

**UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENZUELA.**

**FACULTAD DE ODONTOLOGIA.**

**MAESTRIA EN MEDICINA ESTOMATOLOGICA.**

**DETECCION DE *Mycobacterium tuberculosis* DE LESIONES DE  
CAVIDAD BUCAL POR MEDIO DE LA TECNICA DE REACCIÓN EN  
CADENA DE LA POLIMERASA, EN UN GRUPO DE PACIENTES  
VENEZOLANOS CON TUBERCULOSIS VIH POSITIVOS Y VIH  
NEGATIVOS.**

**Autor: Elsi Natali Briceño Caveda.**

**Tutor: Prof. Marianella Perrone.**

**Caracas, Octubre 2007.**

**UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENZUELA.**

**FACULTAD DE ODONTOLOGIA.**

**MAESTRIA EN MEDICINA ESTOMATOLOGICA.**

**DETECCION DE *Mycobacterium tuberculosis* DE LESIONES DE  
CAVIDAD BUCAL POR MEDIO DE LA TECNICA DE REACCION EN  
CADENA DE LA POLIMERASA, EN UN GRUPO DE PACIENTES  
VENEZOLANOS CON TUBERCULOSIS VIH POSITIVOS Y VIH  
NEGATIVOS.**

**Tesis de Maestría presentada ante la ilustre**

**Universidad Central de Venezuela**

**Por la Od. Elsi Natali Briceño Caveda,**

**Para optar al título de**

**Magíster Scientiarum en Medicina Estomatológica**

**Octubre, 2007**

**Dedicado**

**a todos mis pacientes en especial aquellos VIH+, a la lucha**

**Contra el VIH/SIDA y la tuberculosis.**

## **AGRADECIMIENTOS.**

1.- **A Dios y a la Virgen** que han iluminado cada día de mi vida y me han permitido realizar mis sueños y metas, gracias por todas las oportunidades y bendiciones que me han brindado.

2.- **...A la casa que vence la sombras...** mi amada Universidad Central de Venezuela gracias por formarme como profesional.

3.- **A mi mamá** quien cada día me anima, me levanta y me alienta a seguir adelante, por su cafecito de las mañanas, gracias te amo.

4.- **A mi hermana Rita y mi papá Manuel,** gracias por ayudarme en los momentos más difíciles, por protegerme y darme tanto cariño, los amo.

5.- **A mi esposo Angel,** por su comprensión, ayuda, apoyo y presencia, por cada palabra de aliento, gracias te amo.

6.- **A mi compañera de escolaridad Xiomara,** éramos tremendas verdad? Sin tu apoyo amiga el camino andado hubiese sido muy difícil.

7.- **A mi compañera de escolaridad Valentina,** gracias por los concejos técnicos.

7.- A mi **tutora Dra. Marianella Perrone**, gracias por sus enseñanzas, y humildad, usted es un ejemplo a seguir.

8.- A mi **Cotutora Lic. María Fernanda Correa y el Instituto de Medicina Experimental**, por su ayuda y enseñanzas.

10.- **Al Dr. German Pardi**, profesor y compañero gracias por tu ayuda y apoyo, durante todos estos años, ojala algún día pueda saber tanto como tu.

11.- **A mis profesores de la maestría**, Dra Janet Lazarde, Dra. Yolanda Osorio, Dra. Tina Correnti, Dra Helen Rivera, Dra. Celenia Pérez, Dr. Ramón Kiliklan, Dra Romy Casbarro, Dra María Victoria Lugo, Dra. Elba Cardozo, a todos los recuerdo con cariño.

12.- A la **Dra. Mariana Villarroel**, por su ayuda y enseñanzas en el área de histopatología, gracias.

13.- **A todo el personal de Hospital Simón Bolívar**, quienes me abrieron las puertas de esa institución, Dra. Yhajaira Roldan, Dra. Lucrecia Arvelo gracias.

14.- A todos los pacientes que gentilmente contribuyeron con esta investigación **A todos gracias.**

## INDICE GENERAL DE CONTENIDOS

Introducción._____	<b>Pág.1.</b>
Justificación del problema._____	<b>Pág. 4 .</b>
Hipótesis_____	<b>Pág.7.</b>
Objetivo General y Objetivos Específicos _____	<b>Pág.8.</b>
<b>Marco teórico referencial.</b>	
Antecedentes._____	<b>Pág. 9.</b>
Antecedentes históricos._____	<b>Pág.13.</b>
Características generales de <i>M. tuberculosis</i> ._____	<b>Pág. 20.</b>
Inmunopatología de la infección por Micobacterias_____	<b>Pág. 22.</b>
Repuesta de los microorganismos para evadir la respuesta inmunológica del hospedero._____	<b>Pág.25</b>
Papel de las células del sistema inmunológico en las infecciones por micobacterias._____	<b>Pág. 26</b>
Patogénesis_____	<b>Pág-28</b>
Factores genéticos en humanos en la susceptibilidad a la tuberculosis	<b>Pág 31</b>
Tuberculosis pulmonar_____	<b>Pág.34</b>
Tuberculosis Posprimaria._____	<b>Pág.37</b>
Tuberculosis extrapulmonar. _____	<b>Pág.40</b>
Tuberculosis Pleural._____	<b>Pág. 41</b>
Tuberculosis de las viñas respiratorias superiores_____	<b>Pág. 44</b>
Tuberculosis genitourinaria._____	<b>Pág. 45</b>
Peritonitis tuberculosa._____	<b>Pág.47</b>

Tuberculosis osteoarticular._____	<b>Pág 48</b>
Tuberculosis meníngea._____	<b>Pág 49</b>
Tuberculosis digestiva_____	<b>Pág. 51</b>
Tuberculosis pericardica_____	<b>Pág.53</b>
Tuberculosis miliar_____	<b>Pág.56</b>
Tuberculosis miliar criptica._____	<b>Pág.59</b>
Tuberculosis miliar arreactiva_____	<b>Pág.60</b>
Tuberculosis extrapulmonares menos frecuentes._____	<b>Pág.60</b>
Impacto del VIH y la tuberculosis_____	<b>Pág.61</b>
Reinfección y VIH_____	<b>Pág.64</b>
Características clínicas bucales producidas por M. tuberculosis _____	<b>Pág.65</b>
Transmisibilidad de M. Tuberculosis en la consulta odontológica _____	<b>Pág.74</b>
Características histopatológicas de la tuberculosis_____	<b>Pág.77</b>
Definición de casos Normas Aplicadas por El Ministerio de Salud y Desarrollo Social Venezuela._____	<b>Pág.86</b>
<b>Métodos diagnósticos de tuberculosis.</b>	
Baciloscopia_____	<b>Pág.88</b>
Cultivos_____	<b>Pág.95</b>
Amplificación de ácidos nucleicos._____	<b>Pág. 100</b>
Radiografía._____	<b>Pág.109</b>
Prueba de Mantoux_____	<b>Pág.110</b>

## **Materiales y Métodos.**

Equipos de laboratorio utilizados._____	<b>Pág.115</b>
Materiales y suministros de laboratorio._____	<b>Pág.115</b>
Soluciones._____	<b>Pág.115</b>
Material biológico._____	<b>Pág 117</b>
Selección de la muestra_____	<b>Pág.117</b>
Análisis clínico._____	<b>Pág.119</b>
Procedimiento para la toma de la muestra._____	<b>Pág 119</b>
Amplificación de secuencias nucleotídicas de Micobacterias del complejo tuberculoso por RCP. _____	<b>Pág.122</b>
Técnica de la RCP_____	<b>Pág.124</b>
<b>Resultados</b> _____	<b>Pág.129</b>
<b>Discusión</b> _____	<b>Pág.181</b>
<b>Conclusiones</b> _____	<b>Pág.213</b>
<b>Bibliografía.</b> _____	<b>Pág.215</b>
<b>Anexos</b> _____	<b>Pág.244</b>



## **INDICE DE GRAFICOS, TABLAS Y REGISTROS FOTOGRAFICOS.**

**1.- DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH-  
SEGÚN SU GÉNERO. Pág. 129**

**2.- DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH-  
SEGÚN SU EDAD. Pág. 130**

**3.- DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH-  
CON HÁBITOS DE DROGAS ASOCIADOS. Pág. 131**

**4.- DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH-  
CON HÁBITO DE ALCOHOL ASOCIADO. Pág. 132**

**5.-SIGNOS Y SÍNTOMAS QUE PRESENTARON LOS  
PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH- Pág. 133**

**6.-DISTRIBUCION DE PACIENTES SEGÚN ENTIDADES  
PATOLÓGICAS Y NO PATOLÓGICAS CONCOMITANTES A LA  
TBC EN LOS PACIENTES VIH+ Y VIH- Pág.134**

**7.- NIVELES DE CELULAS CD4+ DE LOS PACIENTES CON  
TBC VIH+. Pág.135**

**8.- NIVELES DE CARGA VIRAL DE LOS PACIENTES CON  
TBC VIH+. Pág.137**

9.-DISTRIBUCIÓN GENERAL DE PACIENTES CON PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS CONVENCIONALES, BK. **Pág. 138**

10.- DISTRIBUCIÓN GENERAL DE PACIENTES CON PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS CONVENCIONALES, CULTIVO PARA *M. tuberculosis* . **Pág.139**

11.- DETECCIÓN DE *M. tuberculosis* DE MUESTRAS DE TEJIDO PERIODONTAL, A TRAVÉS DE LA TÉCNICA DE RCP EN PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH- **Pág.140**

12.- DETECCIÓN DE *M. tuberculosis* DE MUESTRAS DE PLACA DENTAL A TRAVÉS DE LA TÉCNICA DE RCP DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH **Pág.141**

13.- DETECCIÓN DE *M. Tuberculosis* DE MUESTRAS DE SALIVA A TRAVÉS DE LA TÉCNICA DE RCP EN PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH-. **Pág.142**

14.- RELACIÓN GENERAL ENTRE LAS PRUEBAS CONVENCIONALES BK Y RCP DE TEJIDOS DE PACIENTES CON TBC. **Pág.143**

15.-RELACION GENERAL ENTRE PRUEBAS CONVENCIONALES Y RCP DE PLACA DENTAL. **Pág.144**

16.-RELACION GENERAL ENTRE PRUEBAS CONVENCIONALES BK Y RCP DE SALIVA. **Pág.145**

17.-RELACION GENERAL ENTRE PRUEBAS CONVENCIONALES CULTIVO Y RCP DE TEJIDO **Pág.146**

18.-RELACION GENERAL ENTRE PRUEBAS CONVENCIONALES CULTIVO Y RCP DE PLACA DENTAL.

**Pág. 147**

19.-RELACION GENERAL ENTRE PRUEBAS CONVENCIONALES CULTIVO Y RCP DE SALIVA. **Pág.148**

20.- DISTRIBUCION GENERAL DE PACIENTES SEGÚN PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS CONVENCIONALES Y PRUEBA DE RCP PARA TEJIDO, PLACA DENTAL Y SALIVA.

(Tabla N° 1)

**Pág. 149**

21.- DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH- SEGÚN PRUEBAS CONVENCIONALES, BK. **Pág. 151**

22.- DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH- SEGÚN PRUEBAS CONVENCIONALES, CULTIVO PARA *M. tuberculosis*. **Pág. 152**

23.- DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH- SEGÚN RCP DE TEJIDO. **Pág. 153**

24.-REGISTRO FOTOGRAFICO DE LA ELECTROFORESIS REALIZADA EN GEL DE AGAROSA A 1.5% QUE MUESTRA LOS PRODUCTOS DE RCP PARA SECUENCIA IS6110 DEL COMPLEJO DE *M. tuberculosis* DE MUESTRAS OBTENIDAS DE TEJIDO. **Pág. 154**

25.- DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH- SEGÚN RCP DE PLACA DENTAL. **Pág. 155**

26.-REGISTRO FOTOGRAFICO DE LA ELECTROFORESIS REALIZADA EN GEL DE AGAROSA A 1.5% QUE MUESTRA LOS PRODUCTOS DE RCP PARA SECUENCIA IS6110 DEL COMPLEJO DE *M. tuberculosis* DE MUESTRAS OBTENIDAS DE PLACA DENTAL. **Pág.156**

27.- DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH- SEGÚN RCP DE SALIVA. **Pág. 157**

28.-REGISTRO FOTOGRAFICO DE LA ELECTROFORESIS REALIZADA EN GEL DE AGAROSA A 1.5% QUE MUESTRA LOS PRODUCTOS DE RCP PARA SECUENCIA IS6110 DEL COMPLEJO DE *M. tuberculosis* DE MUESTRAS OBTENIDAS DE SALIVA. **Pág.158**

**29.-** DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH- SEGÚN PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS CONVENCIONALES BK Y CULTIVO PARA *M. tuberculosis* y RCP DE TEJIDO, PLACA DENTAL Y SALIVA. **Pág. 159**

**30.-**DISTRIBUCION DE LA RCP REALIZADA A TEJIDO, PLACA DENTAL Y SALIVA DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH-.(tabla N° 2) **Pág.161**

**31.-** DISTRIBUCION DE PACIENTES VIH+ CON TBC SEGUN PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS BK Y CULTIVO PARA *M. tuberculosis* Y RCP. **Pág.162**

**32.-** DISTRIBUCION DE PACIENTES VIH- CON TBC SEGUN PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS BK Y CULTIVO PARA *M. tuberculosis* Y RCP. **Pág.164**

**33.-** DISTRIBUCION DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH – SEGUN ALTERACION PERIODONTAL Y CONTEO DE CELULAS CD4+. **Pág.166**

**34.-** DISTRIBUCION DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH – SEGUN ALTERACION PERIODONTAL Y CARGA VIRAL.

**Pág.168**

**35.- UBICACION DE LAS ALTERACIONES PERIODONTALES EN PACIENTES CON VIH+ Y VIH- SEGÚN CONTEO DE CELULAS CD4+ **Pág.170****

**36.-UBICACION DE LAS ALTERACIONES PERIODONTALES EN PACIENTES CON VIH+ Y VIH- SEGÚN CARGA VIRAL. **Pág.172****

**37.-CARACTERÍSTICAS HISTOPATOLOGICAS DE LAS MUESTRAS DE TEJIDO DE LOS PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH- **Pág.174****

**38.- CARACTERISTICAS DEL EPITELIO DE MUESTRAS DE ENCÍA DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH-. **Pág. 175****

**39.- CARACTERISTICAS PRESENTES EN EL CORION DE MUESTRAS DE ENCÍA DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH- **Pág.176****

**40.- CLASIFICACION DEL INFILTRADO INFLAMATORIO EN MUESTRAS DE ENCÍA DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH- **Pág.177****

**41.- TIPO DE INFILTRADO INFLAMATORIO PRESENTE EN MUESTRAS DE ENCÍA DE PACIENTES CON TBC VIH+`Y VIH- **Pág. 178****

**42.- CARACTERISTICAS DE LOS VASOS SANGUINEOS DE LAS MUESTRAS DE ENCIA DE PACIENTES CON TBC VIH + Y VIH-**

**Pág.179**

**43.- PRESENCIA DE CALCIFICACIONES DISTROFICAS EN MUESTRAS DE ENCIA DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH**

**Pág.180**

**ANEXOS.**



REPUBLICA DE VENEZUELA.

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA.

MAESTRÍA EN MEDICINA ESTOMATOLOGICA.

**CONSENTIMIENTO INFORMADO.**

Por medio de la presente hago constar que yo \_\_\_\_\_ mayor de edad, C.I N° \_\_\_\_\_

Participo voluntariamente en el estudio: **“Detección de *M. tuberculosis* de lesiones de Cavidad Bucal por Medio de la Técnica de RCP, en un grupo de pacientes Venezolanos con Tuberculosis, VIH+ y VIH-“**. Conozco del procedimiento de recolección de muestra, el cual no implica riesgos de salud para mi persona.

Pasos a seguir:

- 1.-Historia Clínica1.
- 2.-Recolección de saliva.
- 3.-Recolección de placa dental.
- 4.-Recolección de tejido (previa anestesia local).

\_\_\_\_\_  
Firma del paciente.

\_\_\_\_\_  
Firma del Investigador

Hospital:

Fecha:

**Registro fotográfico de pacientes en la investigación.**



**Foto N°1 Paciente con gingivitis crónica generalizada, se puede apreciar la presencia de irritantes locales, tipo placa dental en el área del 13.**



**Foto N° 2 Paciente con gingivitis crónica generalizada, se puede apreciar la presencia de irritantes locales, tipo placa dental.**







## I.-INTRODUCCIÓN.

En la actualidad son muchos los avances en el área de la ciencia y la medicina. Sin embargo, existe una contraparte social relacionada con la cultura y la educación de nuestros pueblos, que nos mantiene presos en entidades en vías de ser erradicadas en otros continentes del mundo, como lo es la tuberculosis.

La Tuberculosis (TBC) se considera una enfermedad reemergente, así en América, se han reportado entre 200.0000 y 250.000 casos anuales a partir de los años 80, aunque algunos expertos señalan que las cifras pueden elevarse a unos 300.000 casos anuales. <sup>(1)</sup>

*Mycobacterium tuberculosis* es el agente causal de la tuberculosis, una enfermedad infecciosa tan antigua como el hombre, que ocasionó entre los siglos XVII y XIX, miles de muertes. En Europa una de cada cinco defunciones era producto de esta enfermedad, por lo que fue designada como la “Gran Plaga Blanca” después de haber causado el fallecimiento de millares de personas.

Posteriormente fue declinando su incidencia hasta llegar a tan solo algunos casos. Sin embargo, existe en la actualidad

un resurgimiento de esta entidad, íntimamente relacionado con el Síndrome de Inmunodeficiencia Humana. <sup>(1,2)</sup>

Es la patología reemergente más frecuente en las personas jóvenes y tiende a ser más agresiva en el grupo que va desde los 15 hasta los 45 años. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha considerado que 1/3 de la población mundial (1,7billones) ha sido infectada por el bacilo de la tuberculosis y que anualmente produce 2,9 millones de muertes evitables. <sup>(1,2)</sup>

El continente Africano presenta las mayores tasas de la enfermedad, sin embargo, Bolivia, Republica Dominicana, Perú, Ecuador, El Salvador, Guatemala, Haití, Honduras, Paraguay, México, tienen una tasa elevada de casos. Venezuela no se encuentra exenta de esta realidad y en la actualidad según lo reportado por la Organización Mundial de la salud y la Organización Panamericana de la Salud (OMS/OPS), se considera como un país de mediana incidencia. Los promedios nacionales alertan sobre la prevalencia de meningitis por TBC y la asociación TBC/VIH, así como, el incremento de casos resistentes al tratamiento. <sup>(1,2)</sup>

La tuberculosis es una enfermedad que en el área bucal produce diversas manifestaciones entre ellas la úlcera tuberculosa, gingivitis por tuberculosis,<sup>(3)</sup> enfermedad periodontal,<sup>(4)</sup> lesiones en el hueso, glándulas salivales y linfadenopatias,<sup>(5)</sup> entre otras.

Con la asociación TBC/VIH es de gran importancia evaluar la posible variabilidad de las lesiones en este grupo de pacientes, tomando en consideración que lamentablemente tanto la pandemia del SIDA y la tuberculosis van incrementándose cada día, por lo que se hace imprescindible el estudio y evaluación de esta entidad tanto en pacientes VIH- como VIH+.

Si bien el diagnóstico de muchas lesiones de cavidad bucal se ha podido obtener a través de los métodos convencionales y así lo ha descrito la literatura, es importante el empleo de técnicas más rápidas que permiten instaurar un plan de tratamiento con bastante celeridad, entre ellos la amplificación de blancos moleculares usando la Reacción en Cadena de La Polimerasa, que es altamente específica (90-95%) y sensible (95- 100%). Es importante resaltar que a partir de muestras de la cavidad bucal se ha podido amplificar el ADN de *M. tuberculosis* y hacer diagnóstico de tuberculosis primaria y secundaria.<sup>(6,7,8)</sup>



## **Justificación del Problema.**

La Tuberculosis era una enfermedad en vías de erradicación en muchos países del mundo. Lamentablemente existe un resurgimiento de la misma debido a varios factores, entre ellos la pobreza como factor primario, que aunado al hacinamiento producen una confrontación cultural. Así mismo, el deterioro de los programas de control en muchos países, la pandemia del SIDA y la resistencia a las drogas por parte de la cepas de *M. tuberculosis* determinan que este sea un problema de orden público,

Al respecto, Venezuela cumple con 3 de los factores señalados por la OMS para definir un problema de salud colectiva, que incluyen: pobreza y hacinamiento, desnutrición y VIH, aunado a esto existe una gran desinformación en la población general y en el personal de salud que complica aún más la situación.

La Tuberculosis es la causa primaria de defunción entre las personas VIH positivas. Es responsable de casi un tercio de fallecimientos por SIDA en todo en mundo, representando un 40% en África y Asia. En África, el VIH ha sido el factor único más importante en el aumento de la incidencia de la tuberculosis en los últimos 10 años.

En Venezuela para el año 2001 el 5,25% de los pacientes diagnosticados con tuberculosis y BK positivo eran VIH/SIDA (10)

Es importante referir que una persona VIH positiva que es infectada por *M. tuberculosis*, tiene una probabilidad 30 veces mayor de desarrollar la enfermedad, que un individuo VIH negativo infectado con el bacilo, lo que hace a este grupo de pacientes más susceptibles. (9)

Por otra parte, la baja detección de casos es un problema que ayuda a la propagación de la enfermedad. Se estima que sólo 2/3 de los casos son reportados, así mismo 1/3 de los casos no se diagnostican, esto genera pacientes que no reciben el tratamiento adecuado para esta enfermedad, considerando que aproximadamente 50% de los enfermos con tuberculosis activa no tratada mueren en 5 años después de contraída la enfermedad. De igual forma, un enfermo con tuberculosis contagiosa puede transmitirla a un número de personas que oscila entre 10 y 15 en un año. (1,2)

Hoy día cuando existe una relación muy estrecha entre VIH/SIDA y tuberculosis, es importante identificar parámetros que puedan contribuir a un diagnóstico temprano de las lesiones, que podrían afectar y comprometer aun más el cuadro clínico de los pacientes afectados.

A nivel de la cavidad bucal específicamente, el odontólogo juega un papel importante en la detección de lesiones asociadas a diversos procesos infecciosos. Las manifestaciones de la TBC en boca están representadas por la aparición de lesiones bucales cuyas características clínicas y microbiológicas deben ser reconocidas por este profesional de la salud para un diagnóstico temprano y un tratamiento adecuado.

Por todo lo anteriormente expuesto se justifica la realización de esta investigación la cual permitirá determinar los parámetros de diagnósticos clínicos y microbiológicos más importantes de esta enfermedad a nivel de la cavidad bucal, su variabilidad y frecuencia así como los métodos empleados en su diagnóstico. <sup>(1,2)</sup>

## HIPÓTESIS.

¿Es posible detectar genoma de *M. tuberculosis* mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa en lesiones de cavidad bucal de pacientes VIH + y VIH –?

¿Existen lesiones en la Cavidad Bucal producida por TBC en pacientes VIH+ con carga viral elevada y niveles de CD4+ disminuidos?

¿Existen diferencias significativas en relación a lesiones TBC en Mucosa Bucal entre un grupo de Pacientes VIH- y VIH+ ambos tuberculosos?

## **OBJETIVO GENERAL.**

Detección de *Mycobacterium tuberculosis* en lesiones bucales de pacientes VIH + y VIH – con tuberculosis mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS.**

- Determinar las características epidemiológicas de los pacientes tuberculosos en cuanto a género, edad, condición social, nivel de instrucción, procedencia y número de personas afectadas en el núcleo familiar.
- Determinar si hay diferencias clínicas e histopatológicas en lesiones bucales de pacientes VIH + y VIH –
- Determinar si los pacientes VIH+ son más susceptible a desarrollar lesiones en cavidad bucal por *M. tuberculosis*.
- Determinar si hay diferencias en las lesiones bucales relacionadas con la carga viral y los niveles de CD4+, CD8.

## MARCO TEÓRICO REFERENCIAL.

### **Antecedentes.**

La TBC es una enfermedad infecciosa curable siempre y cuando el paciente reciba el tratamiento adecuado, sin embargo, muchos casos resultan letales y causan la muerte de dos millones de personas por año. De los ocho millones de casos nuevos que se notifican anualmente, el 95% procede de países en vías de desarrollo. Aunque las regiones más afectadas son Asia y África, en los últimos años, se ha observado un importante aumento de la incidencia y la mortalidad en Europa oriental, después de muchos años de declinación sostenida. <sup>(1)</sup>

La pandemia del SIDA, ha causado serios problemas mundiales en el control de la tuberculosis. La Federación Internacional de Sociedades de la Cruz Roja y de la Media Luna Roja Internacional, declaró que la TBC es la principal causa de muerte de personas con VIH/SIDA, y el VIH representa la mayor amenaza para aquellas personas con TBC latente la cual puede convertirse en TBC activa.

En el caso de las personas con VIH/SIDA, las probabilidades que desarrollen la TBC son 10 veces mayores y

algunos estudios indican que, a su vez, la TBC puede incluso acelerar la evolución natural del VIH/SIDA.

Tanto la TBC como el VIH/SIDA generan una marginación de los pacientes que la padecen, lo cual puede propiciar aún más la propagación, porque muchas personas tienen la impresión de estar obligadas a guardar silencio por miedo a ser rechazadas.

La única manera de detener la propagación de la enfermedad de una persona a otra, es la identificación y diagnóstico a tiempo de la infección así como el control y chequeo de los contactos y la antibioticoterapia supervisada.<sup>(1)</sup>

La OMS declaró Emergencia Mundial y el día mundial de la lucha contra la TBC, como un primer paso en el control diario de la misma. Esto surge debido al número de casos reportados durante los últimos años, Las cifras indican que en el mundo entero hay más de 3.600.000 personas que sufren de TBC y que 22 países contabilizan el 80% de ese total.

La región más afectada es Asia sudoriental donde hay casi 1.400.000 casos; la región del Pacífico occidental ocupa

el segundo lugar y África el tercero. Ahora bien, en los últimos años, los aumentos más alarmantes de las tasas de TBC se registraron en África y Europa oriental <sup>(1,2,11)</sup>

La tasa de mortalidad por TBC en Venezuela más alta registrada en el país, ha sido de 98,6 por 100.000 habitantes correspondiente al año 1939, época en que no se disponía de drogas adecuadas para el tratamiento de la enfermedad, los casos de mortalidad fueron disminuyendo con el ingreso al país de la Estreptomicina. Posteriormente, fueron introducidos nuevos medicamentos a partir de la década de los 50, administrados bajo esquemas supervisados. <sup>(12)</sup> incluyendo Isoniacida, el Acido Para-amino-salicílico, Tiacetazona y Etambutol entre otros, con lo cual se logró disminuir la tasa de incidencia en un 73,8% entre 1951 y 1981.

El número de defunciones registrado en el último quinquenio oscila alrededor de 700 casos por año, con una tasa para el año 2000 de 2,7 por 100.000 habitantes, ocupando el decimonoveno lugar dentro de las veinticinco primeras causas de muertes registradas en el país y la primera causa de muerte producida por un agente infeccioso.

