLATO. EMBRIÓN DE POLLO.	- DIRECTA. - CORIO-ALANTOIDEA.	TIOGLICOLATO: CRECIMIENTO BACTERIANO POSITIVO. EMBRIÓN: POSITIVO A PRESENCIA DE VIRUS.
12	ULCERAS EN PISO DE BOCA	TIOGLICOLATO. EMBRIÓN DE POLLO.	- DIRECTA. - CORIO-ALANTOIDEA.	TIOGLICOLATO: CRECIMIENTO BACTERIANO POSITIVO. EMBRIÓN: NEGATIVO.

CUADRO V .

CASOS POSITIVOS AL CRECIMIENTO DEL VIRUS EN EL EMBRION DE POLIO.

PACIENTE	LESIONES ENCONTRADAS	INTERPRETACION
1	ENGROSAMIENTO DE LA MEMBRANA CORIOALANFOIDES	CASO PRÁCTICAMENTE POSITIVO A HERPESVIRUS HOMOINIS
3	ESCALA OPACIDAD DE LA MEMBRANA CORIOALANFOIDES	CASO POSITIVO A HERPESVIRUS HOMOINIS
8	LESIONES NO ESPECÍFICAS	CASO POSITIVO NO PRÁCTICAMENTE DEMOSTRADO POR LAS LESIONES
9	PLACAS BLANCAS EN DIFERENTES PARTES DE LA MEMBRANA	CASO POSITIVO AL ESTABLECIMIENTO DEL VIRUS
10	NO SE ENCONTRARON LESIONES CONFINATIVAS	NEGATIVO AL CRECIMIENTO DEL VIRUS
11	OPACIDAD Y PLACAS BLANCAS EN LA MEMBRANA	POSITIVO AL CRECIMIENTO DEL HERPESVIRUS HOMOINIS

CAPITULO V .

DISCUSION

De los resultados obtenidos por los métodos de laboratorio se encontró una relación entre lesiones ulcerosas (Herpes virus) y estados fisiológicos como el Stress, Menstruación y Fiebre, lo cual nos lleva a la suposición que hay una estrecha relación de estos estados fisiológicos como principales factores desencadenantes para la aparición de lesiones de tipo herpética en la cavidad bucal.

De los 12 casos clínicos estudiados 10 iban acompañados de estados emocionales, fiebre o de Menstruación. Al tomarse la muestra de las lesiones ulcerosas y de las vesículas, también se tomó muestra de la saliva y al llevarla al medio de tioglicolato hubo en todos los casos crecimiento bacteriano, pero sólo en 5 de los casos hubo desarrollo en el embrión de pollo.

De lo cual se deduce que aproximadamente en 44% de los casos estudiados fueron positivos a la infección en el embrión de pollo. De los casos positivos el 90% iban acompañados de fiebre y de stress y solo uno de menstruación. Mientras que en el medio de tioglicolato el 95% de los casos fueron francamente positivos.

Además se encontró en la Historia clínica de los pacientes _
antecedentes de que ya habían padecido le lesiones herpéti--
cas y las cuales también iban acompañadas de estados emocio--
nales, Fiebre, Embarazo ó menstruación.

Esto nos puede llevar a la deducción de que en el 90%
de los casos, las manifestaciones orales con lesiones herpe--
ticas iban acompañadas de Stress, Fiebre y menstruación, --
por lo que podemos suponer que el Herpesvirus hominis es un
virus latente en la cavidad oral y que está propenso a re--
producirse con la influencia de factores desencadenantes _
como los citados anteriormente.

CAPITULO VI .

CONCLUSIONES .

Después de haber analizado e interpretado los resultados obtenidos se puede llegar a las siguientes conclusiones sobre el aislamiento del Herpesvirus hominis.

1o- De los cultivos que se aislaron, se encontró que las lesiones gingivoestomatíticas iban acompañadas de bacterias, - esta conclusión se basa en que hubo crecimiento bacteriano en el medio de tioglicolato , por lo que se puede pensar que las bacterias acompañan a dichas lesiones ó son habitantes de la flora bucal.

2o- Se concluye también que la presencia de infecciones agudas es más frecuente en niños que en adultos, yo pienso - que es por que el adulto ya tuvo contacto primario con dichos virus lo que lo hace producir anticuerpos y crear un sistema inmunitario más resistente.

3o- El virus sólo puede crecer en células vivas, en este caso embriones de pollo, esto se deduce por que en este me dio si hubo crecimiento, en cambio en un medio artificial como el medio de tioglicolato no hubo crecimiento viral.

40- En todos los casos tanto los positivos como negativos, se encontró que iban acompañados de situaciones como el stress, fiebre y menstruación, por lo que se deduce que estos son factores desencadenantes para el virus que permanece latente en la boca.

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

- 1.- Lennette, Edwin H.
DIAGNOSTICAL PROCEDURES FOR VIRAL AND RICKETTSIAL DISEASES
6a Edición, New York, 1974.
Edit. American Public Health.

- 2.- Merchant, Packer.
BACTERIOLOGIA Y VIROLOGIA VETERINARIAS
4a Edición, España, 1976.
Edit. Acriba Zaragoza.

- 3.- Smith y Connant.
BACTERIOLOGIA DE ZINSSER
6a Edición, México, 1974.

- 4.- Gunnigham, Charles
VIROLOGIA PRACTICA
4a Edición, México, 1974.
Edit. Acriba

- 5.- Robbins, Stanley
PATOLOGIA ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL
1a Edición, México, 1975.
Edit. Interamericana

- 6.- Fenner - White
VIROLOGIA MEDICA
2a Edición, México, 1981.
Edit. Prensa Medica Mexicana

7.- Cohence, Lawrence

MEDICINA PARA ESTUDIANTES DE ODONTOLOGIA

1a Edición, México, 1980.

Edit. Manual Moderno

8.- Shafer, William G

TRATADO DE PATOLOGIA BUCAL

3a Edición, México, 1976.

Edit. Interamericana

9.- Jawetz, Ernest

MANUAL DE MICROBIOLOGIA MEDICA

5a Edición, México, 1978.

Edit. Manual Moderno