Para el año 2001 de acuerdo al Ministerio de Salud, se notificaron en todo el país 6.110 casos nuevos de todas las



formas, lo que corresponde a una tasa de 24,8x100.000 habitantes, cifra que mantiene la tendencia lineal con leves incrementos en los últimos 5 años. Los estados con tasas de incidencia más altos son en orden descendente: Delta Amacuro, Distrito Capital, Monagas, Portuguesa, Amazonas y Sucre. <sup>(10)</sup>

El 58,3% de los casos de TBC correspondió a personas menores de 44 años mientras que el grupo etáreo de 0-14 años representó el 8,1% . De estos fue la forma pulmonar la más frecuente (84,8%) y el 67,1 de casos fueron bacilíferos. <sup>(10)</sup>

Existe un incremento leve, pero sostenido del número de casos pulmonares en el grupo de 0-4 años lo que sugiere infecciones recientes. La meningitis TBC en el grupo 0-4, años en la última década, tiene una tendencia ascendente, reportándose 6 casos en todo el país, los cuales correspondieron a: Zulia, Guárico y Falcón. <sup>(10)</sup>

El porcentaje de pacientes con VIH/SIDA, a quienes se les diagnosticó TBC fue de: 5,25% siendo el Distrito Capital y el Estado Miranda los estados con mayor número de casos (63,8%) <sup>(10)</sup>

De igual forma, las poblaciones indígenas continúan afectadas por la propagación de la TBC, en sus comunidades, 491 casos nuevos fueron reportados, representando las etnias Wayu, Yucpa, Warao, Panare, Piaroa entre otras, las que presentaron mayor número de sujetos afectados. <sup>(10)</sup>

En cuanto al número de recaídas registradas en el año 2000 este fue de 302, lo cual es inferior a 1999 y 2001. Con respecto a los casos resistentes a los medicamentos antituberculosis entre 1998 y 1999, Venezuela Registra un porcentaje aceptable (0,5%), debido a la baja incidencia de multidrogo-resistente primario. Sin embargo, un alerta sobre casos crónicos anuncia cambios en este sentido, posiblemente relacionada con la escogencia y protocolo de tratamiento administrado. <sup>(10)</sup>

### **Antecedentes históricos.**

La TBC se considera una parte integral de la historia de la medicina, como es sabido es más antigua que la historia registrada. A este respecto se encontraron lesiones óseas raquídeas características de TBC en restos humanos del período neolítico y pinturas en tumbas egipcias, las cuales ponen de manifiesto la presencia de la enfermedad. Los primeros escritos de esta entidad proceden de la India cerca

del 700 AC y la describen como una enfermedad pulmonar crónico. <sup>(13)</sup>

En el año 380 AC Hipócrates efectuó una descripción detallada de un trastorno pulmonar llamado tisis, que en términos literales significa derretirse o fundirse. Aristóteles sugirió que la enfermedad se trasmitía hacia las personas sanas, a través de una sustancia producida por el paciente, que era exhalada hacia el aire.

Esta intuición tuvo que esperar 2000 años para ser confirmada por Roberto Koch. El médico griego Galeno describió en Roma los principios del tratamiento que no se modificaron en el siguiente milenio e incluyeron: el reposo, la eliminación de la tos, emplastos sobre el tórax, astringentes para la hemorragia, gargarismo de ácido tánico con miel, opio para la tos violenta e insistencia sobre una dieta adecuada. <sup>(13)</sup>

Durante el renacimiento hacia el año 1478, Andres Vesalio publicó la primera obra precisa de Anatomía Humana realizando incisiones reales y describió en los pacientes en consunción (consumo) lesiones cavitarias en los pulmones. Doscientos años después el holandés Francisco Silvio describió pequeños nódulos duros en los pulmones de los

individuos que tenían consunción que llamo tubérculos y, emitió la teoría de que la tisis se desarrollaba a partir de úlceras (cavidades) dentro del pulmón.<sup>(13)</sup>

A partir del siglo XVII se empieza a señalar en los registros sobre salud pública que la consunción era la tercera causa de muerte. De esta forma, en 1667 se atribuyeron en Londres 25% de las defunciones a esta enfermedad. Hacia 1800 se consideraba que la misma era producto de un trastorno hereditario, mientras que otros observadores más concienzudamente señalaban que esta tenía un carácter más bien de transmisibilidad, convenciendo a muchos gobiernos para adoptar medidas de cuarentena, a fin de proteger al resto de la población no afectada. <sup>(13)</sup>

Es en 1839 que Johann sugirió el nombre de tuberculosis, para definir esta enfermedad, Posteriormente en 1861, Oliver Wedell Colmes empleó el nombre de la Peste blanca por el efecto devastador de la TBC en la sociedad, descubriendo en 1865 que el pus inyectado de pacientes con tisis en los pulmones de conejos desarrollaban tubérculos.

En paralelo al nacimiento de la bacteriología, este investigador preparó el camino para el informe histórico de Roberto Koch en 1882, en el que describió por primera vez a

*M. tuberculosis* y definió a la TBC como una enfermedad infecciosa, al cumplir esta entidad con sus postulados.<sup>(13,14,15)</sup>

Durante el siglo XIX se relacionó la tuberculosis con un sentido cultural y romántico. Esto quizás porque afligía a poetas, actores y escritores como, Querrás, Thoreau, las hermanas Brontë, Chopin, Byron, entre otros.

Ellos experimentaron consunción que era un signo de distinción y la palidez producida por la enfermedad era un signo de belleza.

Los pintores previos a Rafael romantizaron a las heroínas asténicas, pálidas y etéreas y en óperas como La Bohemia y la Traviata se celebraba la tragedia de la muerte prematura de Mini y Violeta por consunción.<sup>(13)</sup>

En 1853, el régimen de tratamiento antiflogístico o conirritante en 1853 resumido por Jhon Bennet de la Universidad de Edimburgo, incluía antimónicos, mezclas para la tos y opiáceos, sanguijuelas aplicadas en el tórax y en ocasiones sangrados generales, ácido sulfúrico para calmar la diaforesis, astringentes, contra irritantes y hacia el final de la enfermedad vino y estimulantes.

En vista que esta práctica era insatisfactoria, Hernam

Brehmer estableció en 1854 el primer sanatorio para tuberculosos en Gorbisdorf, Alemania. Su régimen estaba constituido por una dieta nutritiva ejercicio suave e hidroterapia. <sup>(13)</sup>

Más tarde, Dettweiler modificó la dieta insistiendo en que el paciente debía ingerir 6 comidas diarias y recibir aire fresco de 8 a 12 horas durante el día. Este tratamiento resultó tan favorecedor que a nivel mundial se instalaron sanatorios para el tratamiento de la TBC. En 1885 se inauguró en los Estados Unidos: el Sanatorio, Saranac Lake Cottage Sanatorium que contaba con un laboratorio bacteriológico y un centro radiográfico y aquí se estableció una cruzada contra la TBC.

En 1900 se inicio el tratamiento con colapsoterapia estimulada por la observación que el neumotórax espontáneo producía a menudo cicatrización de las lesiones. Los cirujanos consiguieron mejores resultados con el neumotórax extrapleural, que consistía en separar la pleura parietal de la pared torácica y llenar la cavidad de grasa, cera de parafina o esferas inertes. <sup>(13)</sup>

La Asociación Nacional contra la Tuberculosis, se estableció en Estados Unidos en 1904 para promover la

percepción del público sobre la causa, los métodos de transmisión, así como los nuevos tratamientos para esta entidad y para obtener fondos a fin de sufragar los gastos de salud pública, requeridos para descubrir y tratar los pacientes con la enfermedad, independientemente de su capacidad financiera.

La prueba cutánea de tuberculina constituyó un aporte de Florence Seibert, los que permitió percatarse de la gran cantidad de personas que habían quedado infectadas por *M. tuberculosis* y no tenían prueba de enfermedad activa, y que otro tanto de los casos eran de personas que presentaban una reactivación de una enfermedad previa.<sup>(13)</sup>

En 1944, Albert Schatz prueba en seres humanos el uso de la estreptomina con buenos resultados. Paralelo a este tratamiento Karl-Gustav Rosdahl trabajaba en la modificación de la aspirina para desarrollar el PAS (ácido paraaminosalicílico), sin embargo el éxito y la victoria no duraron mucho tiempo, debido a la capacidad de *M. tuberculosis* de mutar y hacerse resistente a los medicamentos.<sup>(16)</sup>

En 1949 se efectuaron estudios de manera simultánea en

Estados Unidos e Inglaterra para hacer frente al problema de la resistencia farmacológica. PAS y Estreptomina se combinaron para saber si el tratamiento con fármacos múltiples alteraría la incidencia de la resistencia a los fármacos.<sup>(17)</sup>

Después de 6 meses se observaron resultados favorables con poca fármaco resistencia, el fracaso de los tratamientos fue lo que provocó la reflexión una y otra vez sobre las medidas terapéuticas, ya que estos dos medicamentos producían en algunos casos una cura temporal.

En 1951 tres compañías farmacéuticas (Squibb y Hoffman, y Roche en Alemania), reportaron los resultados logrados con la isoniacida contra la tuberculosis. El éxito radicó en la capacidad de la isoniacida de penetrar en los tejidos y a su actividad bacteriológica, contra los microorganismos intra y extracelulares.

Para el decenio de 1970 la rifampicina se introduce como medicamento en la terapéutica antimicrobiana contra la TBC. Los pronósticos de controlar y erradicar la enfermedad eran prometedores y cuando se generó un falso sentimiento de seguridad, que indicaba que la TBC pasaría a ser descrita



por los libros de historia, comienzan nuevamente a incrementarse el número de casos. Ya no era la fármaco resistencia la causa del fracaso, era un nuevo enemigo, el descuido de los programas de atención y el Virus de Inmunodeficiencia Humana con estadísticas lamentablemente, nada alentadoras para los próximos decenios. <sup>(18)</sup>

### **Características generales de *Mycobacterium tuberculosis*.**

La familia *Mycobacteriaceae* incluye el Género *Mycobacterium* que se encuentra conformado por bacilos ligeramente curvos o rectos, que a veces se ramifican o forman filamentos, los cuales difieren de los actinomicetos en que se fragmentan con facilidad, en bacilos y cuerpos cocoides. Son aeróbios y algunos catalasa positivos. <sup>(19,20)</sup>

Las micobacterias crecen muy lentamente y deben ser incubados durante 2 a 40 días tras su inoculación en un medio complejo solidificado para formar colonias visibles. Sus paredes celulares son muy ricas en contenido lipídico y contienen ceras con ácidos micólicos de 60 a 90 átomos de carbono. Estos son ácidos grasos complejos con un grupo hidroxilo en el carbono ∞.

La presencia de ácidos micólicos y de otros lípidos por

fuera de la capa de peptidoglucano hace que las micobacterias sean ácido-alcohol-resistentes (la fuscina básica no puede ser eliminada de la célula por un tratamiento con alcohol y ácido). La extracción del lípido de la membrana con etanol alcalina destruye la ácido-alcohol-resistencia. <sup>(19,20)</sup>

Aunque algunas micobacterias son saprófitos de vida libre, son mejor conocidas como patógenos de animales, *M. bovis* causa TBC en ganado bovino, otros rumiantes, y en primates.

Debido a que esta bacteria puede producir TBC en los seres humanos, se realizan pruebas anuales de detección de la enfermedad en el ganado lactéico; la pasteurización de la leche destruye el patógeno y brinda una protección adicional contra la transmisión de la enfermedad. Pero la fuente principal de la TBC humana es *M. tuberculosis*. <sup>(19,20)</sup>

*M. tuberculosis*, es un bacilo recto ligeramente curvo y con extremos redondeados, poseen una anchura que oscila entre de 0.3 a 0.6  $\mu\text{m}$  por 4 de  $\mu\text{m}$  de largo, no se pueden clasificar como Gram positivos o Gram negativos. Su característica fundamental en cuanto a su tinción es la resistencia a la decoloración con alcohol independientemente del yodo utilizado, es por eso que son denominados ácidos resistentes. <sup>(19,20,21,22,24)</sup>.

La técnica de Ziehl-Neelsen es el método de tinción adecuado para la identificación de las micobacterias. En cuanto a sus necesidades de oxígeno son aerobios, el crecimiento se incrementa con CO<sub>2</sub>, y el tiempo de duplicación del bacilo TBC dura alrededor de 18 horas .<sup>(19,20,24)</sup>

Las micobacterias contienen gran cantidad de lípidos, los cuales incluyen ácido micólico, ceras y fosfátidos. En el interior de las células se unen principalmente a proteínas y polisacáridos. El dipéptido muramil que procede de los peptidoglucanos forma complejos con el ácido micólico y puede generar la formación de granulomas. Por su parte los fosfolípidos inducen necrosis caseosa, los polisacáridos pueden producir hipersensibilidad de tipo inmediato y pueden servir como antígenos en las reacciones con el suero de personas infectadas.<sup>(19,20,21,24)</sup>

### **Inmunopatología de la infección por Micobacterias.**

Las infecciones por micobacterias al igual que otras producidas por bacterias intracelulares se caracterizan por ser procesos crónicos. En este tipo de infecciones la respuesta inmunológica celular juega un papel importante en la erradicación de estas bacterias. Sin embargo, en muchos

casos puede ser responsable de la severidad y perpetuación del daño tisular.

Ante la respuesta del organismo, las micobacterias despliegan mecanismos para evadir la actividad inmunológica del organismo que explica la cronicidad, la difícil erradicación de estos organismos y baja eficacia de las vacunas. <sup>(24,25)</sup>

Las infecciones por micobacterias intracelulares se caracterizan por invasión celular, actividad de la maquinaria biosintética de las células invadidas y la baja eficacia de los mecanismos de defensa dependientes de anticuerpos y de otros efectores no específicos de la respuesta humoral. <sup>(24,25)</sup>

Debido a lo anterior, la principal línea de defensa contra estas infecciones son los linfocitos T y los macrófagos. Estas células son responsables de la reacción de hipersensibilidad retardada en los tejidos afectados y de la formación de los granulomas. <sup>(22,23,24,25)</sup>

La lesión tisular en estas infecciones es determinada fundamentalmente por la respuesta inmunológica del hospedero, cuando no se pueden eliminar las bacterias intracelulares, se produce un estado de infección crónica.

Entre algunos de los mecanismos antibacterianos que intervienen en las infecciones intracelulares se destacan los siguientes:

- 1) Producción de intermediarios reactivos del oxígeno ( $O_2$ ,  $H_2O_2$ ,  $1O_2$ , y  $OH$ ) y del nitrógeno (óxido nitroso-NO-y peroxinitritos-ONOOH-) por los polimorfonucleares y los macrófagos, responsables de la oxidación de los lípidos y de las proteínas bacterianas que conducen a la muerte de estos microorganismos intracelulares
- 2) Acidificación del fagosoma (Vesícula intracelular que contiene a los microorganismos fagocitados) que contribuye a la destrucción de las bacterias intracelulares
- 3) Fusión de los fagosomas con lisosomas que permite poner en contacto la Enzimas Líticas, los polipéptidos (defensinas) y las proteínas básicas lisosomales con los microorganismos fagocitados para degradarlos
- 4) Reducción en las concentraciones de hierro y triptófano necesarios para la supervivencia y replicación de las bacterias.<sup>(22,23,24,25,26,27)</sup>

## **Respuesta de los microorganismos para evadir la respuesta inmunológica del hospedero.**

Los microorganismos tienen la capacidad de desarrollar mecanismos para evadir la respuesta del hospedero, que provoca la perpetuación de los mismos. Esta evasión explica la baja eficacia de las vacunas desarrolladas para evitar la enfermedad, algunas estrategias son:

1) Evasión de los intermediarios reactivos del oxígeno. Las micobacterias y gérmenes intracelulares pueden entrar a los macrófagos a través de los receptores del complemento (CR,CR3), de esta manera evitan la activación del estallido respiratorio y la formación de radicales de oxígeno. Las bacterias también pueden producir enzimas como la superóxido dismutasa y la catalasa, que inactivan respectivamente el radical superóxido ( $O_2^-$ ) y el peróxido de oxígeno ( $H_2O_2$ ).<sup>(27)</sup>

2) Supervivencia dentro de los fagosomas, al inhibir la fusión de los lisosomas y evitar así la degradación enzimática. Con esta estrategia también se altera el procesamiento antigénico necesario para que el sistema inmunológico reconozca las células infectadas. Además, algunos de estos

microorganismos, como *M. tuberculosis*, pueden producir moléculas alcalinas, como el amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), que neutralizan el pH ácido del interior del fagosoma, que interviene en la destrucción bacteriana y en la activación de las enzimas lisosomales. Las paredes ricas en lípidos de las micobacterias las hace particularmente resistentes a la acción de las enzimas lisosomales.<sup>(27)</sup>

3) Salida del fagosoma e invasión del citoplasma para evitar la degradación enzimática.

4) Reducción de la expresión de moléculas que participan en la presentación antigénica como el CD1A, como se ha observado en ensayos con *M. tuberculosis*.<sup>(27)</sup>

### **Papel de las células del sistema inmunológico en las infecciones por micobacterias.**

Las células responsables de erradicar a las micobacterias y otras bacterias intracelulares son las que corresponden al sistema fagocítico mononuclear, linfocitos, y las células citotóxicas naturales (células NK).<sup>(25,26,27)</sup>

Los macrófagos actúan como primera línea de defensa no específica. Estas células producen intermediarios reactivos

del oxígeno y del nitrógeno, defensinas y citocinas que contribuyen al proceso de inflamación y a la cicatrización (Interleucina 1-IL-1-, factor de necrosis tumoral alfa –TNF $\alpha$ -, factor transformante del crecimiento beta –TGF $\beta$ - y quimicinas). También contribuyen en la destrucción enzimática de las micobacterias dentro de los fagosomas y en la presentación de los antígenos a los linfocitos T. <sup>(27)</sup>

Otra línea de defensa inespecífica la constituyen los polimorfonucleares, capaces de producir especies reactivas del oxígeno y mediadores proinflamatorios como el TNF $\alpha$ , la IL-1 $\beta$  y la proteína inhibitoria del macrófago MIP-1. <sup>(27)</sup>

Los linfocitos T son células mediadoras de la inmunidad específica en las infecciones por micobacterias y juegan un papel importante en el control de estas enfermedades. Una muestra de esto es el aumento de la incidencia de estas infecciones en los pacientes con Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida o con otras inmunodeficiencias de células T. Además, varias subpoblaciones de linfocitos T (CD4+  $\alpha\beta$ , CD8  $\alpha\beta$ , CD4-/CD8-Y $\delta$ ) participan en la eliminación de las micobacterias. <sup>(25,26,27)</sup>



## **Patogénesis.**

La tuberculosis pulmonar se adquiere por vía aérea a través de una persona enferma que expulsa gotas cargadas de bacilos, producto de un estornudo, al toser, cantar, reirse o hablar. Estas personas son denominadas fuente de infección o bacilífero. Las gotas expulsadas por el paciente bacilífero son denominadas **GOTITAS DE FLUGGE**, las gotas se evaporan rápidamente, pero los residuos siguen siendo infectantes y son denominados núcleos de gotas de Weels.<sup>(28)</sup>

En el momento que una pequeña cantidad de gotas de Flugge (1-3) es inhalada, estas pasan rápidamente a los espacios alveolares, donde son fagocitadas por los macrófagos alveolares, siendo la mayoría destruidas inmediatamente por macrófagos previamente activados, probablemente, por partículas de polvo y otras sustancias que han sido ingeridas a nivel de los alvéolos, así se establece una lesión primaria.

Se necesitan de 20-200 unidades bacilíferas para que la infección se establezca, esta lesión primaria proporciona al hospedero, suficiente inmunidad para prevenir subsecuentes lesiones.<sup>(28,29)</sup>

Cuando los bacilos altamente virulentos son fagocitados por macrófagos no activados, se multiplican intracelularmente y lo destruyen. La actividad de la primera línea de defensa constituida por los macrófagos, ocurre por estimulación de las linfoquinas producidas por los linfocitos T, que han sido atraídos hacia la zona de formación del tubérculo. <sup>(29)</sup>

Las linfoquinas son liberadas cuando a los linfocitos se les presentan antígenos en receptores específicos. En las lesiones tuberculosas la producción de linfoquinas es desencadenada por la tuberculina u otros antígenos del bacilo. <sup>(27)</sup>

La hipersensibilidad celular tuberculínica se manifiesta por la acumulación de linfocitos y macrófagos, determinada en parte por linfoquinas quimiotácticas de los linfocitos T. <sup>(27)</sup>

Producto de la inmunidad celular y de la hipersensibilidad de tipo retardada, los macrófagos y los linfocitos se acumulan rápidamente y, pueden activarse donde quiera que se ubiquen los bacilos de *M. tuberculosis*, y tubérculo-proteína existente en los tejidos. Este proceso es el que induce la formación del tubérculo y a su vez permite destruir los bacilos que no fueron procesados por los macrófagos alveolares.

La reinfección exógena puede ser detenida por este proceso y así, evitar la progresión hematógena hacia los pulmones, bazo, hígado y riñones. Esto permite el control de la reinfección endógena. <sup>(27,29)</sup>

El proceso de licuefacción del caseúm es la respuesta que causa el mayor daño en el organismo del adulto con TBC, la caseificación está relacionada con la hipersensibilidad de tipo retardada.<sup>(26,27)</sup> La licuefacción ocurre cuando el material caseoso se reblandece, este material licuado constituye un medio de cultivo excelente para el crecimiento del bacilo, permitiendo un crecimiento extracelular en grandes cantidades.<sup>(27,29)</sup>

Cuando el paciente bacilífero está curado bien sea como consecuencia de la respuesta inmune o por el empleo de agentes antimicrobianos o ambos, los pulmones pueden no estar completamente libres de bacilos, permaneciendo estos en estado latente por años, por lo general en focos caseosos que bajo ciertas condiciones como tratamiento inmunosupresor, deficiencias nutricionales, Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida, son capaces de reactivarse y multiplicarse nuevamente.<sup>(20,21,22,23,24,25,26,27,28,29)</sup>

La instauración del bacilo en los pulmones se encuentra relacionada con ciertos factores como virulencia, cantidad, factores inherentes al hospedero, (defensas específicas e inespecíficas), factores genéticos, ambientales y nutricionales, siendo los factores de mayor importancia, la edad y la proximidad del contacto con personas infectadas con la enfermedad activa así como la carga bacilar inhalada.<sup>(20,21,22,23,24,25,26,27,28,29)</sup>

### **Factores genéticos en humanos en la susceptibilidad a la tuberculosis.**

A pesar de la intensa búsqueda por encontrar variaciones genéticas asociadas la condición natural de desarrollar una TBC activa, algunos de los factores descritos hasta ahora han sido:

#### **HLA.**

Varios estudios han buscado asociaciones entre haplotipos de HLA y la TBC, habiendo sido demostrada esta en asiáticos, especialmente en la India, pero no así en otras poblaciones. Otros estudios como el realizado en Camboya mostró una relación, significativa de la TBC y HLA-DQB1\*0503. Además, usando la estructura cristalográfica de

la molécula MHC clase II, se demostró que este haplotipo tiene un cambio en un aminoácido en el bolsillo donde se enlazan los antígenos, lo cual explica porque no es capaz de aceptar algunos antígenos de TBC.<sup>(30)</sup>

### **Receptor de interferón gamma**

Ratones que carecen de la posibilidad de producir IFN $\gamma$  y son infectados por *M. tuberculosis*, mueren mucho más rápido que los animales silvestres. Su importancia en la defensa humana contra las micobacterias, fue demostrada en estudios con niños que presentaron infecciones graves con este microorganismo y que tenían una mutación en el receptor para IFN $\gamma$ . Aunque es poco frecuente esta mutación, de presentarse parece aumentar la susceptibilidad ante la TBC.<sup>(30)</sup>

### **Receptor para la vitamina D.**

La presencia de polimorfismo en el receptor para vitamina D, ha demostrado tener un efecto importante sobre los macrófagos, induciendo la producción de intermediarios reactivos de nitrógeno, y disminuyendo el crecimiento intracelular de *M. tuberculosis*.<sup>(30)</sup>

### **Estudios en animales-Nramp1.**

Diversas investigaciones han permitido caracterizar un gen importante en la susceptibilidad de ratones a la infección intravenosa con BCG. Se clonó el gen homólogo humano a este gen, Nramp1, el cual fue analizado en relación a su asociación con pacientes con TBC, y se encontró una asociación débil con algunos polimorfismos, siendo un determinante de susceptibilidad en máximo 2% de los casos de TBC.<sup>(30)</sup>

### **Análisis del genoma.**

Algunos trabajos han permitido conocer la existencia de cinco genes, incluyendo Nramp1, que están ligados con a la susceptibilidad de infecciones intracelulares. Se ha podido determinar la asociación para una región que contiene al gen de NOS2, que produce óxido nítrico, el cual ha sido implicado en el mecanismo de defensa contra TBC y para un sitio con genes que codifican para citocinas, involucradas en la activación y migración de macrófagos, dentro de las cuales se incluyen MCP-1<sup>(30)</sup>

## **Tuberculosis Pulmonar.**

### **La Primoinfección.**

El contacto de un organismo virgen con el *M tuberculosis*, produce un viraje de la tuberculina negativa a positiva, cuando el bacilo llega al alvéolo se produce una neumonía focal como respuesta inflamatoria inmediata no específica. Esta se caracteriza por un exudado seroso y leucocitos poli morfonucleares, que al cabo de 48 horas aproximadamente, son reemplazadas por macrófagos.<sup>(25,26,28,31)</sup>

Algunos bacilos son llevados intermitentemente por los linfáticos a los ganglios hiliares, la lesión en el parénquima pulmonar y en el ganglio hiliar recibe el nombre de complejo primario de Ghon.

Mientras el complejo primario está activo, los bacilos son transportados por las corrientes sanguíneas y sembradas en otros órganos, estableciéndose focos de infección a distancia, los cuales pueden dar manifestaciones clínicas o bien más tarde al reactivarse, causar tuberculosis pulmonar extrapulmonar.<sup>(25,26,28,31)</sup>

Durante la diseminación linfohematógena probablemente

los bacilos alcanzan todos los tejidos del organismo, pero las lesiones se producen solamente en un limitado número de sitios, los cuales tienen una alta tensión tisular de oxígeno. Algunos de estos sitios son vértices de los pulmones, suprarrenales, épifisis de los huesos en crecimiento, hígado, bazo, médula ósea, ganglios, pleura, pericardio, peritoneo, meninges, riñón, genitales, sepsis anal, espondilodiscitis, bursitis tuberculosa, etc. <sup>(32,33,34,35,36,37)</sup>

El período de incubación es de 4 a 8 semanas desde la inoculación a la aparición de fiebre moderada, malestar e hipersensibilidad tuberculínica, los síntomas a menudo desaparecen sin tratamiento, debido a la aparición de sensibilidad específica. <sup>(24,25,25,28,38)</sup>

Una minoría de casos puede manifestarse como un síndrome febril, eritema nodoso, conjuntivitis flictenular. En niños menores de 5 años con primoinfección pulmonar, hay gran probabilidad de cambios radiológicos visibles. El complejo primario puede ser único o múltiple, en diferentes partes del pulmón o pulmones con su adenopatía regional correspondiente. <sup>(25,26,40,41)</sup>

La TBC miliar y la TBC meníngea son las complicaciones más graves de la enfermedad y casi siempre fatales si no se



instala tratamiento específico, aquí radica la importancia del diagnóstico precoz. Ambas complicaciones aparecen en el primer año de iniciada la infección y en el 4% de los niños infectados menores de 5 años de edad. Otros factores predisponentes son las infecciones inter-recurrentes; estreptocóccicas, sarampión, VIH, leucemias, y drogas inmunosupresoras.<sup>(25,26,42,43,44)</sup>

La TBC pulmonar primaria aparece consecutivamente a la infección inicial por el bacilo de Koch. En las regiones con gran prevalencia de esta entidad, esta forma suele afectar a los niños y a menudo se localiza en los campos medios e inferiores de los pulmones.<sup>(45)</sup>

En los niños y personas inmunodeprimidas, como en los casos de desnutrición o de infección por VIH, la TBC pulmonar primaria puede agravarse rápidamente y producir manifestaciones clínicas, la lesión inicial aumenta de tamaño y puede evolucionar de distintas maneras mencionadas anteriormente.<sup>(45)</sup>

Una manifestación frecuente es el derrame pleural, que se debe a la penetración en el espacio pleural, de los bacilos procedentes de un foco subpleural adyacente. En los casos

graves, la lesión primaria aumenta rápidamente de tamaño, se necrosa en su parte central y forma rápidamente una cavidad (TBC primaria progresiva). <sup>(41,45)</sup>

En los niños pequeños, la TBC casi siempre se acompaña de adenopatías hiliares o mediastínicas que aparecen tras la propagación de los bacilos desde el parénquima pulmonar, a los vasos linfáticos. Los ganglios afectados y aumentados de tamaño pueden comprimir los bronquios, obstruyéndolos y produciendo seguidamente un colapso segmentario o lobular. Si la obstrucción es parcial puede aparecer un enfisema obstructivo, posiblemente seguido de la formación de bronquiectasias. <sup>(45)</sup>

La diseminación hematógena, un acontecimiento frecuente y muchas veces asintomático, puede ser la manifestación más grave de la infección primaria por *M. tuberculosis*. Los bacilos pasan desde la lesión pulmonar o los ganglios linfáticos al torrente sanguíneo y con ello se diseminan por varios órganos, donde producen lesiones granulomatosas. <sup>(41,45)</sup>

### **Tuberculosis posprimaria.**

También es conocida como TBC secundaria o de tipo adulto. A pesar de llamarse del adulto se le puede encontrar

a cualquier edad, incluyendo la adolescencia y la niñez; la forma posprimaria se debe a la reactivación endógena de una infección tuberculosa latente y suele localizarse en los segmentos apicales y posteriores de los lóbulos superiores, donde la gran concentración de oxígeno favorece el crecimiento de las micobacterias. (25, 26,45,46)

El grado de compromiso varía mucho, desde pequeños infiltrados hasta un proceso cavitario extenso, al formarse las cavernas, su contenido necrótico y licuado acaba pasando a las vías respiratorias, dando lugar a las lesiones parenquimatosas satélites que también pueden acabar cavitándose, la confluencia de varias lesiones, afecta masivamente un segmento o lóbulo pulmonar. El resultado es una neumonía tuberculosa y se ha señalado que un tercio de los pacientes fallecen pocas semanas o meses después del comienzo; otros experimentan un proceso de remisión espontánea o siguen una evolución crónica cada vez más debilitante, las lesiones se vuelven fibrosas e inclusive pueden calcificarse acompañadas de cavitaciones en otras zonas de los pulmones, los pacientes que padecen la forma crónica siguen expulsando bacilos infectantes. (45,46)

Las primeras fases evolutivas de la enfermedad presenta

manifestaciones clínicas inespecíficas e insidiosas, consisten principalmente en fiebre, sudores nocturnos, pérdida de peso, anorexia, malestar general y debilidad, tos la cual al principio puede ser seca y después se acompaña de expectoración purulenta, con estrías de sangre en el esputo, en algunos casos hay hemoptisis masiva como consecuencia de la erosión de un vaso totalmente permeable situado en la pared de una caverna. <sup>(45,46)</sup>

Consecutivamente a la rotura de un vaso dilatado en una caverna (Aneurisma de Rasmussen) o a la formación de un aspergiloma, se presenta dolor torácico tipo pleurítico, disnea en las formas prolongadas de la enfermedad y Síndrome de Dificultad Respiratoria Del Adulto, (SDRA).

Los signos físicos no son contributarios, los datos hematológicos más frecuentes son la anemia ligera y leucocitosis. <sup>(25,45,)</sup>

En países con alta prevalencia de TBC, la mayoría de las formas de esta enfermedad proviene, en primer lugar, de las siembras posprimarias tempranas, pulmonares o extrapulmonares, que se presentan dentro de los primeros años del primer contacto con el bacilo y enseguida de

reinfecciones exógenas, que son las que ocurren en individuos previamente infectados. En cambio en países donde la TBC está siendo controlada y por lo tanto el número de enfermos contagiosos es reducido, la mayoría de los casos nuevos proviene de reactivación endógena, a partir de focos latentes derivados de siembras posprimarias ocurridas muchos años antes.<sup>(47,48)</sup>

### **Tuberculosis Extrapulmonar.**

#### **Adenitis tuberculosa.**

La Adenitis cervical y submentoniana, también llamada escrofulosis, era muy frecuente antes de la pasteurización de la leche de vaca. Su agente causal *M. bovis*, que producía un foco primario gingival o amigdalino, con su correspondiente adenopatía regional a nivel de los ganglios cervicales. Se observó que esta infección, actuando como una especie de vacunación natural, tendía a proteger contra el subsecuente desarrollo de una TBc pulmonar, lo que se conoce como la “ley de Marfán”.

Actualmente, la mayoría de las adenitis tuberculosas son una manifestación posprimaria de la infección por *M. tuberculosis* variedad humana, ya sea por extensión desde los

ganglios intra torácicos o por diseminación linfo-hematógena.

(45)

Predomina más en mujeres y en algunas razas (asiáticos e indios americanos). En la raza blanca es una complicación cada vez más rara. Curiosamente en los niños de países desarrollados especialmente en menores de 5 años, se debe más frecuentemente a infecciones con micobacterias no tuberculosas, incluso hay una que ha sido bautizada como *Mycobacterium scrofulaceum*.<sup>(45)</sup>

La adenitis tuberculosa se observa en más del 25% de los casos, es la forma ganglionar que afecta sobre todo a pacientes VIH+.

La TBC ganglionar produce aumento de volumen de los ganglios linfáticos y dolor principalmente en la región cervical y supraclavicular, al comienzo los nódulos suelen ser pequeños, pero después pueden crecer y formar fístulas por donde drena el material caseoso, habitualmente este proceso lo padecen los pacientes infectados con VIH, en algunas ocasiones coincidiendo con las lesiones pulmonares.<sup>(45,49)</sup>

### **Tuberculosis pleural, Pleuresía tuberculosa.**

Las lesiones de la pleura son frecuentes en la TBC

primaria y, son producto de la penetración de algunos bacilos en el espacio pleural. Según el alcance de la respuesta del hospedero, el derrame puede ser escaso, inadvertido o copioso, con dolor torácico y producir fiebre y dolor de tipo pleurítico. Es frecuente en niños mayores, adolescentes y adultos jóvenes, sin embargo puede también registrarse fuera de estos grupos de edades. Durante años se pensó que esta entidad era una manifestación de hiperergia frente a las proteínas de *M. tuberculosis* y, estudios de seguimiento establecieron que más del 50% de los casos de personas con pleuresía de las conocidas como frigor, desarrollaban una TBC pulmonar dentro de los 5 años siguientes al compromiso pleural. <sup>(50,51)</sup>

Una radiografía de tórax revela el derrame a la exploración física, observándose los signos de un derrame pleural con la percusión y abolición del murmullo vesicular. <sup>(50,51)</sup>

El color del líquido es amarillo pajizo o hemorrágico, es un exudado con un componente de proteínas mayor del 50% en el suero, la glucosa es normal o baja, el pH suele ser de 7,2 y habitualmente contiene de 500 a 2500 leucocitos/ml. Hay predominio inicial de neutrófilos con aumento de células

mononucleares, recuento diferencial de células con predominio de linfocitos, Adenosina deaminasa ADA elevada. La prueba de Bacterias Ácido Resistentes (BAR) rara vez muestra bacilos visibles, sin embargo, los cultivos para *M. tuberculosis* son positivos.

Para su diagnóstico es necesario una biopsia pleural con aguja donde se encuentran granulomas y cuyo cultivo resulta positivo hasta en un 70% de los casos. Esta forma de TBC pleural responde favorablemente a los antimicrobianos.<sup>(45,50,51)</sup>

La reacción de la tuberculina mediante el empleo de los derivados proteínicos purificados (PPD) puede ser de algún valor, aunque la mayor parte de las veces es difícil de interpretar, es positiva en la mayoría de los casos, lo que en esta edades sólo indica infección TBC o el recuerdo de una vacunación BCG, pero no necesariamente enfermedad, por otra parte, en los pacientes con infección aguda o muy debilitados suelen ser negativos, por lo menos en las primeras semanas de evolución del derrame.<sup>(50,51)</sup>

El empiema tuberculoso es una complicación menos frecuente de la TBC pulmonar, suele ser producto del



rompimiento de una caverna, que permite el paso de gran cantidad de microorganismos al espacio pleural o la formación de una fístula broncopleural a partir de una lesión pulmonar. (50,51)

En la radiografía de tórax puede aparecer un pnoneumotórax con un nivel aire –líquido derrame espeso y purulento, rico en linfocitos y es frecuente que el examen de BAR realizado de este derrame sea positivo así mismo el cultivo, la medicación y el drenaje quirúrgico son necesarios como tratamiento, la regresión de una pleuresía tuberculosa con o sin tratamiento es bastante lenta y variable, pudiendo demorar la reabsorción del exudado entre pocas semanas hasta varios meses.

La cronicidad del empiema puede producir fibrosis pleural intensa acompañado de insuficiencia respiratoria restrictiva. (45,52)

### **Tuberculosis de las vías respiratorias superiores.**

Esta forma de TBC casi siempre representa una complicación de la tuberculosis pulmonar cavitaria avanzada y pueden afectar a la laringe, la faringe y la epiglotis.

Los síntomas consisten en ronquera y disfagia, además de tos y expectoración crónica.

Los signos dependen de la localización, pudiendo verse úlceras en la laringoscopia. El esputo suele contener (BAR), sin embargo a veces se necesita una biopsia para confirmar el diagnóstico. El cáncer puede causar manifestaciones parecidas, pero no hay dolor. <sup>(45)</sup>

### **Tuberculosis genitourinaria.**

Este tipo de TBC representa alrededor del 15% del total de todos los casos extrapulmonares, la afección puede producir daño a cualquier tramo del aparato genitourinario y suele deberse a la siembra hematológica que sigue a la infección hematológica primaria.

Produce síntomas predominantemente locales siendo más frecuentes la poliuria, la disuria, la hematuria y el dolor en la fosa renal, sin embargo el paciente puede presentarse asintomático y sólo se descubre después de un daño grave de los riñones, en el 90% de los casos el análisis de orina es anormal, existiendo piuria y hematuria. El hallazgo de piuria con cultivos negativos en una orina ácida debe hacer

sospechar de TBC, la pielografía intravenosa ayuda a establecer el diagnóstico, los signos sospechosos son las calcificaciones.

Se obtienen buenos resultados diagnósticos (90%) cultivando tres muestras de la primera orina de la mañana, las estreches uretral intensa puede producir hidronefrosis y lesiones renales.<sup>(52)</sup>

La TBC genital se diagnóstica más a menudo en las mujeres que en los varones, en las mujeres afecta a las trompas de Falopio produciendo sapinguitis, y al endometrio, pudiendo causar esterilidad, aunque se ha comunicado casos de embarazos normales o ectópicos con el empleo precoz de corticoesteroides asociados a la quimioterapia específica, dolores pélvicos y trastornos menstruales, posee una asociación infrecuente con TBC renal, en algunas ocasiones el cuadro clínico se puede presentar de una manera crónica y asintomática.<sup>(52)</sup>

El diagnóstico se basa en el cultivo del flujo menstrual y en la biopsia del endometrio, que es positiva en alrededor del 80% de los casos.<sup>(52)</sup>

La TBC en varones afecta el epidídimo, donde induce la

formación de una masa ligeramente dolorosa que puede abrirse y drenar a través de una fístula, esto puede ir acompañado de orquitis y prostatitis. En casi la mitad de los casos la TBC en el tracto urinario hay también lesiones de las vías urinarias, El tratamiento médico es suficiente para curar la mayoría de los enfermos. <sup>(45, 52,53)</sup>

### **Peritonitis tuberculosa.**

Este cuadro puede ser manifestación relativamente temprana de las siembras posprimarias de la enfermedad o deberse a la reactivación más tardía de un foco abdominal por muchos años latente. También puede deberse al vaciamiento en la cavidad peritoneal de un ganglio caseoso vecino.

Clínicamente se presenta dolor y aumento de volumen abdominal que al examen físico demuestra la presencia de ascitis, el líquido ascítico contiene exudado linfocitario con ADA elevado, en algunas ocasiones los síntomas sistémicos son inespecíficos, el cultivo del líquido ascítico frecuentemente positivo, la biopsia se realiza por laparoscopia o quirúrgica. <sup>(52,54)</sup>

### **Tuberculosis osteoarticular.**

Este tipo de TBC es responsable del 10% de los casos de enfermedad extrapulmonar, especialmente en países en desarrollo. <sup>(45,52,55)</sup>

La patogenia de la tuberculosis osteoarticular está relacionada con la reactivación de focos hematógenos o con una diseminación procedente de los ganglios linfáticos paravertebrales y de los ganglios linfáticos paravertebrales próximos. Las articulaciones que soportan el peso (columna, caderas y rodillas, por este orden) son las que más afectan.

La TBC vertebral, enfermedad de Pott o espondilitis tuberculosa suele afectar a dos o más cuerpos vertebrales adyacentes, en los niños la columna vertebral alta, en adultos la región dorsal baja y las vértebras lumbares superiores, en casos avanzados el colapso de las vértebras provoca una cifosis o giba, el peligro de compresión medular y paraplejia son consecuencias de un proceso en el cual hay formación de tejido de granulación, acumulación de pus por debajo del ligamento común posterior, el hueso se caseifica y hay destrucción del disco vertebral.

La formación de un absceso frío puede generar un absceso

retrofaríngeo por avance de la infección por delante del ligamento común y posteriormente observarse el cuello, de allí puede descender como un absceso de psoas a la fosa iliaca por debajo del ligamento Poupart y apuntar hacia el orificio safeno o descender hasta el hueso poplíteo. <sup>(45, 52,55)</sup>

La punción-aspiración del absceso o una biopsia ósea ayudan a confinar la etiología tuberculosa, lo mismo que los cultivos, que suelen ser positivos, y los hallazgos histológicos. <sup>(45)</sup>

### **Tuberculosis meníngea.**

La TBC meníngea es la forma de presentación más severa y letal de la enfermedad. <sup>(31, 42)</sup>

Representa el 5% de la TBC extrapulmonares, es más frecuente en niños pequeños desnutridos, especialmente en países en vía de desarrollo, aunque la vacunación BCG ha permitido controlar el desarrollo de la misma a temprana edad, siguen apareciendo reportes epidemiológicos sobre la entidad, también afecta adultos especialmente aquellos VIH+, la diseminación se produce por vía hematógena de la lesión pulmonar primaria o posprimaria, también por rotura de un

tubérculo subependimario en el espacio subaracnoideo.<sup>(25,31,42,45)</sup>

La TBC menígea se caracteriza por la producción de exudado espeso, gelatinoso, que se deposita en la base del cerebro, interfiriendo con la circulación del líquido cefalorraquídeo, puede producir hidrocefalia, parálisis de los pares craneales 6to, 3ero, 4to y 7mo, produce infiltrado de los vasos meníngeos y corticales, vasculítis e infartos cerebrales, de aquí que muchos autores la consideren más una meningoencefalitis que una meningitis pura.

La enfermedad suele evolucionar en 1 a 2 semanas con decaimiento, apatía, constipación, cambios de carácter, conducta aberrante, cefalea, diplopía, y signos leves de irritación meníngea, acompañados de fiebre y algún compromiso del estado general, posteriormente la fiebre se hace más significativa, y el paciente presenta vómitos explosivos, convulsiones, cefalea intensa indicadores estos de hipertensión endocraneana.<sup>(25,45,52,56)</sup>

El análisis del líquido cefalorraquídeo muestra un número elevado de leucocitos, proteínas y una concentración baja de glucosa, la prueba de BAR del Líquido cefalorraquídeo evidencia la presencia del bacilo sólo en un 20% de los casos,

el cultivo del líquido cefalorraquídeo permite establecer el diagnóstico en un 80% de los casos, la tomografía computarizada y la resonancia magnética también constituyen herramientas diagnósticas en esta entidad. <sup>(45)</sup>

El tuberculoma es una forma poco frecuente de la TBC que produce lesiones ocupantes de espacio, que manifiestan un cuadro de convulsiones y signos neurológicos focales, el diagnóstico se confirma por biopsia. <sup>(45)</sup>

En la actualidad se estudia la posibilidad de realizar un diagnóstico más certero y rápido empleando técnicas de Biología Molecular, específicamente la Reacción en Cadena de la Polimerasa. (RCP), la cual disminuye las posibles secuelas neurológicas y muerte de estos pacientes, la amplificación de la secuencia IS6110 y mtp40 por RCP, en líquido cefalorraquídeo ha mostrado valores de sensibilidad de 80% y 97% de especificidad. Otra prueba la adenosina deaminasa (ADA), también proporciona diagnósticos con una sensibilidad de 80% y especificidad de 91%. <sup>(42)</sup>

### **Tuberculosis Digestiva.**

El tubo digestivo puede ser afectado por la TBC al intervenir diversos mecanismos: deglución de los esputos con



la consiguiente siembra directa, diseminación hematológica, o bien, infrecuente en la actualidad, la ingestión de la leche de vacas enfermas de TBC bovina. Los sitios que más a menudo se afectan son el íleon terminal y el ciego. <sup>(45, 57)</sup>

Los signos de comienzo habitualmente son: dolor abdominal, semejante al de la apendicitis; diarrea, obstrucción, hematoquecia y una masa palpable en el abdomen, el cuadro también puede ir acompañado de fiebre, pérdida de peso y sudores nocturnos. Al afectar a la pared intestinal y formarse úlceras y fístulas, entre los diagnósticos diferenciales se encuentra la Enfermedad de Crohn. Las fístulas anales obligan a descartar inmediatamente una TBC rectal. <sup>(34)</sup>

Como la mayoría de las veces es necesaria la intervención quirúrgica, el diagnóstico se puede confirmar realizando un estudio histológico y cultivando las muestras obtenidas en el acto operatorio.

Otras formas de TBC del aparato digestivo incluyen: úlceras linguales, enteritis tuberculosa, masas abdominales (tuberculomas), fisuras anales y fístulas anorectales, granulomas tuberculoideos hepáticos, diagnóstico. <sup>(34,45)</sup>

La peritonitis tuberculosa aparece después de una siembra directa de bacilos tuberculosos procedentes de los órganos intra abdominales o de unos ganglios linfáticos rotos, o bien como consecuencia de una siembra hematógica.<sup>(54)</sup>

La peritonitis tuberculosa debe sospecharse en presencia de dolores abdominales inespecíficos, fiebre y ascitis. El diagnóstico se complica si coexiste una cirrosis, en este tipo de tuberculosis la paracentesis permite la salida de un líquido exudativo, rico en proteínas y leucocitos, abundan los linfocitos y neutrófilos, es necesario en algunos casos una biopsia peritoneal para confirmar el diagnóstico.<sup>(45)</sup>

### **Tuberculosis pericárdica (pericarditis tuberculosa).**

Este tipo de TBC se produce por extensión de un foco primario localizado en el pericardio, por reactivación de un foco latente o por la rotura de un ganglio linfático contiguo, esta enfermedad es propia de los ancianos. En los países con una prevalencia escasa de TBC, es frecuente observarla en los paciente VIH+, las tasas de mortalidad pueden alcanzar un 40%, el comienzo puede ser subagudo, sin embargo es posible que se presente con un cuadro agudo acompañado de fiebre, dolor sordo retroesternal y roce pericardico, en casos más

graves son evidentes los signos de taponamiento cardiovascular por la acumulación del líquido entre hojas parietal y visceral.<sup>(35,45,58)</sup>

A estos signos se pueden sumar tos, disnea, ortopnea, pulso paradójal, y edema maleolar, es clásico el alivio de los síntomas cuando el enfermo se sienta e inclina hacia delante, en posición de plegaria mahomante.

El estudio radiográfico puede evidenciar un derrame y esto orientar al clínico sobre un diagnóstico de tuberculosis sobre todo si el individuo afectado pertenece a grupos de alto riesgo para esta enfermedad, en la pericarditis constrictiva el corazón-encapsulado dentro de una masa fibrosa, frecuentemente calcificada puede aparecer a los rayos X como chico y quieto, paralelamente el cuadro clínico señala hepatomegalia,, ascitis y edema de las extremidades inferiores el diagnóstico diferencial de esta etapa incluye insuficiencia cardíaca congestiva y cirrosis hepática.<sup>(52)</sup>

También ayuda la presencia de ganglios en el mediastino y la demostración de lesiones tuberculosas en el pulmón o en otras partes del organismo, es orientador el compromiso de otras serosas la asociación con un derrame pleural izquierdo es tan frecuente, que se designa con el nombre de "Signo de Ewart".<sup>(52)</sup>

Para el diagnóstico se toma en cuenta la pericardiocintesis, el líquido pericárdico debe ser analizado por bioquímica, citología, y microbiología.

El derrame es un exudado rico en leucocitos con predominio de mononucleares, el derrame de tipo hemorrágico también es común, el cultivo de este líquido en un 30% permite la observación de *M. tuberculosis*, la biopsia aumenta el número de casos positivos, la biopsia pericardica se puede realizar por punción, con la aguja de Cope aprovechando la presencia de abundante cantidad de líquido, el electrocardiograma casi siempre está alterado, mostrando frecuentemente ondas de bajo voltaje, desnivel "En Bandera" del segmento S-T e inversiones de la onda T, pero por su inespecificidad no suele ser de gran ayuda.<sup>(52,58,59)</sup>

La presión venosa es el mejor índice del grado de taponamiento cardíaco; es indispensable medirla al inicio y repetir cuantas veces sea necesario durante la evolución de la enfermedad.

El tratamiento de este tipo de tuberculosis debe instaurarse con prontitud ya que la misma puede ser mortal. Dentro de las complicaciones de este cuadro se puede citar la pericarditis constrictiva crónica la cual produce engrosamiento

del pericardio, fibrosis y a veces, calcificaciones visibles en la radiografía de tórax. El uso de corticoesteroides está particularmente indicado en estos casos y en este sentido varios autores han demostrado la resorción más rápida del volumen de exudado, menor mortalidad y tendencia a la pericarditis constrictiva con el empleo de estos poderosos agentes antiinflamatorios.<sup>(45)</sup>

### **Tuberculosis miliar o diseminada.**

La diseminación linfohematógena puede dar lugar a una TBC miliar, circunscrita solamente a los pulmones o afectando también otros órganos.<sup>(25)</sup>

La TBC miliar en los niños suele deberse a una infección primaria reciente, en los adultos puede cursar como una infección secundaria bien sea luego de una infección primaria reciente o como consecuencia a una reactivación de focos diseminados antiguos.<sup>(45)</sup>

La distribución de las lesiones miliares depende de la vía seguida durante la diseminación. La infección tuberculosa puede propagarse por vía linfáticos principales, para entrar en el lado derecho del corazón y, desde allí extenderse difusamente, siguiendo la vía hematógena, a la totalidad de los pulmones solamente.<sup>(45)</sup>

A pesar de su pequeño tamaño, la mayoría de los bacilos suelen quedar retenidos en filtro, representado por el lecho capilar alveolar. Por lo tanto, puede ocurrir que el material infectante no llegue al sistema arterial de la circulación general. Sin embargo, la infección no suele quedar totalmente circunscrita a los pulmones, ya que algunos bacilos tienen la capacidad de atravesar los capilares o las anastomosis linfovasculares hasta alcanzar la circulación general y producir focos metastáticos en órganos distantes.

Los lugares predilectos de la siembra miliar son: la médula ósea, hígado, bazo, y retina, en ocasiones, se encuentra un solo órgano afectado, bien sea riñones, suprarrenales, testículos, en la forma miliar cada una de las lesiones mide de uno a varios milímetros de diámetro y son zonas de consolidación separados, firmes de color blanco amarillentas, con aspecto de semilla de mijo.

En el momento del estudio no suelen tener necrosis caseosa central ni caseosis, macroscópicamente visible, sin embargo la histopatología, ofrece el patrón característico de tuberculosis únicos o múltiples, y confluentes con caseificación central microscópica.

Las manifestaciones clínicas son inespecíficas y variadas,

dependiendo de la localización predominante. En la mayoría de los casos los primeros síntomas son: Fiebre, sudores nocturnos, anorexia, debilidad y pérdida de peso. La clásica tríada incluye: Fiebre elevada, disnea extrema y cianosis. Sólo estas manifestaciones se ven en las etapas tardías como antesala de la muerte. A veces hay tos y otros síntomas respiratorios debidos a la participación pulmonar y también puede haber malestar abdominal, en la exploración física se observa hepatomegalia, esplenomegalia y adenopatías, el examen puede descubrir tubérculos en la coroides que son patognomónicos de la tuberculosis miliar, hay manifestaciones de meningismo en menos del 10%.<sup>(45, 59,60,61)</sup>

Las características radiográficas del tórax muestran un dibujo retículonodular miliar. En las primeras fases del proceso y en los pacientes VIH+ es posible no encontrar alteración radiográfica precoz. Otros signos radiológicos pueden ser: Infiltrados extensos; infiltrados intersticiales, especialmente en los pacientes infectados por VIH y derrames pleurales. El frotis del esputo, es negativo en un 80% de los casos.

Pueden existir alteraciones hemáticas como por ejemplo: anemia con leucopenia, leucocitosis por neutrófilos y

reacciones leucemoides, así como policitemia. Se han descrito casos de coagulación intravascular diseminada.

En los pacientes con afección hepática intensa hay niveles elevados de la fosfatasa alcalina y de otras pruebas funcionales hepáticas. La prueba de PPD suele ser negativa, hasta en la mitad de los casos pero durante la terapéutica antituberculosa puede recuperarse la reactividad.

El lavado broncoalveolar y la biopsia transbronquial confirman bacteriológicamente el diagnóstico, en muchos pacientes se encuentran granulomas en las muestras de biopsia del hígado o de médula ósea. <sup>(45, 59,60,61,62.63)</sup>

### **Tuberculosis miliar críptica.**

Suele presentarse en los ancianos y es poco común, tiene una evolución crónica caracterizada por febrícula intermitente, anemia y afectación meníngea que precede la muerte. <sup>(45)</sup>

Anteriormente se conocía como tifobacilosis se había vuelto muy infrecuente su presentación, en la actualidad se presenta como una manifestación más, de las diseminaciones hematógenas que acompañan al SIDA. <sup>(52)</sup>



### **Tuberculosis miliar arreactiva.**

Se debe a una diseminación masiva de *M. tuberculosis*, es frecuente la pancitopenia, en las necropsias se observan múltiples lesiones necróticas sin la formación de granulomas “Arreactivas”.<sup>(45)</sup>

### **Tuberculosis extrapulmonares menos frecuente.**

**Coriorretinitis, uveítis, panoftalmía y conjutivitis flictenular** dolorosa como reacción de hipersensibilidad.<sup>(45)</sup>

### **Otitis tuberculosa.**

Es rara y produce sordera, otorrea, y perforación del tímpano.<sup>(45,64)</sup>

### **Tuberculosis nasofaríngea.**

Puede confundirse con la granulomatosis de Wegener.<sup>(45,65)</sup>

Las manifestaciones cutáneas comprenden: Infección primaria debida a inoculación directa, abscesos, úlceras crónicas, escrofulodermia, lupus vulgar, lesiones miliares y eritema nudoso.<sup>(45,65)</sup>

### **Tuberculosis suprarrenal.**

Es un signo de enfermedad avanzada que provoca síntomas de insuficiencia suprarrenal. <sup>(45)</sup>

### **Tuberculosis congénita.**

Consiste en la infección del feto por el paso de bacilos a través de la placenta o por la deglución del líquido amniótico contaminado, afecta hígado, bazo, ganglios linfáticos. <sup>(45)</sup>

### **Impacto del VIH Y Tuberculosis.**

En los individuos VIH+ aumenta el riesgo de enfermar con TBC en un 50% en comparación con los individuos VIH-. Para 1995 se estimaba que existían 6 millones de personas infectadas con *M. tuberculosis*, en algunos países de África como Kenya, Tanzania y Malawi, la incidencia anual de TBC ha aumentado cerca de tres veces y dos tercios de los casos de sujetos con TBC están infectados a su vez con VIH. <sup>(42,43)</sup>

En países del Continente Americano tenemos como ejemplo Argentina y Brasil donde la asociación ha provocado un incremento del 10% de los casos por año, la situación es aún mas grave en Haití y Honduras debido a que cuentan con mayor número de casos de sujetos con VIH. <sup>(47,66)</sup>

Para 1997 había más de 10 millones de personas coinfectadas entre África, sudoeste Asiático, Latinoamérica y EE.UU., la infección simultánea por VIH y TBC es frecuente en ciertos grupos de la población, como los que consumen drogas. <sup>(32, 45,)</sup>

La infección por VIH es uno de los factores de riesgo más importante para el desarrollo de la TBC y micobacteriosis. El VIH-1, debilita el sistema inmune, con la consecuente reactivación de la infección tuberculosa latente y la rápida progresión hacia la enfermedad en los recién infectados por *M. tuberculosis*. <sup>(42,43, 67)</sup>

El riesgo de enfermedad en los seropositivos, en comparación con los no inmunodeprimidos, es significativamente más alto, La infección debilita al paciente y permite que aumente la velocidad de replicación del VIH-1, siendo más rápida así la progresión al SIDA.

Con el incremento en el número de casos de TBC originado por la sinergia entre ambas infecciones, se intensifica inevitablemente su transmisión, incrementándose el riesgo de infección para todos. Por consiguiente, la combinación entre VIH y TBC en una población es potencialmente desastrosa. <sup>(42,43,67,68,69)</sup>

La presentación clínica de la TBC relacionada con VIH depende del grado de inmunosupresión del paciente, conforme este disminuye su capacidad inmunitaria, el riesgo de desarrollar la enfermedad es mayor. Las formas pulmonares no bacilíferas y las extrapulmonares son las más frecuentes en la infección avanzada por VIH-1. <sup>(26, 42,43)</sup>

Las tasas poblacionales de tuberculosis también se ha visto aumentada porque los adultos jóvenes con VIH y TBC activa, la transmiten a las personas con quienes viven. <sup>(26)</sup>

El tratamiento de la TBC en las personas infectadas por VIH-1 es importante ya que aumenta su esperanza y calidad de vida y reduce la transmisión de la infección, lo que beneficia a individuos, familias y comunidades enteras. <sup>(26.45)</sup>

Al principio de la infección por VIH, las manifestaciones clínicas de la TBC son similares a las que se observan en el hospedero seronegativo: Un patrón de cavernas en los lóbulos superiores sin adenopatias ni derrames pleurales, No obstante, conforme se reduce en forma progresiva la población de linfocitos T, disminuye la proporción que reacciona a la prueba cutánea de la tuberculina, alcanzando un punto mínimo del 10 a 20% de personas reactivas entre las que sufren SIDA avanzado. <sup>(45)</sup>

La presentación extrapulmonar alcanza un 60 a 80% de casos incluyendo cuadros poco comunes y raros como enfermedad cutánea, linfadenitis difusa o el síndrome que simula septicemia por Gram negativos en aquellas cifras <50 linfocitos CD4, tuberculosis diseminada, pericárdica, meningitis tuberculosa, siendo esta una de las más graves . Se observaron patrones variables de la enfermedad en la radiografía de tórax, que evoluciona desde el fenómeno fibronodular con cavitaciones clásicas en las zonas superiores, patrones neumónicos atípicos, formación inusual de cavidades sombras intersticiales o miliares, adenopatía hiliar o paratraqueal muy relevante y derrames pleurales abundantes.<sup>(26,45)</sup>

### **Reinfección y VIH.**

En pacientes inmunocomprometidos especialmente en aquellos VIH, es más frecuente la reactivación de focos latentes, aunque a veces es una infección primaria.<sup>(70, 71,72)</sup>

En tales pacientes la TBC es más severa y rápidamente progresiva, la mortalidad es más alta y el compromiso extrapulmonar más frecuente.<sup>(70, 71,72)</sup>

En pacientes con SIDA, la TBC producto de una

reinfección a menudo recuerda la TBC infantil con adenopatía hiliar, con manifestación frecuente en los lóbulos inferiores, y ausencia de cavitación y formación de cicatriz. En estos sujetos el patrón histológico de la TBC se relaciona con el grado de inmunosupresión. En muestras de biopsias premortem, los granulomas son más proliferativos y menos exudativos que en tejidos derivados de autopsia.

A medida que el número de linfocitos CD-4 de la periferia disminuye, el tipo de necrosis cambia de caseosa a caseo supurativa; también el número de bacilos dentro de las lesiones aumenta. <sup>(70, 71, 72)</sup>

### **Características clínicas bucales de lesiones producidas por infección por *M. tuberculosis*.**

La TBC en la cavidad bucal se puede presentar de manera primaria o secundaria.

La lesión más representativa es la úlcera tuberculosa que aparece en el 3,5% de los pacientes con TBC sistémica. <sup>(73)</sup> Se caracteriza por tener bordes elevados indurados y fondo crateriforme.

Otros autores manifiestan que cualquier área de la cavidad bucal es proclive a desarrollar lesiones por el bacilo;

sin embargo, la lengua y el paladar son las zonas más afectadas, Bernard y col (1970), describen el caso de un paciente masculino, de 20 años de edad, que presentó linfadenopatía bilateral, con una lesión ulcerosa de bordes irregulares, y aspecto vegetante en paladar que dejaba expuesta parte de la raíz del primer molar permanente izquierdo. La zona de la lesión fue trascendental para que se realizara el diagnóstico diferencial con otras lesiones de importancia como sífilis, sarcoidosis, lepra, neoplasias malignas, granuloma letal de la línea media entre otros. (74, 75, 76,77, 83)

Una úlcera tuberculosa puede avanzar e instaurar daños sobre el hueso alveolar y producir movilidad dentaria. Una extracción dental o injuria en pacientes con Baciloscopia positiva (BK) puede constituir una puerta de entrada para el bacilo y provocar una osteomielitis, Yusue en 1975, describió el caso de una paciente de 33 años de edad, que cursaba con tos y expectoración, anorexia, fiebre con evolución de tres meses, en la cavidad bucal se observó una lesión ulcerosa en el labio inferior, la cual aumentó de tamaño posterior a la realización de extracciones dentales del sector adyacente. (76, 77, 79,81)

Sí bien las injurias que se pudieran producir en un momento determinado pueden ser la puerta de entrada para lesiones en zonas más profundas, existen autores que señalan que la instauración de lesiones periapicales tiene un origen hematógeno. <sup>(76)</sup>

Lesiones faringeadas y amigdalinas son infrecuentes sin embargo se han descrito de biopsias post mortem. <sup>(77, 88)</sup>

La lesión primaria suele manifestarse como una úlcera mientras que la lesión secundaria suele manifestarse en la mucosa bucal. Las características de las úlceras son variables, puede ser ovaladas, circunscritas, de bordes elevados, color violáceo, de fondo granuloso, no suele sobrepasar el centímetro de diámetro, puede ser única o múltiples, estar ubicadas en lengua, paladar, labio, comisura labial, carrillos, alvéolos dentarios y encía. <sup>(77, 78, 80, 81, 82,83, 84, 85, 86, 87, 89, 90, 91,92,93,)</sup>

Existe otro tipo de úlcera definida como úlcera atípica que se caracteriza por ser de presentación variable, puede tener aspecto pseudomembranoso, vegetante, granular, duro e infiltrante producto también de infección por bacilos, presentándose solitarias o múltiples. <sup>(79,94, 95)</sup>



El goma tuberculoso es un importante diagnóstico diferencial del goma producido por sífilis, otras lesiones han sido asociadas a la presencia del bacilo incluyendo formas verrucosas y vegetantes o fungosa sobre la mucosa bucal. Otras entidades pueden mostrar pápulas o nódulos gingivales rojos violáceos, que recuerdan lupus vulgaris de preferencia labial y mucosa, concomitante con linfadenopatías regionales y en algunos casos puede causar macroqueila. <sup>(79,97)</sup>

En una revisión realizada por Mingnona y col (2000), en 42 pacientes con TBC describió 27 pacientes pertenecientes al género masculino y 15 al género femenino con un rango de edades comprendido entre los 3 y 73 años; describió desarrollo de úlcera en el 69,1%, compromiso del hueso alveolar y glándulas salivales en el 21,4% y nódulos linfáticos palpables en el 14,3%.<sup>(5)</sup>

El compromiso del hueso también fue descrito por Viva y col, 1980. cuando refirió que puede desarrollarse osteomielitis por tuberculosis la cual puede instaurarse por la progresión de una enfermedad periodontal severa.<sup>(79)</sup>

Asimismo la alteración periodontal también fue descrito por Avdnonina y col. (1993), al estudiar un grupo de 113 pacientes con diagnóstico a nivel bucal de periodontitis y a nivel

sistémico de TBC extrapulmonar.<sup>(4)</sup> En la evaluación y estudio de los pacientes, se observó en el 37.2%, áreas de enfermedad localizada con lesiones tipo vegetativa. Inflamación granulomatosa.

Los autores sugieren que la presencia de enfermedad periodontal previa es una característica importante para que los bacilos pueden producir daño del tejido. <sup>(4,79)</sup>

La diseminación hacia los tejidos de soporte y lesiones existentes de caries pueden permitir que *M. tuberculosis* tenga la capacidad de contaminar los conductos radiculares como lo describió Avdonina y col, 1991, al experimentar en 13 perros la capacidad del bacilo de infectar los conductos y de generar un compromiso menor del periodonto. <sup>(96)</sup>

El compromiso de la mucosa y tejido de soporte es descrito por diversos autores, observándose hiperemia e irregularidades de la mucosa que no suponen lesiones típicas de TBC, como sería la úlcera descrita a través del tiempo. <sup>(97, 98)</sup>

La parotiditis por tuberculosis también ha sido reportada. Al respecto, Baldwin y col, (2002), refieren el caso de una mujer de 34 años de edad que presentó linfadenopatías y

obstrucción de los conductos glandulares evidenciados a través de las características clínicas, radiográficas y sialografías, con posterior tratamiento que incluyó paratidectomía. La biopsia del tejido mostró inflamación de tipo granulomatosa, proceso de licuefacción, caseificación y necrosis, todas estas, características consistentes de TBC.<sup>(99)</sup>

La linfadenitis cervical tuberculosa también se suma a la lista de manifestaciones de TBC tanto primaria como secundaria. Kokosali y col (2006), hacen referencia, al caso de una paciente de 52 años de edad que tuvo una inflamación en el área submentoniana con origen en un absceso dentario. El estudio histopatológico de la biopsia reveló la presencia de inflamación granulomatosa, producto de micobacterias.<sup>(100)</sup>

*M. tuberculosis* es un microorganismo transeúnte en cavidad bucal. El hecho de colonizar y causar daño dependerá de diversos factores relacionados con el paciente y con el mismo microorganismo así como el desarrollo de la enfermedad como tal. Sin embargo se ha referido como un agente a tomar en cuenta en el desarrollo como influencia en la enfermedad periodontal.<sup>(100)</sup>

Por su parte señalan Marker y col (2002), el caso de un paciente masculino de 30 años de edad procedente de

Somalia con lesiones en la encía del maxilar inferior con cuadro sugerente de gingivitis, en el que se encontró un intenso infiltrado de células plasmáticas policlonales, células presentes en procesos relacionados con infecciones fúngicas, TBC o lesiones malignas.<sup>(101)</sup>

La revisión de la literatura apoya que las lesiones ulcerosas con diferentes ubicaciones solitarias o múltiples son la evidencia clínica producto de la TBC primaria, secundaria y miliar en pacientes con un sistema inmunológico competente. (77, 78, 80, 81, 82,83, 84, 85, 86, 87, 89, 90, 91,92,93, 102,103,104,105,106), no obstante, lesiones del periodonto demuestran su importancia al estar implicado la presencia de *M. tuberculosis*. (4, 79, 97, 98, 100,101)

Otra entidad descrita es el agrandamiento gingival que es producido directamente. Bangolare y col, (2006), exponen el caso de un paciente en cuya en cavidad bucal se observó un agrandamiento gingival antero superior, sin antecedentes de medicamentos como fenitoina, nifedipina, ciclosporinas, con higiene bucal bastante aceptable. Se descartaron lesiones fúngicas y neoplasias entre otras. La biopsia demostró la presencia de células gigantes de Langerhans y células epiteliodes. Finalmente el RCP para *M. tuberculosis* confirmó la presencia del bacilo en la lesión. <sup>(107)</sup>

En los pacientes VIH+ la presencia de lesiones producto de la TBC, no varían significativamente, se ha descrito el desarrollo de una úlcera tuberculosa en un paciente VIH+ con TBC pulmonar que posteriormente involucionó con el tratamiento anti TBC. <sup>(108)</sup>

En 2002 LLYas, describieron el caso de un paciente de 37 años de edad VIH+, con Hepatitis B y antecedentes de drogas intravenosas, que tenía una úlcera en cara interna del labio superior, linfadenopatías cervicales, disfagia y disfonía y con TBC, sin embargo, se le realizó diagnóstico diferencial para infecciones producidas por hongos, sífilis, y leishmaniasis para las cuales resultó negativo, la ubicación de la lesión es poco común pero no debe extrañar estas variedades de presentación en los pacientes VIH+. <sup>(109)</sup>

La presencia de úlceras en pacientes con TBC fue referida por Ramirez y col, (2004), en el cual reportaron el caso de un paciente VIH/SIDA que recibió tratamiento exitoso para TBC ganglionar cuatro años antes de presentar la lesión ulcerosa, considerada signo único de infección recurrente de micobacterias. A pesar de que las pruebas diagnósticas microbiológicas fueron negativas, el paciente fue tratado con antibioticoterapia para TBC y resultó satisfactoria al lograr la involución de la lesión en lengua. <sup>(110)</sup>

La presentación de la úlcera puede ser solitaria múltiple, e inclusive puede comprometer varias zonas y tejidos como lo describieron Feller y col, (2005). Estos autores presentaron el caso de un paciente de 39 años de edad de sexo masculino VIH+ con TBC, con múltiples úlceras en la lengua, paladar y compromiso periodontal. <sup>(111)</sup>

La revisión de la literatura muestra una gran variedad de lesiones que se pueden derivar de la infección de *M. tuberculosis*, tanto en pacientes VIH- como VIH+, llama la atención que los pacientes VIH+/SIDA presentan manifestaciones y lesiones importantes en el soporte periodontal, las cuales pueden ser producto de una coinfección por este bacilo. Una técnica sensible y específica para esta identificación es la técnica de RCP, la cual se ha puesto en práctica y así lo demuestran Eguchi y col, (2003) al amplificar la secuencia de *M. tuberculosis* de muestras de saliva, placa dental y caries de pacientes con TBC. <sup>(112)</sup> Su detección a nivel de saliva destaca la importancia para el personal de salud, que se ve expuesto a la adquisición de infecciones nosocomiales

## **Transmisibilidad de *M. tuberculosis* en la consulta odontológica.**

Existen factores de importancia ya no relacionados con lesiones en los pacientes y es la posibilidad de la transmisión de *M. tuberculosis* del paciente al personal de salud. La transmisión del bacilo incluye aquellos casos de multirresistencia a drogas.

En los últimos años se han podido detectar microepidemias entre el personal de salud, en instituciones como hospitales, clínicas, asilos y recintos penales, con el fin de evitar la transmisión nosocomial. El Centro para el Control de Enfermedades Infecciosas (CDC) de Atlanta, ha establecido la necesidad de realizar constantemente la valoración de los programas preventivos y han propuesto un sistema de tres pasos: Medidas administrativas, programas ambientales y protección respiratoria. <sup>(113)</sup>

Los brotes de infección nosocomial son situaciones problemáticas que se presentan inesperadamente y que están relacionadas con la modificación de los mecanismos de control o normas y procedimientos de cuidados en los pacientes.

Se considera como brote de infección nosocomial, a la

ocurrencia de un mayor número de casos de este tipo de infección, en cantidad superior a la esperada, para un determinado servicio u hospital, dentro de un período específico. <sup>(114)</sup>

La implementación del control administrativo permite desarrollar campañas educativas dirigidas al personal de salud, que les permita reconocer y aislar casos activos, aunado esto a la Prueba Cutánea de la Tuberculina, que permite evaluar los brotes intrahospitalarios. <sup>(113)</sup>

La producción de un brote implica la necesidad imperante de buscar e identificar el reservorio o vía de transmisión, la eficacia de las medidas de control previas al brote, resaltar la importancia de programas médicos en los cuales ha disminuido el interés del personal y permite proponer nuevos métodos para la prevención de infecciones. <sup>(114)</sup>

Los programas ambientales, facilitan el aislamiento de los casos comprobados o sospechosos. El uso utilización de presión negativa, dilución del aire, uso de filtros HEPA y Radiaciones Ultravioletas Germicidas, pueden ser buenas opciones para lograr este objetivo. <sup>(113, 115)</sup>



Las medidas anteriormente señaladas al usarse disminuyen el número de núcleos de gotitas infecciosas aerolizados en el ambiente de trabajo. <sup>(115,116)</sup>

La Organización Mundial de la Salud (OMS) señala que entre estas técnicas la más sencilla y menos costosa es eliminar y diluir el aire de las áreas de pacientes tuberculosos lejos de pacientes sin TBC al maximizar la ventilación natural a través de las ventanas abiertas. <sup>(115)</sup>

El diseño del consultorio odontológico es importante ya que la presencia de espacios con ventanas pueden permitir la circulación del aire y limpieza en un lugar donde se generan gran cantidad de aerosoles, por medio de turbinas y otros instrumentos. <sup>(117, 118, 119)</sup>

Los pacientes con TBC activa no deben estar por mucho tiempo en las salas de espera de ningún consultorio médico u odontológico ya que esto permite la concentración en el ambiente de gotitas infectantes. Es también de gran utilidad indicar el uso de tapabocas durante su espera. <sup>(116, 117, 118)</sup>

La desinfección del mobiliario es de suma importancia por lo que se recomienda el uso de desinfectantes de alto nivel, como el glutareldehido al 2%, peróxido de hidrógeno

estabilizado, compuestos halógenados (más de 500 ppm), ácido paracético al 40% y Fenoles. Claro está, estas son sustancias de referencia ya que su poder tuberculicida está relacionado con la dilución, tiempo de actuación, composición, y otros factores. <sup>(118, 119, 97)</sup>

### **Características histopatológicas de la tuberculosis.**

#### **Reacción tisular.**

Los primeros elementos celulares que se observan en esta entidad son los leucocitos polimorfonucleares, (fagocitos activos), que si bien no destruyen a los bacilos sumergidos localizan la infección y previenen que se extiendan a través de los tejidos; en la reinfección su respuesta es más acentuada, su aparición es transitoria y en 24 horas son renovados por los fagocitos mononucleares o histiocitos. <sup>(25, 26, 21,120,121)</sup>

Las células mononucleadas fagocitan a los bacilos y a los polimorfonucleares que están repletos de bacilos, los cuales al ser destruidos gradualmente, dispersan su fracción lipóide por el citoplasma de los mononucleares y se transforman en células epitelioides (parecidas a epiteliales), constituyendo éste el rasgo más característico de la reacción tuberculosa. Son células grandes, pálidas, de bordes poco netos y núcleo

grande vesiculoso, el citoplasma tiene prolongaciones que pasan de una célula a otra para formar un retículo epiteliode; son ricas en ácido ascórbico y es probable que esta situación éste relacionada con la actividad enzimática de las células reactivas principales. <sup>(120,121,122,123,124)</sup>

Los linfocitos del tubérculo no contienen vitamina C, al mismo tiempo que los mononucleares se transforman en células epiteliodes los bacilos sufren una extensa destrucción, lo cual explica que en las lesiones habituales del hombre se hallan en muy escaso número y dispersos, mientras que en las lesiones fulminantes agudas (neumonía caseosa tuberculosa) aparecen en gran cantidad. <sup>(120,121,122,123,124)</sup>

Las lesiones muestran células Gigantes de Langerhans, con muchos núcleos situados en la periferia o en los polos, con su posición central a veces necróticas. Estas células se forman por fusión de varias células epiteliodes. También puede haber células gigantes de cuerpo extraño con muchos núcleos pequeños dispersos por el citoplasma. <sup>(120, 121)</sup>

Las células gigantes que aparecen cuando se produce la necrosis, se encuentran en el seno de pequeñas áreas y su función es digerir los bacilos que contienen y eliminar el tejido necrosado. <sup>(120, 121)</sup> También se encuentran en la sífilis

y actinomicosis y suelen faltar en las formas más agudas de la tuberculosis cuando la resistencia es escasa (meningitis tuberculosa). (120, 121)

En el transcurso de una semana aparecen los linfocitos, células pequeñas con núcleos oscuros idénticos a los de la sangre, que forman un anillo alrededor de la lesión. Estas células son una de las fuentes más importante de gammaglobulina que forman los receptores. (120, 121)

### **Formación del tubérculo.**

La pequeña masa de células recién formadas llegadas constituye un minúsculo nódulo traslucido avascular visible, a simple vista, suele crecer y fusionarse para formar así una masa más voluminosa.

Finalizando la segunda semana al necrosarse la porción proteica de los bacilos se inicia la caseificación “semejante al queso”. En el centro del tubérculo las células pierden sus límites, desaparecen los núcleos y se borra toda estructura, posteriormente el tubérculo aparece con un centro caseoso homogénico, que se tiñe de rojo con eosina y una periferia de células epiteliodes pálidas con una o varias células gigantes y una zona externa de linfocitos azul oscuro. Esta

caseificación tiende al resblandecimiento y licuefacción que al derramarse forma cavernas. <sup>(120, 121,122)</sup>

### **Evolución del tubérculo.**

El tubérculo puede evolucionar de las siguientes formas:

1. Puede resolverse y desaparecer por completo.
2. El foco caseoso puede ser rodeado por fibroblastos y formarse una cápsula fibrosa; al depositar sales de calcio el tubérculo se considera curado.
3. Puede haber una inflamación atenuada con formación de tejido de granulación y muchos tubérculos, pero poca o ninguna caseificación, la forma hiperplásica se observa en la membrana sinovial de las articulaciones y a veces en los ganglios linfáticos.
4. Los fagocitos pueden transportar los bacilos a otros tejidos y formar nuevos tubérculos.
5. Cuando la infección es virulenta o masiva, como meningitis tuberculosa, neumonía tuberculosa aguda, se puede producir una reacción inflamatoria aguda que es más exudativa que productiva, suele presentarse en las reinfecciones no en las primoinfecciones. <sup>(25, 26,45, 120, 121)</sup>

## **Inflamación crónica.**

La inflamación crónica puede presentarse bajo dos circunstancias específicas en el caso en que el proceso agudo evoluciona hacia un proceso crónico y la situación en la cual se presenta inflamación crónica sin que se presente un estado agudo previo. En este tipo de inflamación existe proliferación de tejido conectivo de la variedad granular (tejido de granulación).<sup>(120,121)</sup>

La acción de los neutrófilos continúa pero al mismo tiempo hay aumento notable de mononucleares: macrófagos, linfocitos y células plasmáticas.<sup>(120,121)</sup>

Existen casos en que ciertas condiciones patológicas muy específicas desencadenan inflamación crónica pasando por alto la forma aguda de la inflamación, este comportamiento es clásico de bacilo *M. tuberculosis* y de algunos agentes químicos.

Las características histopatológicas de la inflamación crónica son las siguientes:

1. Formación del tejido de granulación.
2. Predominio de células fagocíticas mononucleares.

El tejido de granulación corresponde a un tejido conectivo “Joven” que si se compara con el tejido “adulto” resulta mucho más celular. Su población celular puede incluir neutrófilos y otras células de tipo inflamatorio, como fibroblastos. Una de las características es su vascularidad, ya que presenta gran cantidad de capilares neoformados tapizados por células endoteliales muy jóvenes y deficientemente unidas entre sí.  
(120, 121,122, 123)

El predominio de los mononucleares se empieza a ver al terminar la fase aguda de la inflamación, donde aparece una población importante de fagocitos de tipo monocitos o macrófagos. En algunas ocasiones existen gran cantidad de eosinófilos, especialmente cuando han existido reacciones alérgicas o cuando se presenta infecciones por parásitos, (por ejemplo en infecciones por el equistosoma, que se encuentra en la carne de cerdo cruda.)<sup>(120,121)</sup>

En la inflamación crónica, la reacción vascular es grande para neoformar los capilares del tejido de granulación, pero la salida de líquido es menor. Hay vasodilatación pequeña y exudado mínimo, clínicamente los cambios en la coloración y temperatura son poco notorias. Esta es la causa por la cual los abscesos de la TBC reciben el nombre de abscesos fríos.  
(120,121)

El proceso de cicatrización comienza tempranamente es decir, sucede en forma simultánea con el proceso inflamatorio desde sus primeras fases, los macrófagos van haciendo su labor de limpieza y removiendo todo tejido necrótico en el área en que se va a iniciar el proceso de cicatrización. A las 24 horas se aprecian los fibroblastos en acción y la iniciación de la neoformación vascular, entre los 3-5 días ya es posible apreciar presencia del tejido de granulación que indica el comienzo de la cicatrización dentro del proceso inflamatorio.

El término tejido de granulación se debe al aspecto rosado y granular que muestra la superficie de la herida. Desde el punto de vista histopatológico, las dos características más importantes son proliferación fibroblástica y neoformación capilar.<sup>(120)</sup>

### **Formas de inflamación crónica.**

Existe una clasificación de la inflamación según el predominio de los diferentes elementos que componen la inflamación crónica, se describen algunas variedades desde el punto de vista histopatológico y clínico. Estos son:

1. Inflamación crónica fibrosa: existe gran producción de colágeno el mismo suele contraerse y deja como consecuencia



algunas secuelas, como disminución del funcionamiento de las articulaciones o estenosis de los conductos. El responsable es el miofibroblasto, que es un fibroblasto con gran contenido citoplasmático de miofilamentos.<sup>(120)</sup>

2. Inflamación crónica de tipo seroso: En este caso hay presencia de exudado claro y abundante, típico de cavidades serosas y articulaciones.<sup>(120)</sup>

3. Inflamación supurativa crónica (absceso): acumulación de un exudado purulento en una cavidad recientemente formada, estos a su vez se clasifican en agudos y crónicos, agudo de aparición súbita, crónico es aquel de larga data.<sup>(120)</sup>

4. Inflamación crónica granulomatosa: variedad muy común, el termino granulomatoso se debe al hecho de que el tejido que contiene la lesión presenta pequeñas y múltiples estructuras granulares, se desarrolla este tipo de inflamación en tuberculosis, sífilis, lepra, de igual forma se aprecian formaciones granulomatosas en enfermedades de tipo parasitario como esquistomiasis e infecciones micóticas como histoplasmosis. También el granuloma puede encontrarse asociado a cuerpos extraños asépticos, hilos de sutura, asbestos y razones desconocidas.<sup>(120)</sup>

Las características histopatológicas de la TBC son muy propias y fáciles de reconocer, sin embargo, otras enfermedades pueden presentar un cuadro semejante e incluso idéntico como; sarcoidosis y sífilis. Aunado a esto el corte solo puede presentar inflamación crónica sin ninguna otra característica de las descritas anteriormente para de TBC.<sup>(120, 121)</sup>

**Definición de los casos. Normas aplicadas por el  
Ministerio de Salud y Desarrollo Social, Venezuela.**

1. Tuberculosis pulmonar. <sup>(125)</sup>

1.1 Tuberculosis pulmonar con demostración bacteriológica. ( Serie P).

1.1.1 Tuberculosis Bacilífera.

Criterios: 2 baciloscopias positivas o una baciloscopia positiva y radiográfica patológica.

1.1.2 Tuberculosis Pulmonar con cultivo positivo.

Criterios: a) Baciloscopia negativa y 2 cultivos positivos, ó

b) Baciloscopia negativa, un cultivo positivo y radiografía patológica.

1.2 Tuberculosis Pulmonar sin demostración Bacteriológica. <sup>(125)</sup>

(serie N ).

Debe tener por lo menos tres criterios:

a) Diagnóstico clínico y epidemiológico establecido por medio de especialista que indica el tratamiento normado. <sup>(122)</sup>

a) Baciloscopia y cultivo negativo.

b) Radiografía patológica.

( puede tener estudio anatomopatológico )

2. Tuberculosis extrapulmonar.<sup>(125)</sup>

( Serie EP )

2.1 Con demostración bacteriológica ( cultivo )

2.2 Sin confirmación bacteriológica .

Debe tener por lo menos tres criterios:

a. Diagnóstico clínico y epidemiológico establecido por un médico especialista que indique el tratamiento normado.

b. Cultivo negativo.

c. Radiografía patológica.

d. Puede tener estudio anatomopatológico.

## **Métodos diagnósticos de tuberculosis.**

### **Baciloscopia.**

Muestra de esputo.

Es solicitada, recibida, almacenada y enviada al laboratorio por el personal entrenado y está autorizado para dicho fin médicos y enfermeras de la consulta.<sup>(125)</sup>

### **Criterios para la toma de muestra para baciloscopia.**

Número y toma de la muestra para diagnóstico.

A todo sintomático respiratorio (SR) se le harán 2 exámenes de esputo para tuberculosis (Baciloscopia).

La primera muestra de expectoración (esputo) debe tomarse en el momento de la consulta. La segunda muestra la tomará el enfermo en su casa en la mañana siguiente que debe ser día hábil y deberá llevarla o enviarla al servicio de salud.<sup>(125)</sup>

Para control de tratamiento.

Para control de los casos nuevos de la serie P, se pedirá una muestra el tercer mes y si está positiva se repite al quinto mes; si la Baciloscopia del tercer mes es negativa se realiza

otra al finalizar el tratamiento (6 meses). Para tener certeza de que el paciente con tuberculosis pulmonar bacilífera se curó y es negativo, se realiza siempre una Baciloscopia al concluir el tratamiento, aún cuando por falta de expectoración la calidad de la muestra no sea buena.<sup>(125)</sup>

Si al quinto o sexto mes de tratamiento el paciente tiene 2 baciloscopias positivas, se considera fracaso de tratamiento y debe hacerse cultivo y pruebas de resistencia.

En el retratamiento se efectuará una Baciloscopia mensual hasta su negativización, luego cada 2 meses hasta finalizar el tratamiento.

### **Calidad de la muestra**

Una buena muestra de esputo es la que proviene del árbol bronquial, recogida después de un esfuerzo de tos y no la que se obtiene exclusivamente de la faringe o por aspiración de secreciones nasales o saliva solamente, es importante las indicaciones que se le den al paciente para la recolección de la muestra.

### **Cantidad de la muestra.**

Tres esputos o más. No llenar el envase más de su mitad.

## **Almacenamiento.**

La muestra debe ser enviada al sitio de procesado con prontitud, sin embargo, de no ser posible debe conservarse en una nevera por un máximo de 7 días para Baciloscopia y 3 días para cultivo, a partir del momento de la recolección de la muestra para Baciloscopia. Si no hay nevera, debe conservarse en un lugar fresco y protegido de la luz por un máximo de 48 horas. Cuando no sea factible enviar las muestras en este lapso de tiempo deberá hacerse un extendido en lámina. <sup>(125)</sup>

En los centros de atención que se encuentren en áreas dispersas y no cuenten con medios de transporte, deberán elaborar los extendidos el mismo día de su recolección, el extendido de la lámina será realizado por el personal (Auxiliares de Enfermería y Medicina Simplificada) previamente capacitados. <sup>(125)</sup>

Para la muestra que solo va hacer procesada por Baciloscopia y que requiere ser conservado por algunos días, se pueden agregar 5 gotas de fenol al 5%.

### **Transporte de la muestra.**

Debe elegirse el medio de transporte que garantice mayor rapidez y confianza de entrega. Las muestras estarán protegidas del excesivo calor y de la luz solar.

Los envases de esputo estarán bien cerrados (sellados con adhesivo) y debidamente identificados, deben ir colocados en una caja con separadores de madera, cartón o metal que no permitan el movimiento de las mismas o que se volteen.<sup>(125)</sup>

### **Baciloscopia.**

#### **Tinción ácido-alcohol resistente.**

Es considerado un importante medio de tinción diferencial, unas pocas especies, particularmente las del Género *Mycobacterium*, no se unen a colorantes simples fácilmente y hay que teñirlas con un tratamiento más fuerte: calentando una mezcla de fuscina básica y fenol (método Ziehl-Neelsen), una vez que la fuscina básica ha penetrado en la célula con la ayuda del calor y el fenol, las células ácido-alcohol resistentes no se decoloran fácilmente con una solución ácidoalcohólica, permaneciendo de color rojo.<sup>(19,20,21,22,23,24)</sup>



Esto se debe al elevado contenido en lípidos de las paredes de estas células; en particular, el ácido micólico un grupo de lípidos hidroxílicos de cadena ramificada que parece ser los responsable de la propiedades de ácido-alcohol resistencia. Las bacterias no resistentes se decoloran con la solución acidoalcohólica, por lo que se tiñen de azul con el colorante de contraste (azul de metileno) este método es utilizado para identificar *M. tuberculosis* y *M. leprae*.  
(19,20,21,22,23,24)

### **Coloración del extendido Ziehl-Neelsen.**

#### **Primer tiempo: coloración propiamente dicha.**

- Se colocan las láminas fijadas sobre las varillas de vidrio, ubicadas en el lavadero.
- Se cubre la totalidad de la superficie del extendido con la fucsina fenicada previamente previamente filtrada.
- Se pasa lentamente el mechero por debajo de las láminas hasta que se produzca la emisión de vapores. Al cesar la producción de los mismos se repite 2 veces más la maniobra. (el tiempo total es de 5 min. como mínimo)
- Se Elimina el exceso de fucsina, inclinando la lámina y lavando con agua a baja presión.<sup>(125)</sup>

### **Segundo tiempo: Decoloración.**

- Se cubre la totalidad de la superficie del extendido con el alcohol ácido; haciendo un movimiento de vaivén a la lámina. Al adquirir coloración roja se elimina el exceso de alcohol. Si el extendido se conserva rojo se repite la decoloración.
- Se considera decolorado cuando solo las partes más gruesas del extendido conservan un ligero tinte rosado. <sup>(125)</sup>

### **Tercer tiempo: Coloración de fondo.**

Se cubre la totalidad de la superficie del extendido con azul de metileno, el cual deberá, mantenerse por lo menos 30 segundos.

- Se lavan las caras de la lámina y se colocan sobre un papel absorbente y se dejan secar.
- El papel del “área contaminada”, debe ser descartado en el recipiente de incineración o en un recipiente que contenga desinfectante.
- La mesa de trabajo debe ser desinfectada con una esponja o algodón humedecido con fenol al 10% o cloro industrial.
- Por último se realiza el lavado de manos. <sup>(125)</sup>

### **Observación al Microscopio.**

Se debe observar con objetivo de inmersión x100. la lectura debe ser de manera sistemática y contar los bacilos ácido resistentes BAR en cada uno de los cuatro cuadrantes del campo microscopio.

- Para anotar el recuento de bacilos se utilizó El formato “Recuento Semicuantitativo”.<sup>(125)</sup>

### **Informe de los resultados.**

- (-) No se encuentran Bacilos Acido Resistentes (BAR) en 100 campos observados.
- + Menos de 1 BAR por campo en 100 campos observados.
- ++ 1 a 10 BAR or campo en 50 campos observados.
- +++ más de 10 BAR por campo en 20 campos observados.<sup>(125)</sup>

En casos que se encuentren sólo uno a cuatro bacilos en cien campos observados debe ampliarse la lectura a otros cien campos utilizando una nueva línea. Al examinar los 200 campos y persistir el número de bacilos de uno a cuatro, se realiza un nuevo extendido y si aún persiste esta situación se reporta el número de bacilos y se pide otra muestra.<sup>(125)</sup>

Al terminar la lectura se deben descartar los envases en el recipiente de incineración o el recipiente correspondiente con desinfectante.

Por último, dentro del programa de Control de la Tuberculosis en Venezuela se debe realizar el registro “Registro Diario de Actividades de Laboratorio (Baciloscopias)” (TB-02) y boletas de “Solicitud de Examen Bacteriológico Directo” (TB-01-D). Envío de Resultados y “Registros de Actividades Mensuales”. <sup>(125)</sup>

### **Cultivos.**

Los medios de cultivo primarios de las micobacterias deben incluir un medio no selectivo y un medio selectivo. El medio selectivo contiene antibióticos para evitar el crecimiento excesivo de las bacterias y los hongos contaminantes. Existen tres formulaciones generales que pueden emplearse para ambos medios selectivos y no selectivos. <sup>(20,21,126)</sup>

### **Medio de Agar semisintético.**

Estos medios (p. ej., Middlebrook 7H10 y 7H11) contienen sales definidas, vitaminas, cofactores, ácido oleico, albúmina, catalasa, glicerol, glucosa y verde de malaquita; el medio 7H11 contiene también caseína hidroxilizada. <sup>(20, 21,126)</sup>

La albúmina neutraliza los efectos tóxicos e inhibidores de los ácidos grasos en la muestra o en el medio. Los inóculos grandes producen crecimiento sobre estos medios en varias semanas. Puesto que se requieren inóculos grandes, estos medios resultan menos sensibles que otros para el aislamiento primario de las micobacterias. (20, 21,126)

Los medios semisintéticos se utilizan para la observación de la morfología de las colonias, pruebas de susceptibilidad y con antibióticos como medios selectivos. (20, 21,126)

#### **Medio de huevo inspizado.**

Estos medios (p. ej., Lôwentin-Jensen) contienen sales definidas, glicerol y sustancias orgánicas complejas (p. ej. huevo fresco o yema de huevo, harina de papa y otros ingredientes en combinaciones diversas). Se incluye verde de malaquita para inhibir otras bacterias. (20, 21,126)

Los inóculos pequeños procedentes de las muestras de los pacientes pueden crecer sobre estos medios en 3 semanas.

Estos medios con antibiótico incorporado se utilizan como medios selectivos. (20, 21,126)

### **Medios en Caldo.**

Los medios en caldo (p. ej., Middlebrook 7H9 y 7H12) se emplean para la proliferación de los inóculos pequeños. Ordinariamente, las micobacterias crecen en grumos o masas debido al carácter hidrófobo de la superficie celular. Si se añade detergente Tween (ésteres hidrosolubles de ácidos grasos) la superficie se humedece y por tanto se permite el crecimiento disperso en el medio líquido. El crecimiento con frecuencia es más rápido sobre medios complejos. <sup>(20, 21,126)</sup>

### **Amplificación de los ácidos nucleicos.**

Es sabido que los métodos diagnósticos de la TBC están basados en la determinación directa del bacilo o, en medir de manera indirecta la respuesta a la infección o la enfermedad. Los métodos directos más usados son la baciloscopia y el cultivo, estos permiten establecer un diagnóstico entre un 60% a 80% de los casos de TBC. La ventaja de estos radica en que permiten identificar los casos bacilíferos de gran importancia en los programas de control, aislar el bacilo para posteriores test de identificación y detección de los patrones de resistencia y son de muy bajo costo. <sup>(127)</sup>

Sin embargo, en los casos de infección y de enfermedad

en los estadios iniciales y en las formas de presentación extrapulmonar; como la tuberculosis ósea, meníngea y pleural, la utilidad de estos métodos antes mencionados se ve limitada debido a la baja sensibilidad (5 a 10 x 10 bacilos /ml de muestra) y especificidad del BK sumado a lo lento que resulta obtener un resultado del cultivo (4 a 8 semanas).<sup>(127)</sup>

Las características de crecimiento lento en los medios de cultivo ha llevado a desarrollar otro tipo de métodos que proporcionen un diagnóstico certero en un periodo de tiempo reducido, pero se hace necesario que el método cuente con la capacidad de ser sensible, específico y rápido de manera que el especialista pueda a la brevedad posible, instaurar la terapia antituberculosa. (7, 25, 42, 51, 106, 112)

La técnica de amplificación de blancos moleculares mediante reacción en cadena de la polimerasa (RCP) en Microbiología ha revolucionado el diagnóstico y estudio de enfermedades infecciosas ya que permite la detección específica y con una alta sensibilidad del genoma del microorganismo presente en la muestra clínica, superando en muchos casos a las técnicas microbiológicas basadas en el análisis de proteínas y microscopía empleadas de rutina. En base a esto el PCR viene a complementar los flujogramas de

diagnóstico o en algunos casos a cubrir la necesidad de un método diagnóstico confiable, sensible y específico que en algunos casos reemplaza los métodos diagnósticos tradicionales. <sup>(127, 128)</sup>

El ADN y ARN de un agente infeccioso puede ser aislado de una muestra clínica incluso cuando el número de organismos es bajo. Es por ello que su detección se hace útil en aquellos casos donde el microorganismo es difícil de cultivar por no disponer de métodos de cultivo efectivos o por tener un ciclo de crecimiento lento. <sup>(127,128)</sup>

Además, el uso de estas metodologías basadas en la detección del genoma de los microorganismos ha hecho posible estudios retrospectivos que permiten establecer la asociación o la participación de los agentes infecciosos en la etiología y patogénesis de enfermedades neoplásicas incluyendo el VPH en carcinomas cervicales, Virus de Epstein Barr, Virus Herpes 8 Humano en Sarcoma de Kaposi, por ejemplo. Así la lista de agentes infecciosos que puede ser detectados por PCR es extensa y la técnica ha sido usada para detectar microorganismos presentes en sangre, saliva, esputo, tejidos y otras muestras. <sup>(127)</sup>



### **Métodos directos.**

Se refieren a la detección de algún componente específico del bacilo presente en la membrana, pared bacteriana, citosol o producto de secreción, en este grupo se incluye la detección de secuencias nucleótídicas por hibridación y amplificación.

La hibridación usando sondas con secuencia nucleotídicas específicas (marcadas con detectores quimioluminocentes o fluorescente), proveen métodos altamente específicos para la identificación de *M. tuberculosis*, *M. kansasii*, *M. avium complex* y *M. goodnae*.<sup>(127)</sup>

Estos métodos permiten identificar en 2 o 3 horas, micobacterias aisladas de medios sólidos o líquidos, lo cual aventaja en tiempo y especificidad a los métodos bioquímicos convencionales de identificación que requieren semanas y la realización de muchos test bioquímicos.<sup>(127)</sup> Inclusive los métodos de amplificación de ácidos nucleicos (NAA) o de la señal de hibridación proporcionan una alternativa para la determinación del microorganismo, sin la necesidad del cultivo.<sup>(127)</sup>

La reacción en cadena de polimerasa (RCP), es el método de amplificación del blanco más ampliamente usado, otros

métodos menos utilizados incluyen la amplificación por desplazamiento de la cadena de la ligasa (LCR) y la  $\beta$ -Q replicasa que amplifican la señal, entre otras. Estudios clínicos usando o valorando el uso de la RCP demuestran la utilidad de los ensayos NAA en el diagnóstico de la tuberculosis pulmonar y extrapulmonar, con valores de sensibilidad del método de un 80 -100% y de especificidad de 70 – 100% en el diagnóstico.<sup>(127, 128)</sup>

En los casos con BK y cultivo positivo, la especificidad y sensibilidad del RCP es cercana al 100%. El diagnóstico de pacientes con tuberculosis, donde la concentración de bacilos en las muestras clínicas es poca, la sensibilidad es de 90% - 100% y la especificidad del 70 – 98%.<sup>(127)</sup>

Es importante señalar que la literatura reporta casos en los cuales los medios diagnósticos convencionales arrojan esputos negativos, o esputos y cultivos negativos para *M. tuberculosis*, o esputo y RX negativos para la enfermedad y en los cuales se han aplicado técnicas de biología molecular con resultados positivos, lo que demuestra la alta sensibilidad del método o los posibles errores producto de falso positivos, sin embargo, muchos de estos casos han mostrado adecuada respuesta la tratamiento médico. Es por ello, que también

estos métodos son aplicables al monitoreo del tratamiento. (8, 128, 129,130, 131, 132, 133)

El diagnóstico diferencial de lesiones de la cavidad bucal es un reto odontológico,<sup>(134)</sup> más aun en pacientes con HIV, y éste se ha beneficiado con la introducción de metodologías moleculares en la detección de algunos de los agentes infecciosos causantes de dicha lesiones. Algunos ejemplos donde el uso de estas metodologías ha permitido conocer el agente infeccioso causante de la lesión,<sup>(135)</sup> ha sido la identificación de especies o serotipos asociados a enfermedad periodontal, <sup>(136,137)</sup> la caracterización y conocimiento de la microflora bucal no cultivable o de difícil cultivo,<sup>(138)</sup> aparecen recientemente en la literatura. Algunos de los agentes infecciosos detectados en cavidad bucal o muestras que provienen de la misma incluyen: Virus Epstein-Barr,<sup>(139)</sup> herpes virus,<sup>(140,141)</sup> papiloma virus,<sup>(142,143,144)</sup> *Helicobacter pylori*, virus de hepatitis, candida, *Treponema denticola*,<sup>(145)</sup> entre otras. Otros agente infecciosos de vital importancia epidemiológica, que pudiese producir lesiones en la cavidad bucal y para el cual se requiere de un diagnóstico diferencial extenso sobre todo en pacientes con inmunocomprometidos y que además puede fácilmente ser transmitido en la unidades odontológicas es *M. tuberculosis*. Algunos de los reportes

recientes, incluyen el uso de esta metodología en el diagnóstico de lesiones en la cavidad bucal, primarias,<sup>(146)</sup> o como consecuencia de una infección pulmonar, es decir secundarias.<sup>(8, 106)</sup> También, en algunos casos se señala la posibilidad potencial de usar estas metodologías en la detección temprana de estas manifestaciones bucales.<sup>(116)</sup> La detección de *M. tuberculosis* en muestras bucales ha podido realizarse a partir de muestras de saliva, placa dental, extractos dentales, lesiones de caries, lo que sugiere la presencia en la cavidad bucal de *M. tuberculosis*, transitoriamente o produciendo lesiones de la cavidad bucal como consecuencia de una primoinfección o infección secundaria.<sup>(106,108)</sup> Estos estudios también muestran el desconocimiento actual de esta patología como riesgo odontológico, así como la presencia y permanencia de este agente infeccioso, *M. tuberculosis*, en la microflora de la cavidad bucal.<sup>(106,116)</sup>

### **Técnica de PCR en Tuberculosis.**

La amplificación de blancos moleculares ha sido introducida en el diagnóstico microbiológico con éxito, son numerosos los agentes infecciosos, que por su difícil o imposible cultivo, son ahora detectado mediante la

amplificación de secuencias nucleotídicas, género, especie o subespecie específicas.<sup>(147, 148)</sup> Una de las técnicas de amplificación más usadas es la reacción en cadena de la polimerasa, RCP, que más recientemente se acopla a la detección simultánea por RCP en tiempo real mediante la incorporación de sondas fluorescentes. La presencia de genoma del agente infeccioso de interés en muestras clínicas, puede ser detectada y amplificado usando esta técnica de PCR la cual permite amplificar más de un millón de veces un fragmento de DNA obtenido a partir de una región seleccionada del genoma, siempre y cuando se conozca una parte de su secuencia nucleotídica.

Para la PCR se utilizan dos oligonucleótidos sintéticos de unos 15-25 nucleótidos que son complementarios a las secuencias extremas que delimitan el fragmento a amplificar, es decir a ambos lados de la región que se quiere amplificar. Estos oligonucleótidos (habitualmente conocidos por su nombre en inglés, "primers") actúan como cebadores para la síntesis in vitro de DNA, la cual está habitualmente catalizada por una enzima termoestable, entre ellas la más común llamada taq polimerasa. Dichas enzimas se aíslan de bacterias termófilas, en este caso de *Thermus Aquaticus*, que es capaz de vivir a temperaturas elevadas (79-95 °C).

A esa temperatura dicha enzima es capaz adicionar más de 60 nucleótidos/segundo en regiones ricas en uniones G-C. La temperatura óptima a la que actúa la taq polimerasa (usualmente a 72 °C) y por ello permite el uso de elevadas temperaturas para la unión de los primers y para la extensión, de esta manera se aumenta el nivel de exigencia de la reacción y se reduce la extensión de los primers unidos inespecíficamente al DNA. <sup>(148, 149, 150, 151, 152, 153)</sup>

La reacción se lleva a cabo en una serie de ciclos cada uno de los cuales incluye tres fases o pasos:

**DESNATURALIZACIÓN:** Para que comience la reacción es necesario que el DNA molde se encuentre en forma de cadena sencilla. Esto se consigue aplicando temperaturas de 90 a 95°C que producen la rotura de los puentes de hidrógeno intercatenarios y por lo tanto la separación de ambas cadenas. Para conseguir la completa separación de las hebras de toda la muestra esta temperatura debe mantenerse unos minutos. Si el ADN solo se desnaturaliza parcialmente tenderá a renaturalizarse rápidamente, evitando así una eficiente hibridación de los primers y una posterior extensión. <sup>(148, 149, 150, 151, 152, 153)</sup>

**HIBRIDACIÓN:** Esta fase se denomina también fase de

“annealing” o de emparejamiento. Una vez que el DNA está desnaturalizado se disminuye la temperatura hasta un rango comprendido entre los 40 y los 60 °C para que se pueda producir la unión de los primers a las secuencias flanqueantes y complementarias al primer del fragmento que se va a amplificar. La temperatura de fusión o annealing ( $T_m$ , “melting temperature”) depende de varios factores y es relativamente específica para cada primer. La longitud de los primers y la secuencia son críticas en la designación de los parámetros de una amplificación. No obstante, cada primer exige una serie de estudios experimentales para determinar su temperatura de óptima de hibridación ya que si la temperatura es muy baja la unión se hará de forma inespecífica y si es muy alta no se producirá una unión completa. Además es importante también la estructura secundaria que pueda adoptar el primer. .<sup>(148, 149, 150, 151, 152, 153)</sup>

**EXTENSIÓN:** Durante este paso la taq polimerasa incorpora nucleótidos en sentido 5'- 3' usando par iniciar el extremo 3' OH del cada primer y utilizando como molde la cadena de DNA previamente desnaturalizada. La temperatura a la que se lleva a cabo este paso suele ser de 72 °C ya que es la temperatura a la que la taq polimerasa alcanza su máxima actividad. Normalmente una extensión de 20 segundos

es suficiente para fragmentos menores de 500 pb y de unos 40 segundos para fragmentos por encima de 1.2 Kb.

Un ciclo básico de PCR consiste en un primer paso previo de desnaturalización por unos 5 o mas minutos a 92-94 °C , seguido de unos 30-35 ciclos de desnaturalización, hibridación y extensión, y un paso final de extensión a 72 °C.

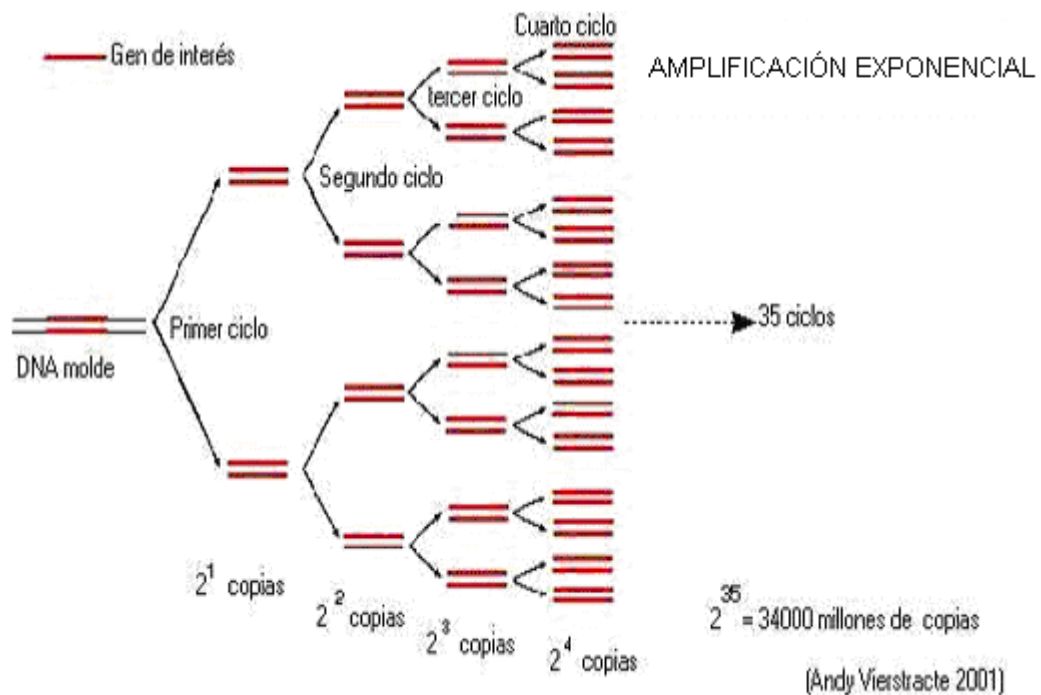


Figura 1: Representación esquemática de una reacción de PCR

La detección del agente infeccioso, como M. tuberculosis, presente en muestras clínicas requiere el aislamiento de DNA, su purificación y remoción de agentes que pudieran



inhibir la reacción de amplificación. En el caso específico de las muestras de cavidad bucal, saliva, tejido para dental, requiere la fluidificación de las muestras, por ejemplo usando agentes como N-acetil-L-Cisteína (NALC-NaOH) y la sedimentación de las bacterias presentes por centrifugación. Una vez obtenidas las bacterias presentes, estas pueden ser lisadas usando métodos físicos o químicos que incluyen ruptura de la pared y membrana bacteriana usando enzimas, detergentes o agentes caotrópicos. Una vez liberado el material genético de la bacteria éste es purificado utilizando métodos de extracción orgánica o separación mediante cromatografía de afinidad, seguidos de su precipitación en soluciones salinas alcohólicas. . (148, 149, 150, 151, 152, 153)

Una vez obtenido el ácido nucleico presente en la muestra clínica, la amplificación específica de secuencias nucleotídicas únicas del género, grupo o especie, *M tuberculosis*, se logra mediante la utilización de cebadores o primers (DNA de cadena sencilla de 20-25 pb) capaz de reconocer mediante hibridación el segmento a amplificar. Dentro de los blancos moleculares utilizados para detectar genoma de micobacterias del complejo tuberculosis (*M . tuberculosis*, *M boris*, *M africanum*, *M microtti*) se incluyen las secuencias de inserción altamente repetidas en el genoma de las micobacterias de ese

complejo, la secuencias de inserción *IS 6110* (pertenecientes a la familia IS3 de los elementos de transposición). Otras incluyen los genes que codifican una proteína de 32Kda y de otra de 64Kda y para una fosfolipasa, la secuencia *mtp 40*, específica de *M tuberculosis*,. Otros blancos específicos de las micobacterias incluyen los genes que codifican para la proteína de choque térmico de 65Kda, secuencias presentes en los espaciadores de RNA ribosomal, secuencias únicas del RNA ribosomal 16 S, entre otras. De todos estos blancos señalados uno de los mas usados es la secuencias de Inserción IS 6110, ya que se encuentra repetida en el genoma de *M tuberculosis* de 8-12 veces. La sensibilidad e un ensayo basado en esta secuencia equivale a  $10^{-12}$  a  $10^{-13}$  g de *M tuberculosis*, el equivalente genómico de a 0,1-1 micobacteiras. . (148, 149, 150, 151, 152, 153)

### **Técnicas Radiográficas.**

Como se señaló anteriormente, la tuberculosis pulmonar se sospecha inicialmente por los signos anormales visibles en la radiografía de tórax de un paciente que presenta síntomas respiratorios.

Aunque la imagen “Clásica” es la presencia de infiltrados y cavidades en los lóbulos superiores, en la práctica puede

verse cualquier patrón radiográfico (desde una radiografía normal o un nódulo solitario pulmonar,) hasta infiltrados alveolares difusos, en caso de SIDA, ninguna imagen radiográfica anormal puede considerarse patognomónica.<sup>(25, 26)</sup>

### **Prueba de Mantoux. Derivado Proteico Purificado. (PPD)**

#### **Tuberculina Vieja (OT).**

La tuberculina vieja (OT) es el reactivo de la prueba original para la reacción de la tuberculina, una prueba cutánea diagnóstica para la infección por *M. tuberculosis*.<sup>(20)</sup>

Descrita por primera vez por Koch en 1881, la tuberculina es un extracto antigénicamente crudo preparado a partir de caldos de cultivo de 6 semanas de incubación hervidos, filtrados para eliminación de los microorganismos concentrados diez veces por evaporación. El componente activo de este preparado es una proteína termoestable.

#### **Derivado Proteico Purificado (PPD)**

Es un preparado parcialmente purificado de la tuberculina vieja (OT) obtenido por fraccionamiento con sulfato de amonio. El producto está constituido de forma principal por una mezcla de pequeños tuberculoproteínas (2 y 9 KDa, respectivamente)

en contra posición con los 32KDa de la tuberculoproteína inmunógena natural.

Una gran partida de PPD, preparada por Seibert en 1939 ha sido designada como PPD-S y adoptada por la Organización Mundial de la Salud como la tuberculina-PPD Internacional. En la actualidad el PPD es el reactivo de la prueba usada para la reacción cutánea de la tuberculina. <sup>(20)</sup>

Si la persona afectada ha tenido TBC, las células T sensibilizadas reaccionan con estas proteínas y se produce una reacción de hipersensibilidad retardada en 48 horas. <sup>(19,20)</sup>

Una reacción positiva indica en algunos casos que hubo el contacto y sensibilización hacia *M. tuberculosis*, más no que hay la enfermedad por lo cual una prueba positiva debe ser complementada con otras pruebas, no obstante es un buen medio para estudiar contactos de personas que viven con alguna que padece la enfermedad, o personal de riesgo laboral. <sup>(147, 132)</sup>

Está reacción positiva aparece en forma de una induración y enrojecimiento de la zona que rodea al lugar de la inyección. Identifica la infección pasada y reciente con enfermedad o sin ella. <sup>(7, 25, 42, 51, 106, 112)</sup>

En las personas jóvenes, una prueba cutánea positiva posiblemente indica tuberculosis activa. En personas de más edad puede ser consecuencia de enfermedad previa, de la vacunación o un falso positivo. En ambos grupos de personas realizar radiografías y cultivo. <sup>(19)</sup>

El derivado proteico purificado (PPD) es el reactivo de la prueba cutánea que se usa principalmente para detectar hipersensibilidad en estas personas. Con la finalidad de lograr una adecuada reacción se utiliza la tuberculina de manera estandarizada (PPD-S) ya que antiguamente y de manera arbitraria se ha utilizado un contenido de 50.000 unidades de tuberculina (UT) por miligramo de proteína.

### **Administración de la prueba.**

Dosis estándar para la prueba de la tuberculina es de 0,1ml de PPD biológicamente equivalente a 5 UT de PPD-S.

- Se aplica inyección intracutánea (Método de Mantoux).
- Colocar la aplicación inmediatamente se haya cargado la jeringa.
- A las 48-72 horas se realiza la lectura.
- La respuesta está representada por la presencia de induración en la piel visible y palpable.

- Se mide el diámetro de la induración de forma transversal al eje mayor del antebrazo y se registra en milímetros.
- Dosis de 5 UT que produce induración de 10mm o más es prácticamente diagnóstica de infección por *M. tuberculosis*.
- Una reacción mayor de 5mm pero menor de 10mm es dudosa porque puede ser positiva a otras micobacterias.
- Si se presenta eritema sin induración o la induración es menor de 5mm, la reacción se considera negativa y el paciente debe ser sometido a una nueva prueba con 250UT. Si la reacción es dudosa puede existir una reacción cruzada con otras micobacterias.
- En una persona VIH+ una reacción > de 5mm se considera positiva. <sup>(19)</sup>

Esta prueba se considera una herramienta más para el diagnóstico de la tuberculosis. Sin embargo, tiene poco valor diagnóstico por su falta de sensibilidad y especificidad, los falsos negativos son frecuentes en los pacientes inmunodeprimidos y en los afectados por una TBC fulminante, se obtienen reacciones positivas en los pacientes infectados por *M. tuberculosis* pero sin lesiones activas y en las personas sensibilizadas a las micobacterias no tuberculosis o que fueron vacunadas con el bacilo de Calmette-Guérin, si falta el

antecedente de vacunación con la BCG, una prueba de tuberculina es un dato más a favor del diagnóstico de tuberculosis en los casos donde el cultivo sea negativo. <sup>(45)</sup>

## **MATERIALES Y METODOS.**

**Equipos de laboratorio utilizados:** Congelador -20° (Labconco), Incubadoras, microcentrífuga (Eppendorf), Termociclador 9700 (Applied Biosystems), Equipo de fotodocumentación (Gel doc 2000 Bio Rad) Transiluminador UV (Hoeffer Scientific), cámaras de electroforesis (Biorad), micropipetas automáticas de volúmenes variables para PCR p10, p20, p200 (Gilson)

**Materiales y suministros de laboratorio:** Tubos de 0,2 ml de pared delgada para PCR, puntas para pipetas sin filtro y con filtro, fenol, cloroformo, alcohol isosamílico, Tris Base, EDTA, ácido Bórico, Tween 20, Triton X-100, SDS, lisozima, proteinasa K, acetato de sodio, agua destilada libre de RNAasa y DNAasa, Isopropanol, *tag* polimerasa platinum, dNTPs, cebadores, etanol, agarosa, bromuro de etidio, azul de bromofenol, azul de xilencianol, glicerol, sacarosa, marcador de pesos molecular escalera del 100 pb de bases.

### **Soluciones**

Solución de lisis: Tris/HCl 50mM pH8,3 / EDTA 1mM, 0,5% de Tween-20

Lisozima: concentración 20 mg/ml.



Proteinasa K concentración 40 mg/ml

Solución de Fenol/cloroformo/isoamílico 24:24:1

Acetato de sodio 3M

Etanol al concentración 70%.

Amortiguador TE 1X.

10x PCR Buffer Invitrogen. (200mM tris/HCL pH 8,4 / 500mM KCL)

dNTPs (desoxinucleotidos trifosfatos de Adenina, Citosina, Guanina y Timina) a 20mM.

Primers usados solución stock:

Geles de agarosa la 1,5 %.

Buffer para electroforesis de Tris- Borato (TBE): 0,5X:  
0,045M Tris-borato / 0,001M EDTA. (pH 8,0).

Solución de cargado de geles 30% de sacarosa y 0.25% con azul de Xilencianol y bromofenol

Bromuro de etidio 10 mg /ml

Dilución del marcador de peso molecular, amortiguador TE.

### **Material Biológico.**

Biopsias de encía de pacientes VIH + y VIH- diagnosticados con TBC que presentaron lesiones sugerentes de TBC en tejido, provenientes de los Servicios de Neumonología del Hospital Simón Bolívar Instituto Venezolano de Seguro Social (IVSS) y del Hospital Militar “Dr. Carlos Arvelo”.

Muestras de saliva y placa dental de los pacientes a los cuales se les realizó la biopsia.

### **Selección de la muestra.**

De los 20 pacientes que ingresaron a este estudio, 17 de ellos fueron evaluados en el Servicio de Neumonología y Hospitalización de pacientes VIH+ del Hospital Simón Bolívar y 3 en la sala de Hospitalización de pacientes VIH+ del Hospital Militar “Dr. Carlos Arvelo”.

Los pacientes examinados se dividieron en dos grupos:

**Grupo A** (10 pacientes VIH+) se tomarón en cuenta características clínicas, epidemiológicas, radiografía y microbiología positivas a infección por *Micobacterias* del complejo *tuberculosis*, con exámenes correspondientes a

niveles de CD4, CD8 y carga viral, con criterios descritos por diversos autores en cuanto a alteraciones periodontales producidas por TBC <sup>(4,79)</sup>, inflamación de la encía, cambio de color y textura, presencia de sangramiento e irritantes locales de manera local o generalizada, migración de la encía y otras entidades como úlcera por TBC en lengua, mucosa, labio, piso de boca y paladar, . <sup>(77, 78, 80, 81, 82,83, 84, 85, 86, 87, 89, 90, 91,92,93,)</sup> goma por TBC, <sup>(79,97)</sup> Linfadenopatías cervical por TBC, <sup>(100)</sup> parotiditis por TBC .<sup>(99)</sup>

**Grupo B** (10 pacientes VIH-) Para la inclusión se tomo en cuenta las características clínicas, epidemiológicas, radiografía y microbiología positivas a infección por *Micobacterias* del complejo *tuberculosis*, en cuanto a los criterios de evaluación estomatológica se aplicaron los descritos para el grupo A.

Para ambos grupos se tomaron como criterios de exclusión:

1.- Pacientes con tratamiento supervisado instaurado con más de 15 días y que no recibían su dosis supervisada en el mismo hospital.

2.- Pacientes con reinfección de tuberculosis tanto del grupo VIH+ como VIH-

3.-Pacientes menores de 16 años.

### **Análisis Clínico.**

El manejo de cada paciente implicó la utilización de historia clínica y examen clínico bucal.

1.-Dentro de los elementos valorados en la historia clínica general tenemos:

- Edad y sexo.
- Procedencia.
- Nivel de instrucción.
- Peso.
- Consumo de drogas y alcohol.
- Enfermedades sistémicas asociadas.
- Examen radiográfico.
- Exámenes microbiológicos: Baciloscopia y Cultivo de micobacterias.

En el caso de los pacientes VIH+ se tomó en cuenta la clasificación de la infección por el VIH y criterios de definición

del SIDA, según la cifra de linfocitos CD4, proporcionada por los Centros de Prevención y Control de Enfermedades Infecciosas. (Center For Disease Control and Prevention CDC)

2.-Elementos clínicos bucales valorados.

- Tipo de lesión. Inflamatoria, ulcerosa o tumoral.
- Ubicación.
- Tamaño.
- Sangramiento a la exploración.
- Color, textura.

#### **Procedimiento para la toma de muestra.**

La recolección de las muestras de los pacientes que participaron en el presente estudio se realizó una vez que estos aceptaron participar en el estudio y firmando un consentimiento escrito que se anexa

#### **Muestra de Saliva.**

La recolección de la muestra de saliva fue igual para el grupo A y el Grupo B y se realizó pidiéndoles a los pacientes que colocaran una muestra de saliva de unos 2- 3 ml de saliva

sin esputo en un recipiente estéril con boca ancha de rosca tipo: Urolab. Estas muestras fueron posteriormente transferidas con una jeringa estéril a un tubo de 1,5 ml para su preservación a -20°C hasta su procesamiento.

#### Muestra de placa dental y encía

Tanto para el grupo A como para el grupo B se tomaron muestras de placa dental cercana o que rodeaba el área afectada. Esta muestra de placa dental se preservó a -20°C hasta su procesamiento.

#### Muestra de encía

Posteriormente a la toma de saliva y placa dental se tomó una muestra de tejido lesionado, en la mayoría de los casos de aproximadamente de 1/2 centímetro, previamente se anestesió y se realizó la incisión indicada anteriormente con bisturí. Este tejido se preservó con la finalidad de realizar estudio histopatológico de la lesión y RCP del mismo. Los pasos fueron los siguientes:

- 1.-Evaluación inicial y ubicación de la lesión.
- 2.-Aislamiento de la zona, con rollos de algodón.

3.-Toma de la placa dental con espátula estéril y almacenamiento en tubos de 1,5 ml para su preservación a -20° C hasta su procesamiento.

4.-Limpieza del área afectada con hisopos estériles y antiséptico.

5.-Incisión con hoja de bisturí N. 15, siguiendo el contorno de la encía afectada, división del bloque en dos, uno se conservó y fijó en formol y el otro se preservó a -20° hasta su procesamiento con la técnica de RCP.

**Amplificación de secuencia nucleotídicas del complejo tuberculoso por reacción en cadena de la polimerasa (RCP) .**

**Extracción y purificación del ADN genómico.<sup>(133)</sup>**

**Extracción del ADN de las muestras de tejido, placa dental y saliva.**

El primer paso para la extracción del ADN consistió en la digestión de las muestras a las cuales se les colocó solución de lisis: Tris/HCl 50mM pH 8,3, EDTA 1mM 0,5% de Tween -20 y proteinasa K a una concentración de 250µg/ml. Se dejó en incubación en baño de María durante toda la noche a una

temperatura de 65°C, transcurrido el tiempo se inactivó la proteinasa K a 95°C durante 20min.<sup>(150,151,152,153)</sup>

Para asegurar que se rompieran las paredes de las micobacterias presentes en la muestras se realizó una segunda digestión agregando 8 µl de Lisozima a una concentración de 200 µg /ml se incubó a 37°C durante 1 hora.

Transcurrida la hora se procedió a realizar la extracción del ADN usando una mezcla de solventes orgánicos de Fenol/Cloroformo/alcohol isoamílico (25:24:1) para lo cual se empleó un volumen igual a la mezcla inicial es decir 200 µl de este, se procedió a centrifugar a 12.000 x g durante 10 minutos. Posteriormente se tomó la fase acuosa y parte de la interfase para ser transferido a un tubo nuevo de 1,5 ml

Se agregó nuevamente un volumen de la solución fenol/cloroformo/isoamílico se agito y se centrifugó nuevamente durante 10 min a 12.000 x g y se tomó la fase acuosa, que contiene el ADN, se cuantificó el volumen y se ajustó a una concentración de 0.3 M de acetato de sodio, usando 0,1 volúmenes de acetato de sodio 3M. Se agitó y se le agregaron 0,7 volúmenes de isopropanol para precipitar los ácidos nucleicos al incubar a -20°C por una hora.<sup>(150,151,152,153)</sup>



La suspensión obtenida se centrifugó a 12.000 x g por 15 minutos, posteriormente se lavó el sedimento obtenido con etanol al 70%, se dejó secar el sedimento y se resuspendió en 100µL de amortiguador TE.

### **Técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa. (RCP)**

Para realizar la RCP se empleó el protocolo previamente descrito por Kolk y col, 1992, 1996,<sup>(155)</sup> que se basa en la amplificación de un fragmento de 245 pb del elemento de inserción *IS 6110* Para la reacción de amplificación se utilizaron los cebadores Pt8 (5'GTGCGGATGGTCGCAGAGAT-3') y Pt9 (5'-CTCGATGCCCTCACGGTTCA-3') que hibrida con la bases 105-124 y 626 a 645, respectivamente del elemento de inserción *IS 6110*.

Se elaboró una ficha técnica que permitió el cálculo de los reactivos a usar en una reacción de volumen final de 25µl. Ver anexo. La reacción de PCR se realizó utilizando como enzima la *taq polimerasa platinum* de alta eficiencia, en presencia de concentraciones finales de: 1º mM Tris –HCl (pH 8.3), 50 mM de NaCl, 3 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,01% de gelatina, 0,2 mM de dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) , una (1U) unidad de *taq polimerasa platinum* y 0,4 µM de cada cebador. Se utilizaron en cada reacción un volumen del 2-10 µl del total de DNA

aislado de las diferentes muestras clínicas. (150,151,152,153)

Los volúmenes de agua y de muestra en el caso de saliva y placa dental fueron ajustados, para disminuir la cantidad de agua y aumentar la cantidad de muestra sin alterar el volumen final de 25 $\mu$ l.

PCR Is6110	Sección BIOMAI-IME-UCV	Fecha: 22/02/07		Hora: 8:am a 4:pm			
Operador: Briceño	María Correa, Natali	Tipo de muestra: Tejidos		Termociclador: AP Biosintes			
Pacientes	Muestra (7)	Agua (1)	Buffer (2)	DNTP (3)	Primer (4)	Taq (5)	MG++ (6)
Pac. 1.	2µl / +	12,75µl	2,5µl	ACGT, 1µL	1/10µl	0,5µl	1,5µl
Pac. 2	-						
Pac. 3	+						
Pac. 4	+						
Pac. 5	-						
Pac. 6	+						
Pac. 7	+						
Pac. 8	+						
Pac. 9	-						
Pac. 10	-						
Control +	+						
Control -	-						
Vol. Final	25µl	318,75µl	62,5µl	25µl	25µl ACGT	6,5µl	37.5µl
Taq Polimerasa: Platinun 10966039							
Electroforesis: 23/02/07							

PCR <i>Is6110</i>	Sección BIOMAI- IME-UCV	Fecha: 22/02/07	Hora: 8:am a 4:pm				
Operador: María Correa, Natali Briceño		Tipo de muestra: Saliva /pd	Termociclador: AP Biosystem				
Pacientes	Muestra (7)	Agua (1)	Buffer (2)	DNTP (3)	Primer (4)	Taq (5)	MG+ +(6)
Pac. 1.	4µl / +	6,5µl	2,5µl	2µL	2µl	0,5µl	1,5µl
Pac. 2	-						
Pac. 3	+						
Pac. 4	+						
Pac. 5	-						
Pac. 6	+						
Pac.7	+						
Pac.8	+						
Pac.9	-						
Pac.10	-						
Control +	+						
Control -	-						
Vol.Final	25µl para 20 tubos	169µl	65µl	52µl	13µl ACGT	13µl	39µl
Programa: Exp 012 NATI			Foto del Resultado.				
Taq Polimerasa: Platinum 10966039							
Electroforesis: 23/02/07							

Posterior a la realización de los cálculos y preparación de la mezcla de RCP, se procedió a colocar los tubos para tal fin 0,2 ml en el termociclador Applied Biosystem, programado a 40 ciclos de amplificación usando el siguiente esquema: un paso de desnaturalización a 92° C por 10 minutos, seguido de 40 ciclos 1,5 minutos de desnaturalización a 92° C, 2 minutos de hibridación a 65° C seguidos de un paso de 3 minutos de extensión a 72 ° C, al completarse los ciclos se realizó un paso de extensión de extensión a 72 ° C por 10 minutos:

### **Electroforesis en gel de Agarosa.**

Una vez culminado el ciclo del RCP en el termociclador se procedió a realizar la electroforesis en geles de agarosa al 1-5 %. En una cámara de electroforesis midisub de BioRad, usando amortiguador TBE 1X. Las muestras fueron colocadas en los bolsillos utilizando como amortiguador de carga una solución al 30% de glicerol con 0,025% indicadores de azul de bromofenol y xilencianol. Se utilizó como marcador de peso molecular una escalera de 100 pb de Invitrogen. Los geles fueron observados en un transiluminador y fotografiados usando un equipo de foto documentación de geles Gel –Doc 2000 de Biorad.

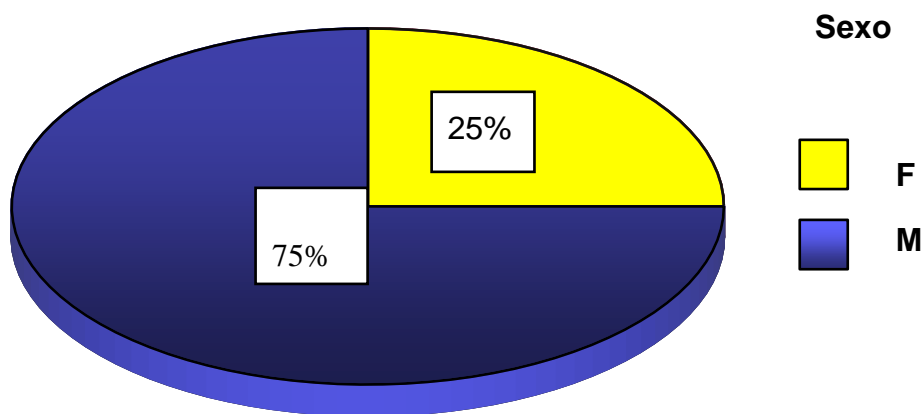
## RESULTADOS.

### 1.- DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH- SEGÚN SU GÉNERO.

En el gráfico N° 1 se puede observar que el género más representativo fue el masculino con 75%, en tanto que el 25% restante, correspondió al género femenino.

Gráfico N° 1

Distribución de pacientes con TBC VIH+ y VIH- según su género.

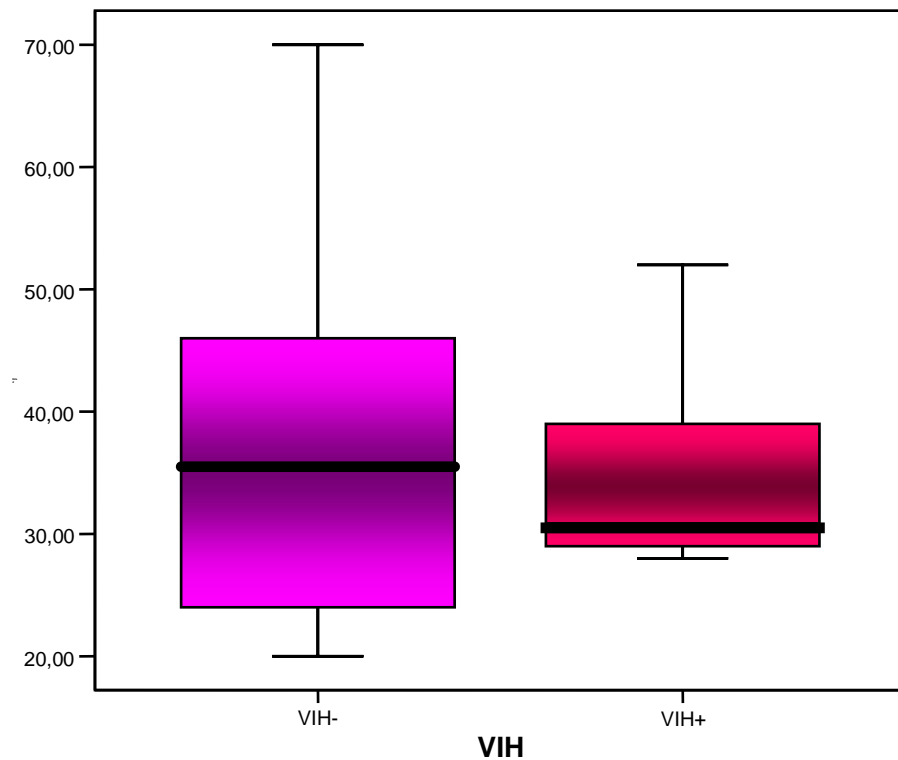


## 2.- DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH- SEGÚN SU EDAD.

La edad promedio de los pacientes evaluados con TBC VIH+ fue de 35 años, el grupo con TBC VIH – fue de 32 años de edad, y el rango general de edad estuvo entre 20 y 71 años.

**Gráfico N°2**

**Distribución de pacientes con TBC VIH+ y VIH- según su edad.**

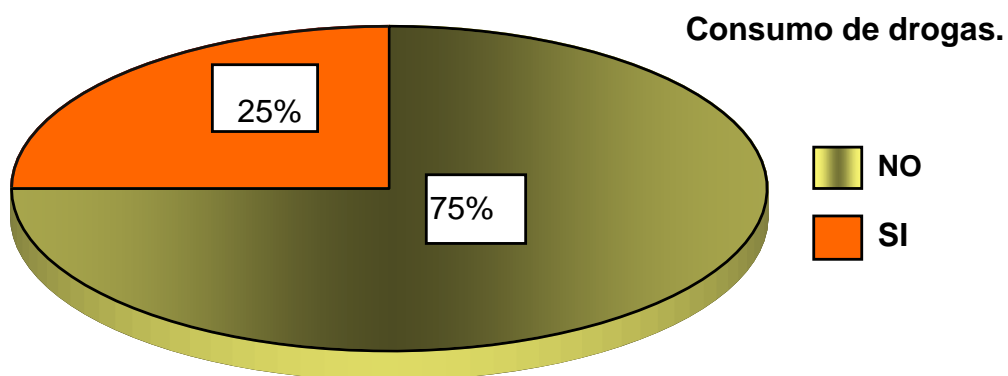


### 3.- DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH- CON HÁBITOS DE DROGAS ASOCIADOS.

En el gráfico N° 3 se puede observar que el 75% de los pacientes evaluados no consumían drogas, mientras que otro 25% presentaba adicción a diversas drogas.

**Gráfico N° 3**

**Distribución de pacientes con TBC VIH+ y VIH- con hábitos de drogas asociados.**



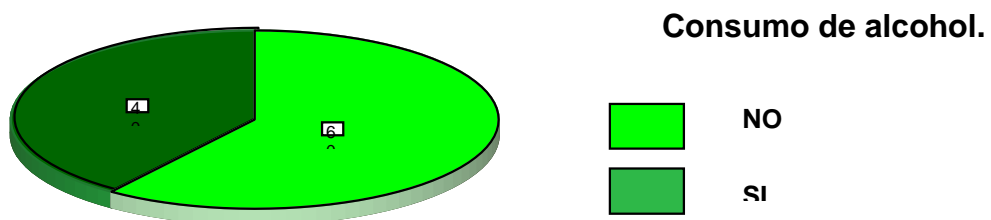


#### 4.- DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH- CON HÁBITO DE ALCOHOL ASOCIADO.

En el siguiente gráfico se puede observar que el 60% de los pacientes seleccionados no presentó hábitos de alcohol, mientras que el 40% restante si presentó consumo de alcohol asociado.

**Gráfico N° 4**

**Distribución de pacientes con TBC VIH+ y VIH- con hábito de alcohol asociado.**

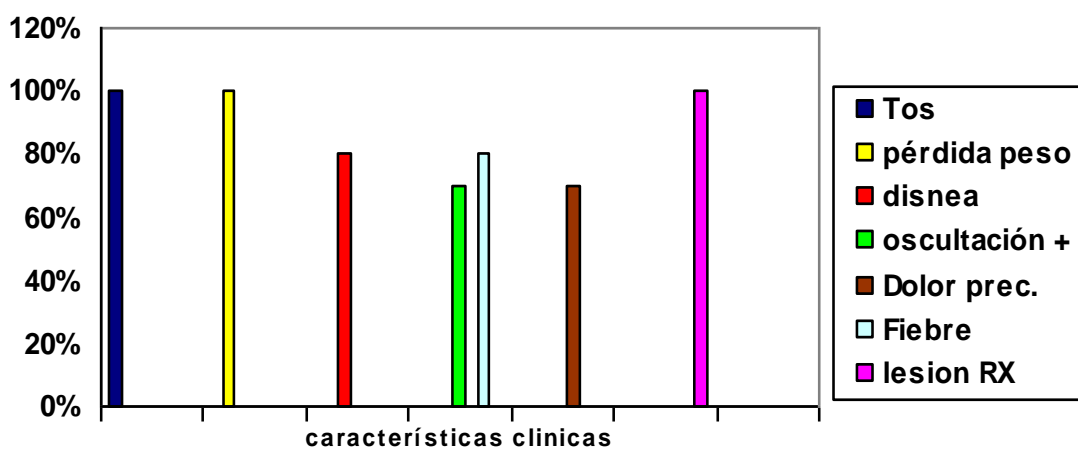


## 5.- SIGNOS Y SÍNTOMAS QUE PRESENTARON LOS PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH-.

En el siguiente gráfico se puede observar que la tos, pérdida de peso, y lesión radiográfica fueron los criterios más significativos en la evaluación clínica de los pacientes con un 100% (20/20), 80% (16/20) presento disnea y fiebre y 70% (14/20) presento auscultación positiva y dolor precordial.

Gráfico N° 5

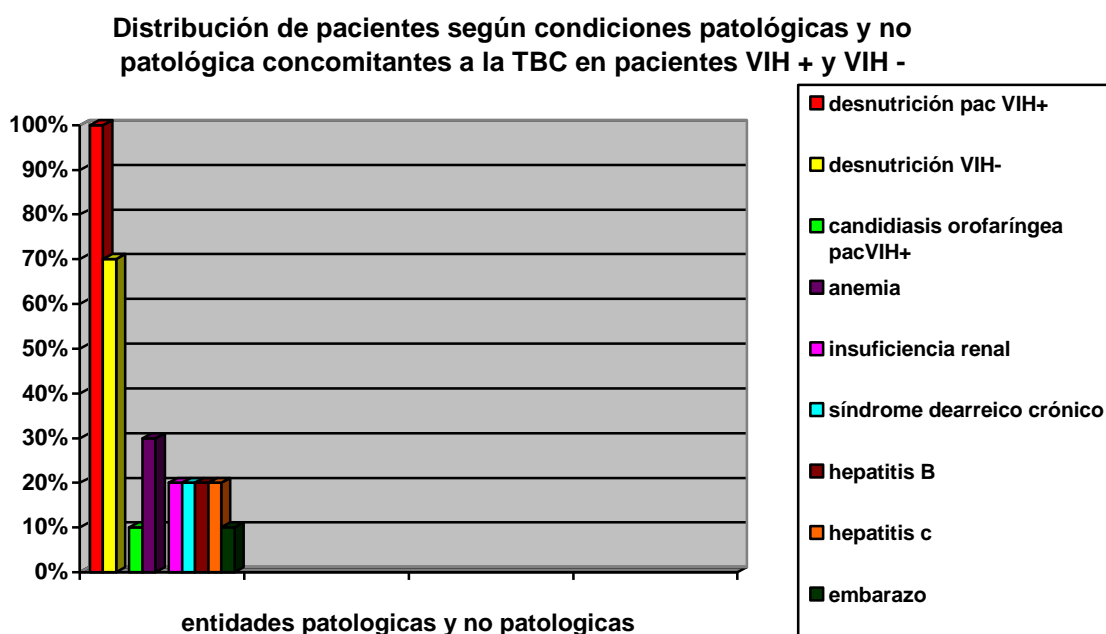
Signos y síntomas que presentaron los pacientes con TBC  
VIH+ VIH-



## 6.-DISTRIBUCION DE PACIENTES SEGÚN ENTIDADES PATOLÓGICAS Y NO PATOLÓGICAS CONCOMITANTES A LA TBC EN LOS PACIENTES VIH+ Y VIH-.

En el siguiente gráfico se puede observar que la desnutrición fue un factor común para ambos grupos de estudio; es así como 100% (10/10) de los pacientes con TBC VIH+ y 70% (7/10) de los pacientes con TBC VIH- presentaron desnutrición, seguido de un 30% (3/10) los cuales presentaron anemia, y 30% (3/10) que presentaron diferentes entidades como insuficiencia renal, síndrome diarreico, hepatitis B y C y finalmente como entidad no patológica 10% (1/10) de los pacientes con TBC VIH+ presentó cuatro meses de gestación.

**Gráfico N° 6**



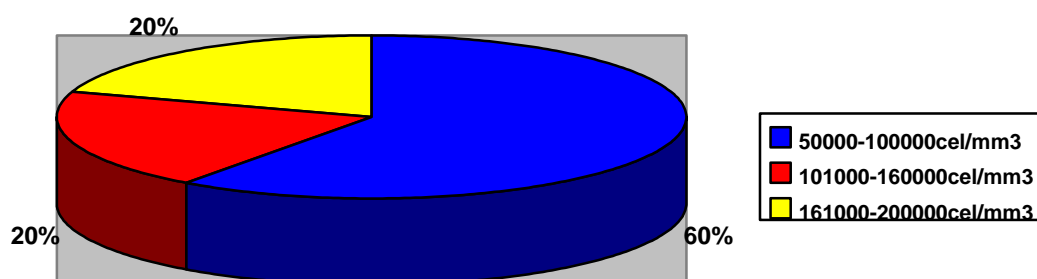
## **7.- NIVELES DE CELULAS CD4+ DE LOS PACIENTES CON TBC VIH+.**

En el siguiente gráfico se puede observar que el recuento de linfocitos CD4+, fue variado 60%, (6/10) de los pacientes VIH+ con TBC presentó un recuento de células entre 50 y 100cel/mm<sup>3</sup>, seguido de 20% (2/10) con un recuento celular entre 101 y 160cel/mm<sup>3</sup> y finalmente un igual porcentaje de pacientes presentó un recuento linfocitario entre 161 a 200cel/mm<sup>3</sup>

Es importante señalar que estos pacientes son incluidos en la categoría C3 según criterios de clasificación de SIDA para pacientes adultos y adolescentes utilizados por los CDC, (1993), ya que los mismos cuentan con recuento linfocitario menor a 200cel/mm<sup>3</sup>.

**Gráfico N° 7**

**Niveles de células CD4+ de los pacientes con TBC VIH+.**

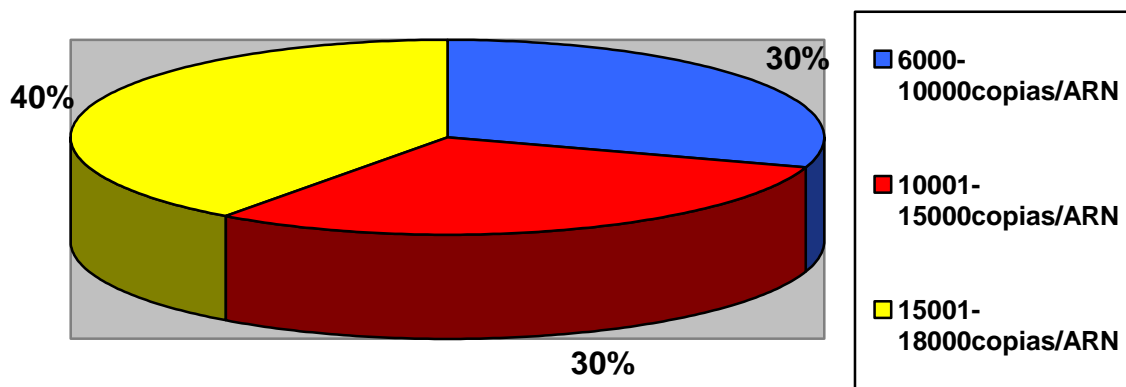


## 8.- NIVELES DE CARGA VIRAL DE LOS PACIENTES CON TBC VIH+.

En el gráfico N° 8 se puede observar que los pacientes con TBC VIH+ presentaron niveles elevados de carga viral, 40% (4/20) de los pacientes mostró un recuento viral entre 15.001 Y 18.000copiasARN, 20% (2/10) entre 10.001 y 15.000 copiasARN y 20% (2/10) entre 6000 y 10000 copias virales.

**Gráfico N° 8**

**Distribución de carga viral en los pacientes VIH+ con TBC**

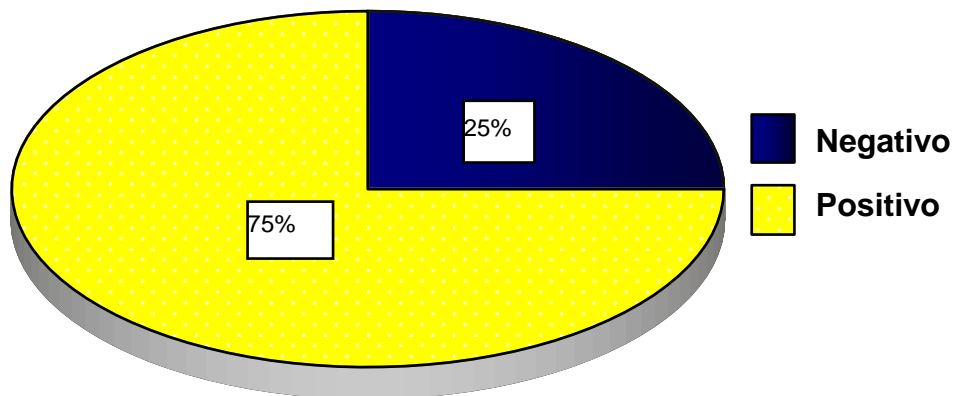


## 9.-DISTRIBUCIÓN GENERAL DE PACIENTES CON PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS CONVENCIONALES, BK.

En el gráfico N° 9 se puede observar que 75% (15/20) de los pacientes presentó baciloscopia (BK) positivo y con 25% (5/20) queda representado el grupo de pacientes que presentó BK negativo.

Gráfico N° 9

Distribución general de pacientes con pruebas microbiológicas convencionales, BK.

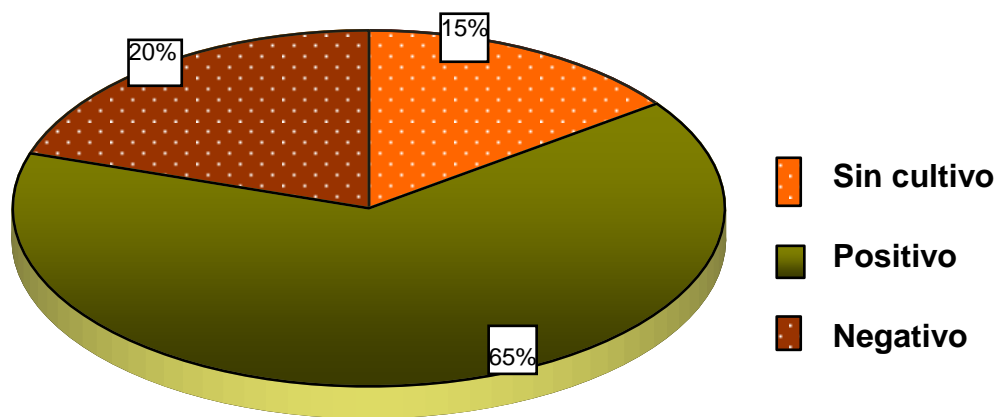


**10.- DISTRIBUCIÓN GENERAL DE PACIENTES CON PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS CONVENCIONALES, CULTIVO PARA *M. tuberculosis* .**

En el siguiente gráfico se observa que el 65% (13/20) de los pacientes presentó cultivo positivo para el crecimiento de *M. tuberculosis*, 20% (4/10) presentó cultivo negativo para el crecimiento de este microorganismo y 15% (3/20) no presentó cultivo.

**Gráfico N° 10**

**Distribución general de pacientes con pruebas Microbiológicas convencionales, cultivo para *M. tuberculosis* .**



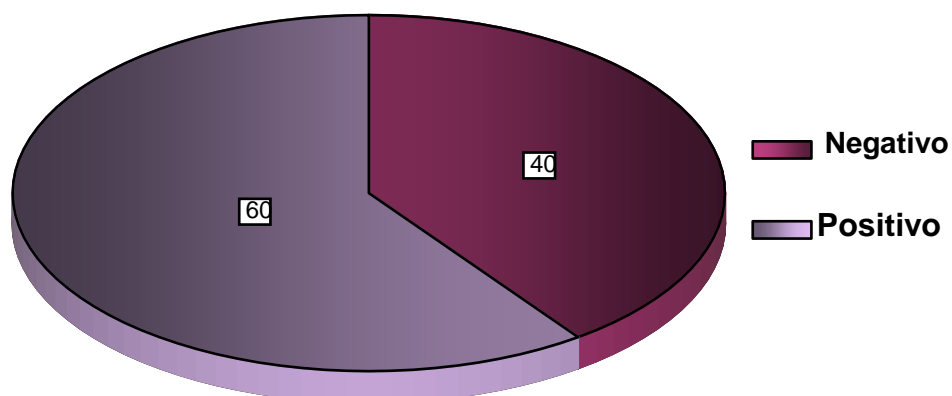


### 11.- DETECCIÓN DE *M. tuberculosis* DE MUESTRAS DE TEJIDO PERIODONTAL, A TRAVES DE LA TECNICA DE RCP EN PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH-

En el siguiente gráfico se puede apreciar que el 60% (12/20) de los pacientes presentó RCP de tejido positivo y 40% (8/20) negativo.

Gráfico Nº 11

Detección de *M. tuberculosis* de muestras de tejido periodontal, a través de la técnica de RCP en pacientes con TBC VIH+ Y VIH-

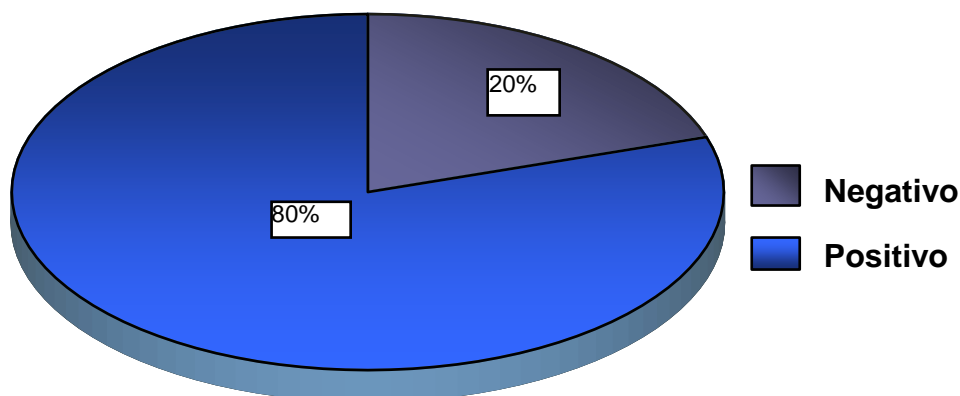


**12.- DETECCION DE *M. tuberculosis* DE MUESTRAS DE PLACA DENTAL A TRAVES DE LA TECNICA DE RCP DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH-**

En el siguiente gráfico se puede apreciar que 80% (18/20) de los pacientes presentó RCP de placa dental positivo para la detección de *M. tuberculosis* y 20% (2/20) RCP negativo.

**Gráfico N° 12**

**Detección de *M. tuberculosis* de muestras de placa dental a través de la técnica de RCP de pacientes con TBC VIH+ y VIH-**

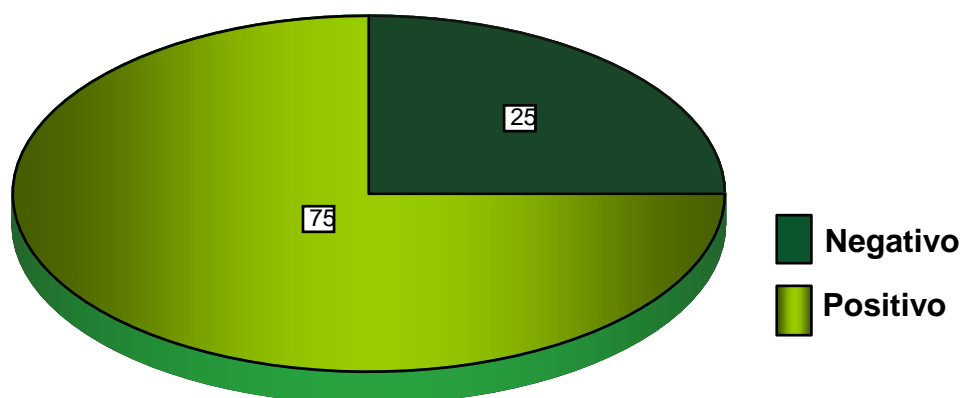


**13.- DETECCION DE *M. Tuberculosis* DE MUESTRAS DE SALIVA A TRAVES DE LA TECNICA DE RCP EN PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH-.**

En el Gráfico N° 13 se puede observar que 75% (15/20) de los pacientes presentó RCP de saliva positivo a la RCP y 25% (5/20) presentó RCP negativo.

**Gráfico N° 13**

**Detección de *M. tuberculosis* de muestras de Saliva a través de la técnica de RCP en pacientes con TBC VIH+ VIH-**

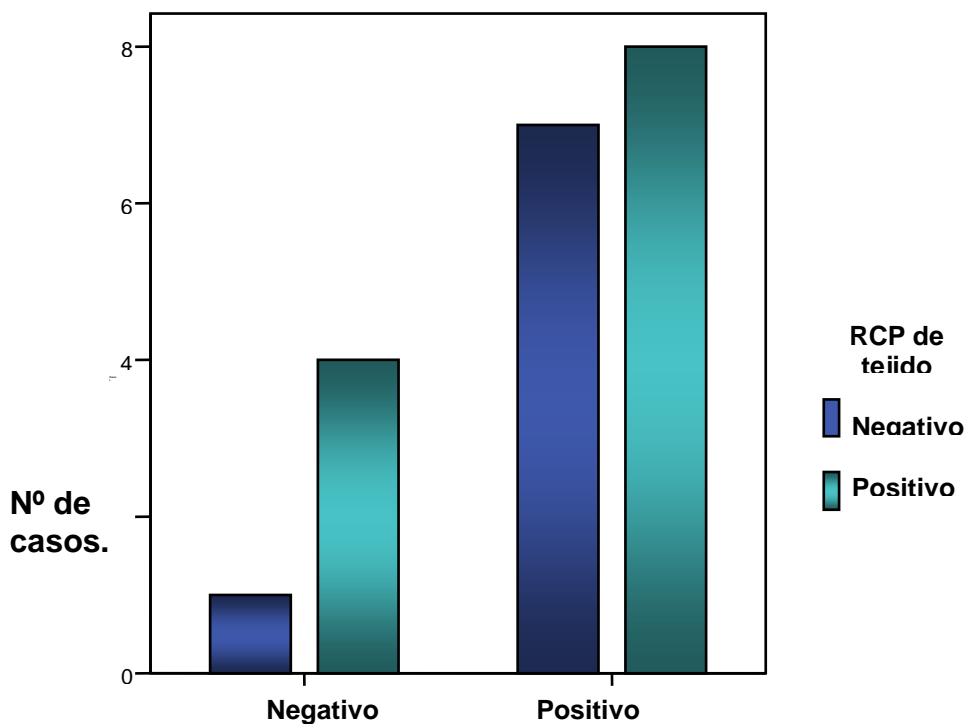


#### 14.- RELACIÓN GENERAL ENTRE LAS PRUEBAS CONVENCIONALES BK Y RCP DE TEJIDOS DE PACIENTES CON TBC.

En el gráfico N° 14 se observa que 40% (8/20) pacientes presentaron RCP de tejido y BK positivo, 20% (4/20) pacientes exhibió RCP positivo y BK negativo, 35% (7/20) pacientes resultaron negativos en RCP con 35% (7/20) BK positivos y finalmente 5% (1/20) pacientes presentó ambas pruebas negativas.

Gráfico N° 14

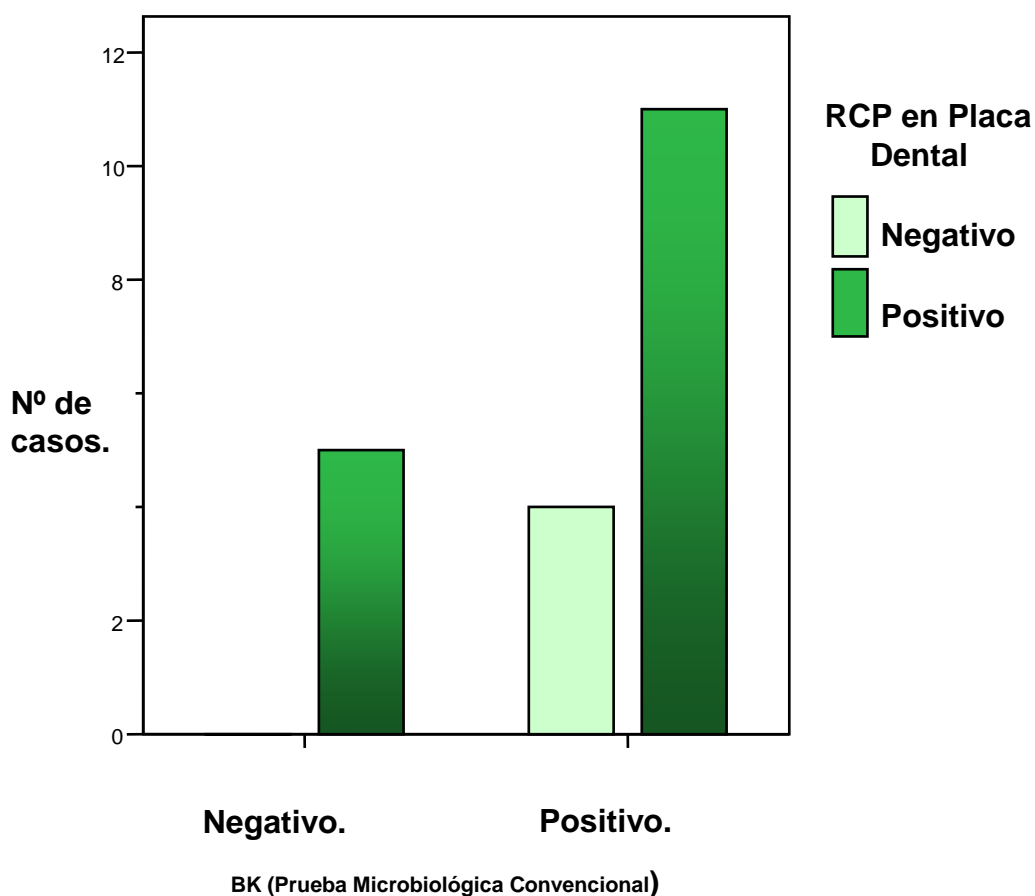
Relación general entre las pruebas convencionales BK y RCP de tejidos de pacientes con TBC.



## 15.-RELACION GENERAL ENTRE PRUEBAS CONVENCIONALES Y RCP DE PLACA DENTAL.

En el gráfico N° 15 se puede observar que 55% (11/20) de los pacientes presentaron RCP de placa dental positivo con 55% (11/20) BK de esputo positivos, 5/20 RCP fueron positivos con 25% (5/20) BK negativos y 20% (4/20) RCP resultaron negativas con 20% (4/20) BK positivos.

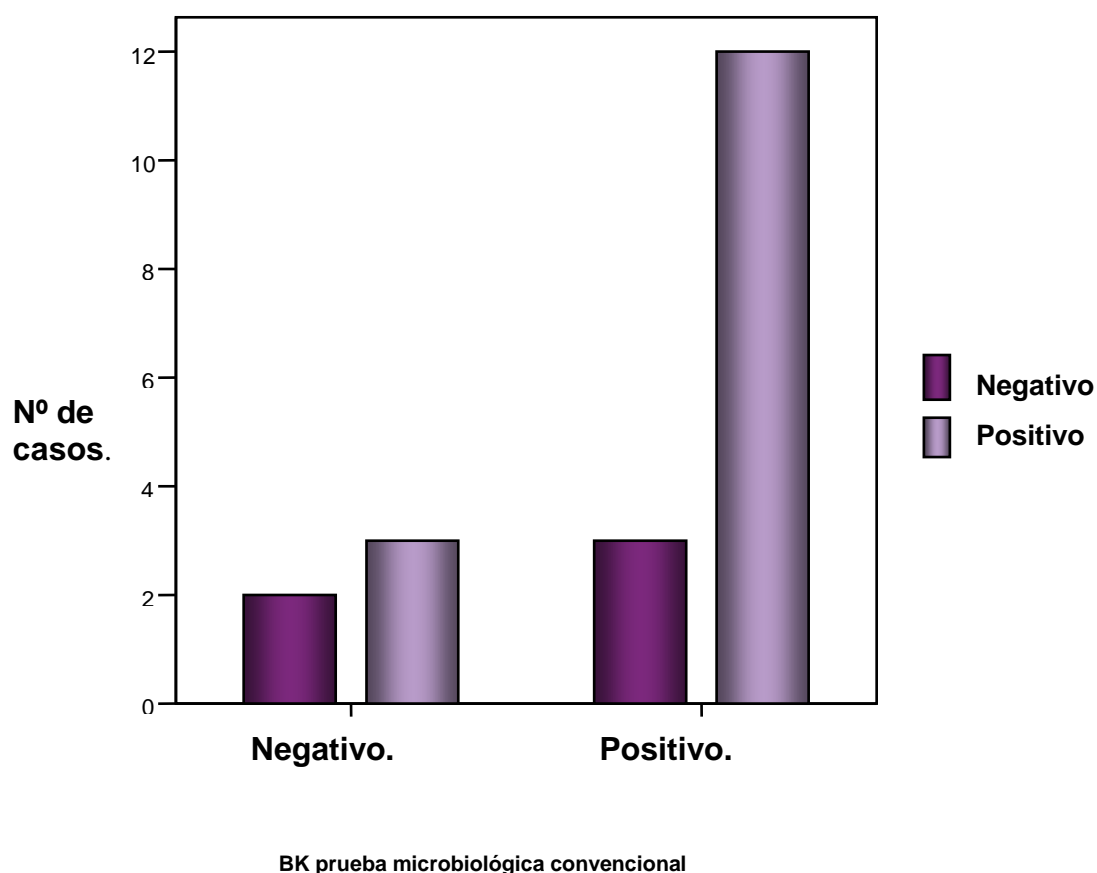
**Gráfico N° 15. Relación general entre pruebas convencionales y RCP de placa dental.**



## 16.-RELACION GENERAL ENTRE PRUEBAS CONVENCIONALES BK Y RCP DE SALIVA.

En el gráfico N° 16 se puede observar que 60% de los pacientes (12/20) presentó RCP de saliva positivos al igual que 60% (12/20) BK, 15% (3/20) RCP de saliva fueron positivos con 3/20 BK negativos, 15% (3/20) RCP fueron negativos con 15% (3/20) BK negativos y finalmente 10% (2/20) RCP resultaron negativos con 10% (2/20) BK negativos.

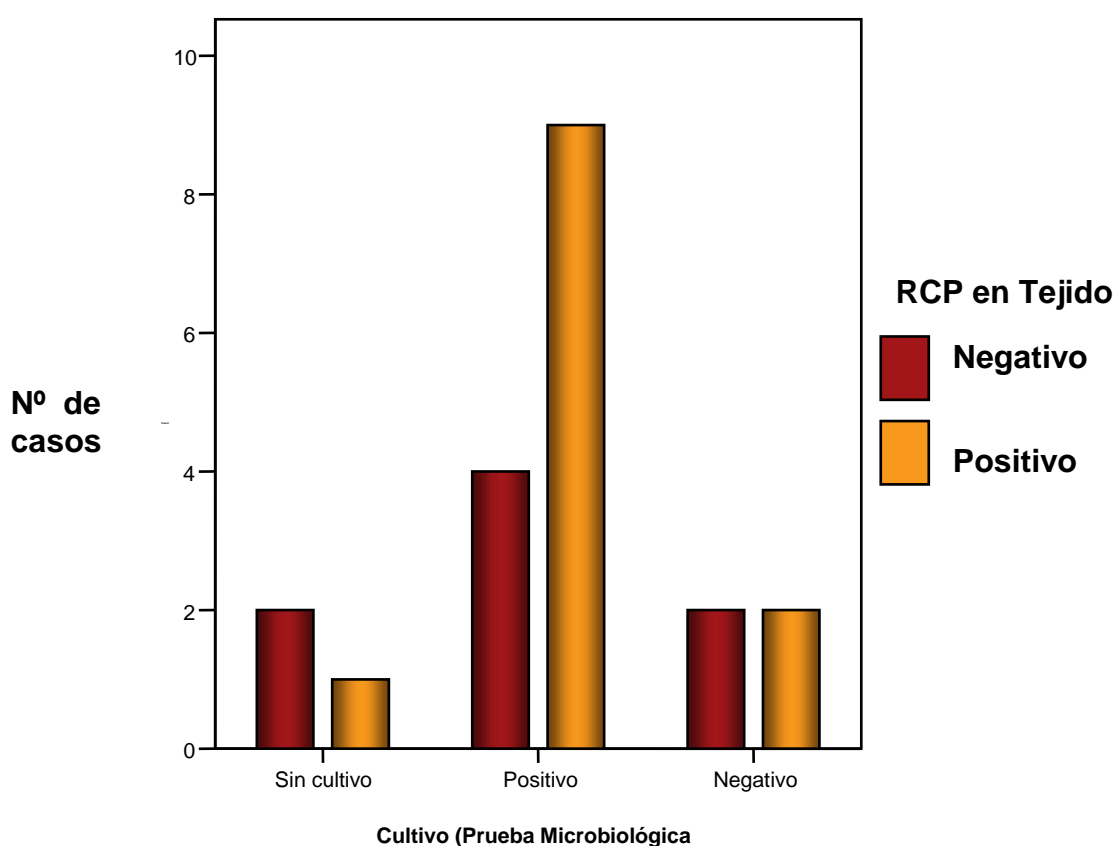
**Gráfico N° 16 Relación general entre pruebas convencionales BK y RCP de saliva.**



## 17.-RELACION GENERAL ENTRE PRUEBAS CONVENCIONALES CULTIVO Y RCP DE TEJIDO

En el gráfico N° 17 se puede observar que 45% de los pacientes (9/20) fueron positivos para RCP de tejido, 10% (2/20) pacientes con RCP positivo presentaron 10% (2/20) BK positivos, 5% (1/20) pacientes sin cultivo presentó RCP de tejido positivo, 20% (4/20) pacientes con RCP negativo en tejido presentaron 20% (4/20) BK positivos.

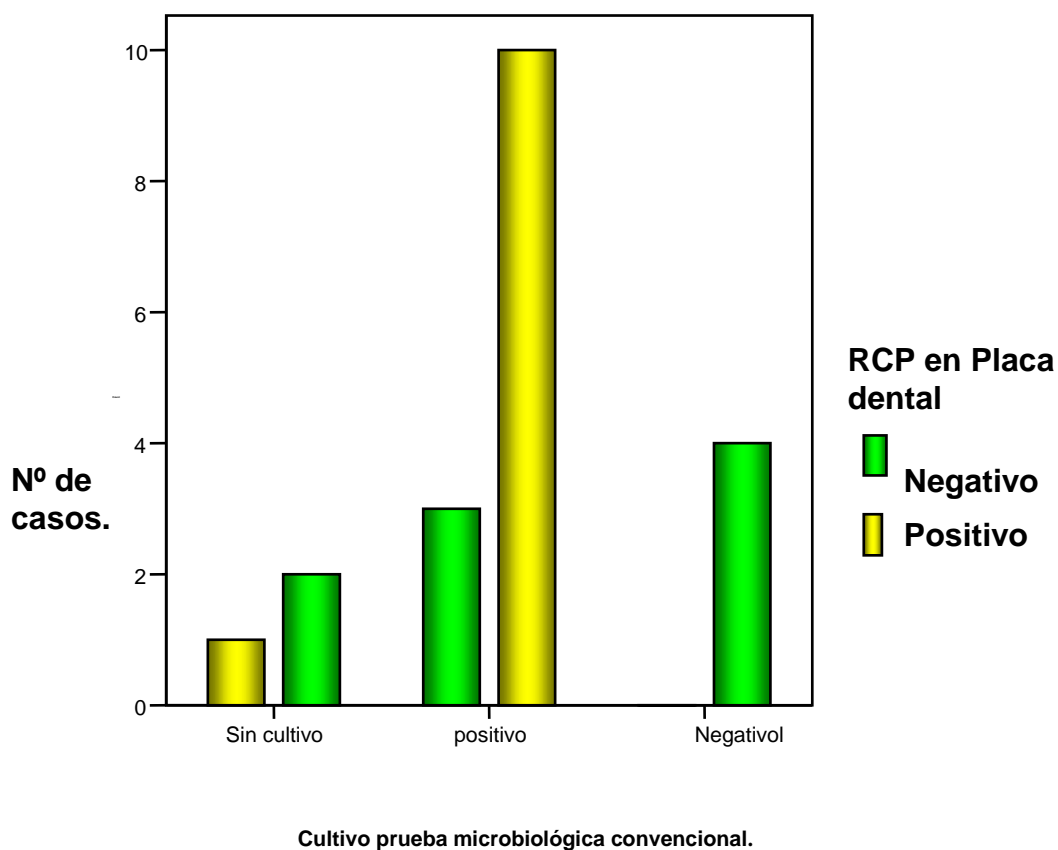
**Gráfico N° 17. Relación general entre pruebas convencionales cultivo y RCP de tejido**



## 18.-RELACION GENERAL ENTRE PRUEBAS CONVENCIONALES CULTIVO Y RCP DE PLACA DENTAL.

En el gráfico N° 18 se puede observar que 50% de los pacientes (10/20) con cultivo positivo presentó RCP de placa dental positivo, 20% (4/20) pacientes con cultivo negativos presentaron RCP positivo, 10% (2/20) pacientes sin cultivo presento RCP positivo, 15% (3/20) con cultivo negativo presentaron RCP negativo, 1/20 pacientes sin cultivo presentó RCP negativo.

**Gráfico n° 18**  
**Relación general entre pruebas convencionales cultivo y RCP de placa dental.**

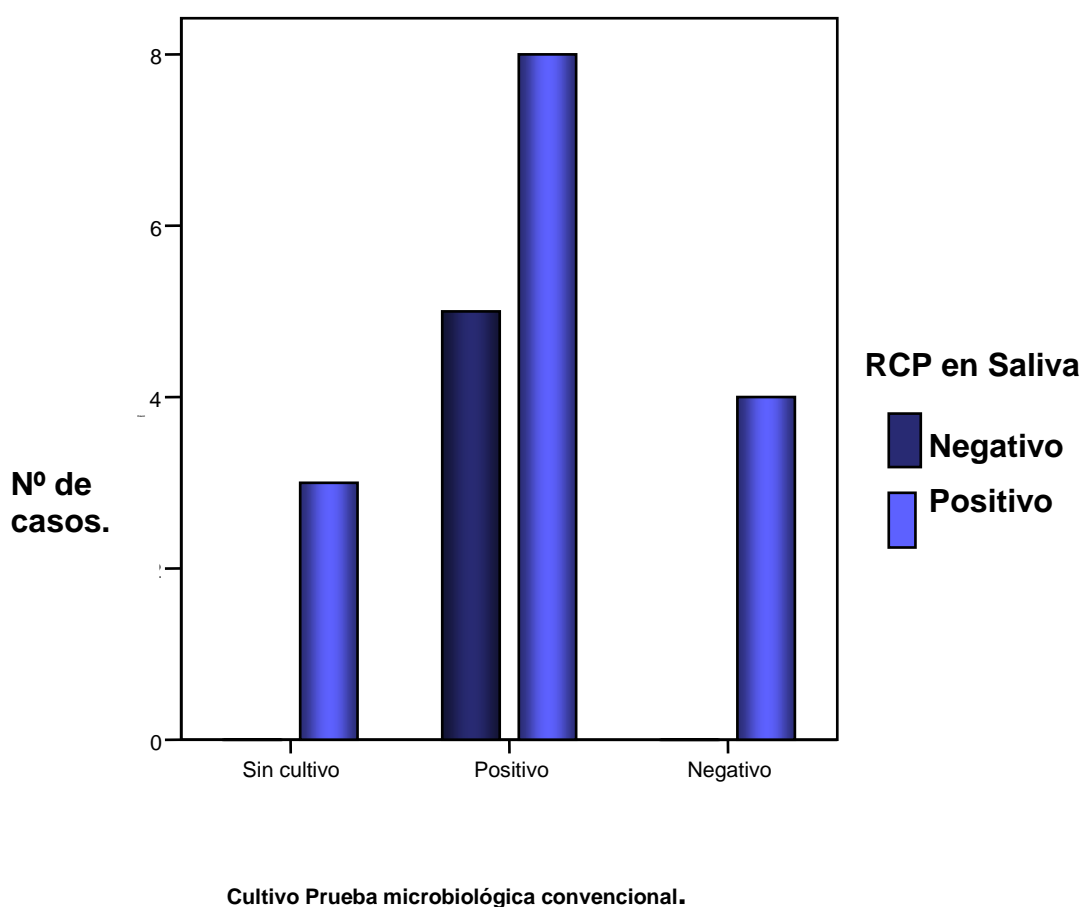




## 19.-RELACION GENERAL ENTRE PRUEBAS CONVENCIONALES CULTIVO Y RCP DE SALIVA.

En el gráfico N°19 se puede observar que 40% (8/20) pacientes con cultivo positivo presentaron RCP de saliva positivos, 20% (4/20) pacientes con cultivo negativo presentaron RCP positivos, 15% (3/20) pacientes sin cultivo presentaron RCP positivos y finalmente en 25% (5/20) que pacientes con cultivo positivo presentaron RCP negativo.

**Gráfico.N° 19 Relación general entre pruebas convencionales cultivo y RCP de saliva.**



## **20.- DISTRIBUCION GENERAL DE PACIENTES SEGÚN PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS CONVENCIONALES Y PRUEBA DE RCP PARA TEJIDO, PLACA DENTAL Y SALIVA.**

En la tabla N° 1 se puede observar la relación entre las pruebas microbiológicas convencionales y las RCP realizadas de muestra de cavidad bucal, así se produce y se exhibe algunas relaciones: 40% (8/20) pacientes con BK positivo presentaron RCP de tejido también positivo, 45% (9/20) pacientes con cultivo positivo presento igualmente RCP de tejido positivo, en cuanto a los RCP de placa dental y las pruebas microbiológicas 55% (11/20) pacientes con BK positivo presentó igual resultado en la RCP, en relación los resultados positivos en los cultivos realizados para *M. tuberculosis*, 55% (10/20) pacientes se presentaron positivos en el cultivo y la RCP de placa dental, por otra parte 60% (12/20) pacientes positivos en BK fueron positivos en la RCP de saliva, 40% (8/20) pacientes con se presentaron positivos para el cultivo y la RCP de saliva

**Tabla N°1**

**Relación entre pruebas microbiológicas convencionales**

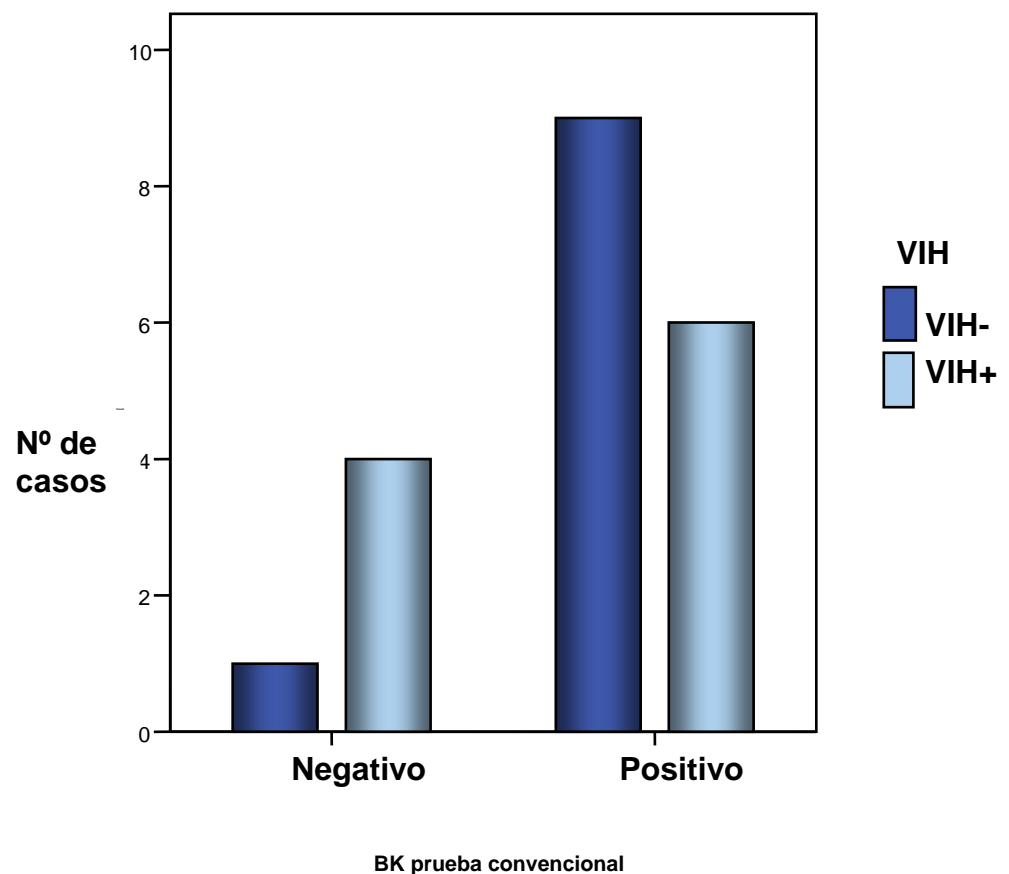
**RCP de muestras de cavidad bucal.**

		RCP en Tejido		RCP en Placa Dental		RCP en Saliva	
		Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo
BK (Prueba Microbiológica Convencional) Cultivo (Prueba Microbiológica Convencional)	Negativo	1	4	0	5	2	3
	Positivo	7	8	4	11	3	12
	Sin cultivo	2	1	1	2	0	3
	Positivo	4	9	3	10	5	8
	Negativo	2	2	0	4	0	4

## 21.- DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH- SEGÚN PRUEBAS CONVENCIONALES, BK.

En el gráfico N° 21 se puede apreciar que 60% de los pacientes (6/10) VIH+ con TBC resultaron positivos en el BK de esputo, y 90% (9/10) pacientes VIH- fueron positivo en el BK.

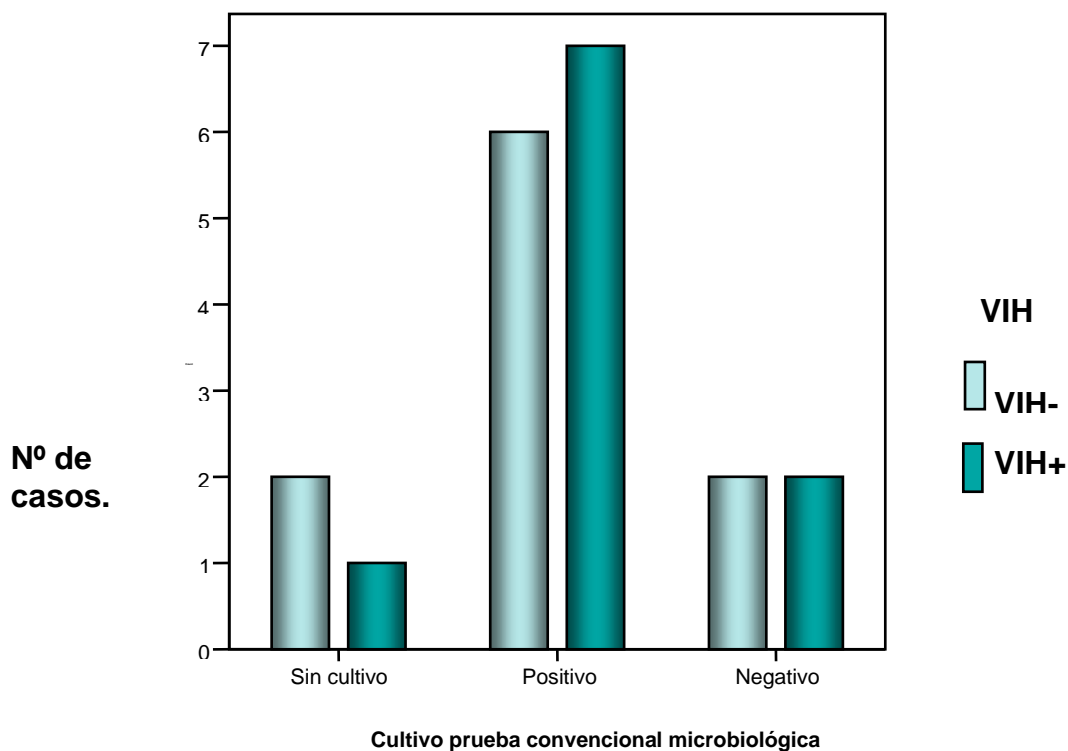
**Gráfico N° 21 Distribución de pacientes con TBC VIH+ y VIH- según pruebas convencionales, BK**



## 22.- DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH- SEGÚN PRUEBAS CONVENCIONALES, CULTIVO PARA *M. tuberculosis*.

En el gráfico N° 22 se puede observar que 70% (7/10) pacientes VIH+ con TBC, presentaron cultivo para *M. tuberculosis* positivo, 60% (6/10) pacientes con TBC VIH- presentaron cultivo positivo, sin cultivo se presentaron 20% (2/10) pacientes TBC VIH- y 10% (1/10) pacientes con TBC VIH+.

**Gráfico N°22 Distribución de pacientes con TBC VIH+ y VIH- según pruebas convencionales, cultivo para *M. tuberculosis*.**

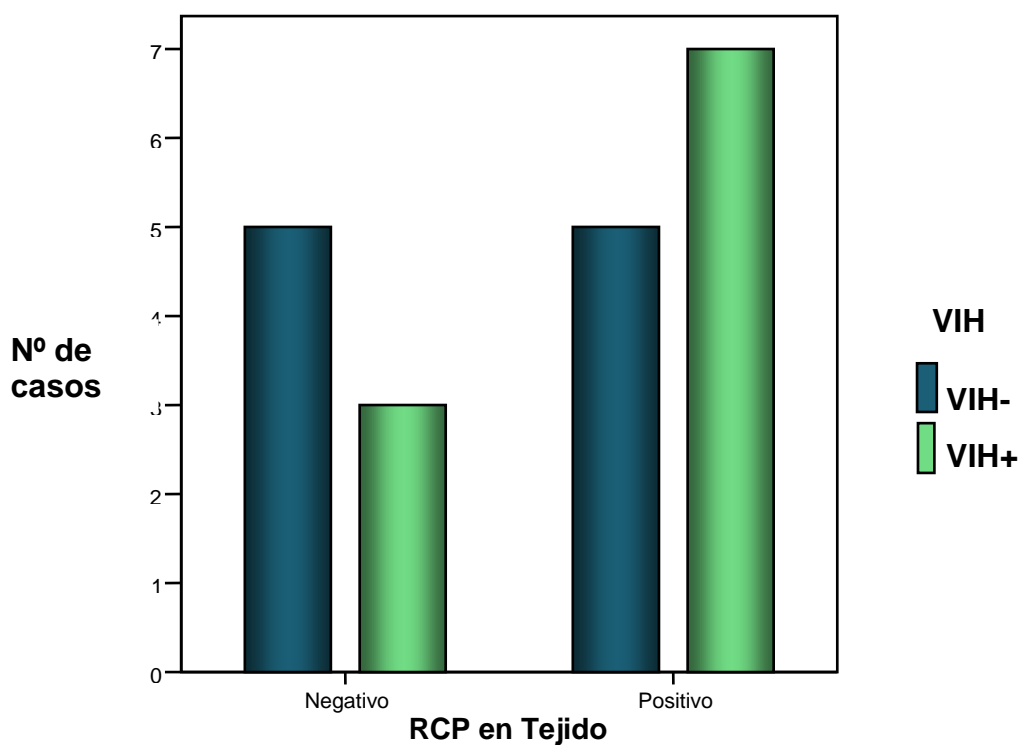


### 23.- DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH- SEGÚN RCP DE TEJIDO.

En el gráfico N° 23 se puede observar que 70% (7/10) de los pacientes VIH+ con TBC fueron positivos a la RCP de tejido seguido de 50% (5/10) individuos VIH- con TBC fueron positivos a RCP de tejido.

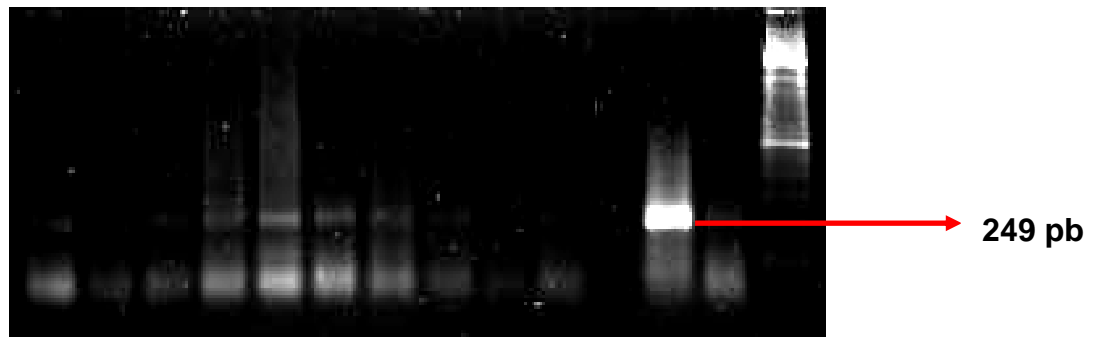
**Gráfico N° 23.**

**Distribución de pacientes con TBC VIH+ y VIH- según RCP de tejido**



24.- REGISTRO FOTOGRAFICO DE LA ELECTROFORESIS REALIZADA EN GEL DE AGAROSA A 1.5% QUE MUESTRA LOS PRODUCTOS DE RCP PARA SECUENCIA IS6110 DEL COMPLEJO DE *M. tuberculosis* DE MUESTRAS OBTENIDAS DE TEJIDO.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 V C1 C2 MPM



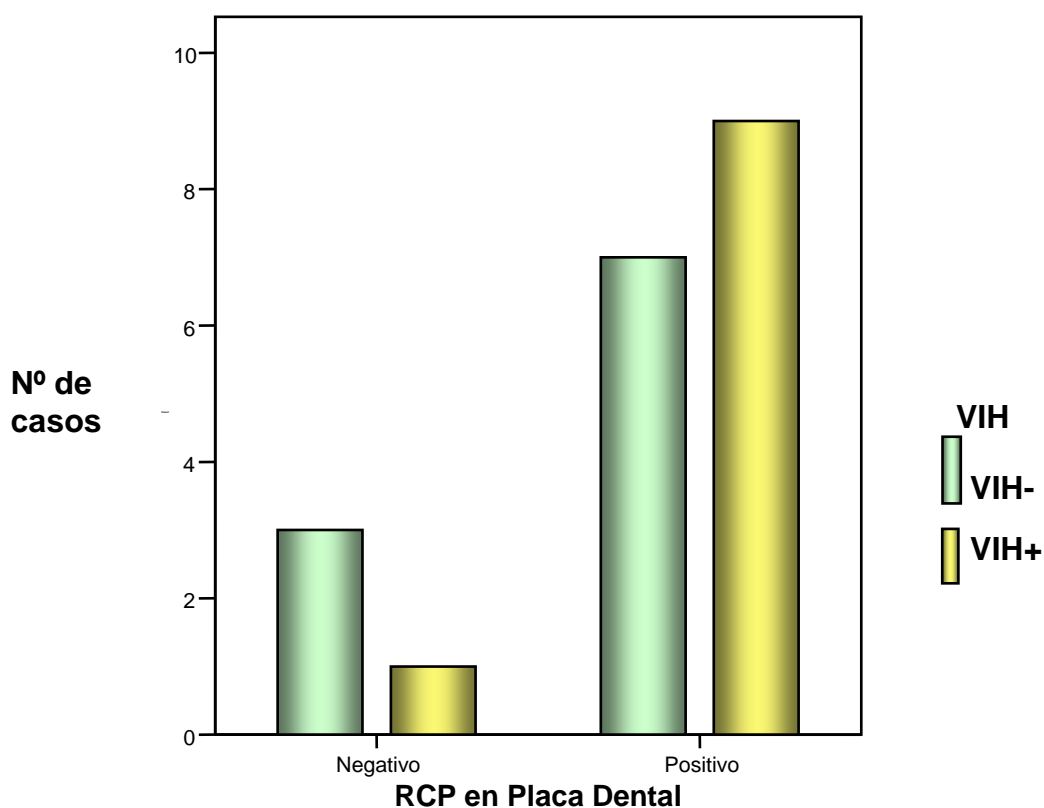
Los canales del 1 al 10 muestran RCP obtenido de ADN extraído de tejido de diferentes pacientes, V carril vacío, C1 control positivo ( $10^{-12}$  de ADN de *M. tuberculosis* cepa H37R), C2 control negativo (agua libre de ADNasa, el cual muestra que no hubo contaminación durante el proceso) MPM marcador de peso molecular (100 pb, Invitrogen)

## 25.- DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH- SEGÚN RCP DE PLACA DENTAL.

En el gráfico N° 24 se puede observar que 90% (9/10) de los pacientes VIH+ fueron positivos a la RCP de placa dental seguido de los pacientes VIH- con 70% (7/10) casos positivos.

**Gráfico N° 24.**

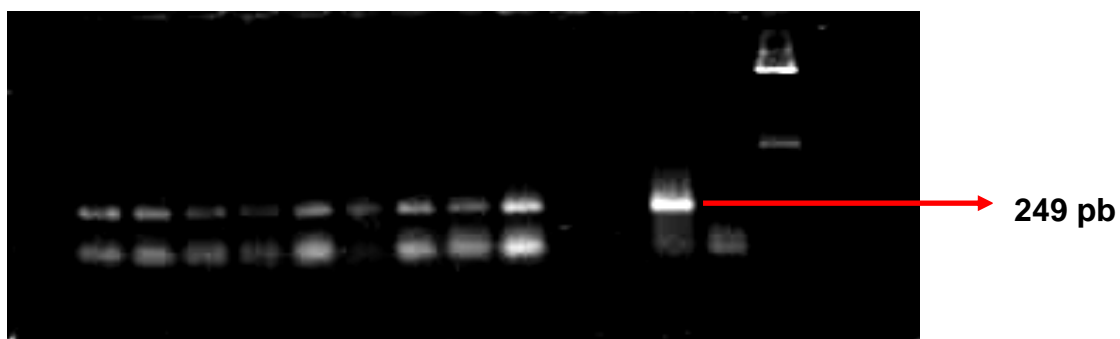
**Distribución de pacientes con TBC VIH+ y VIH- según RCP de placa dental**





26.- REGISTRO FOTOGRAFICO DE LA ELECTROFORESIS REALIZADA EN GEL DE AGAROSA A 1.5% QUE MUESTRA LOS PRODUCTOS DE RCP PARA SECUENCIA IS6110 DEL COMPLEJO DE *M. tuberculosis* DE MUESTRAS OBTENIDAS DE PLACA DENTAL.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 V C1 C2 MPM

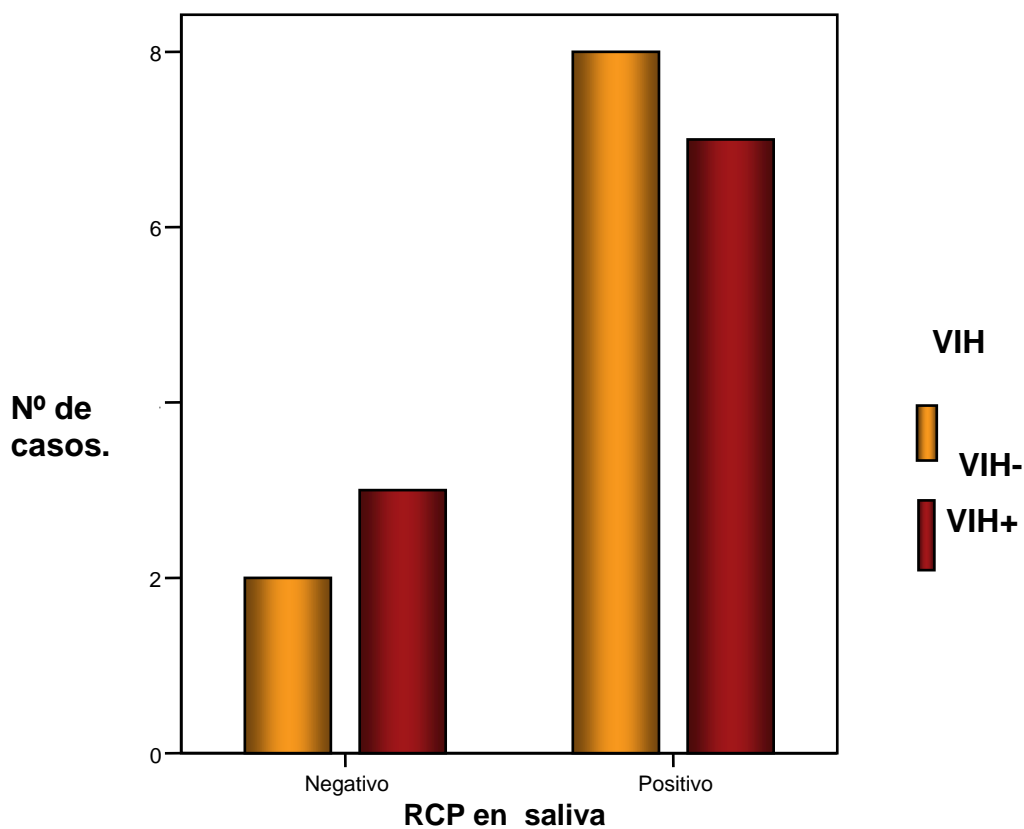


Los canales del 1 al 9 muestran RCP obtenido de ADN extraído de placa dental de diferentes pacientes, V carril vacío, C1 control positivo ( $10^{-12}$  de ADN de *M. tuberculosis* cepa H37R), C2 control negativo (agua libre de ADNasa, el cual muestra que no hubo contaminación durante el proceso) MPM marcador de peso molecular (100 pb, Invitrogen)

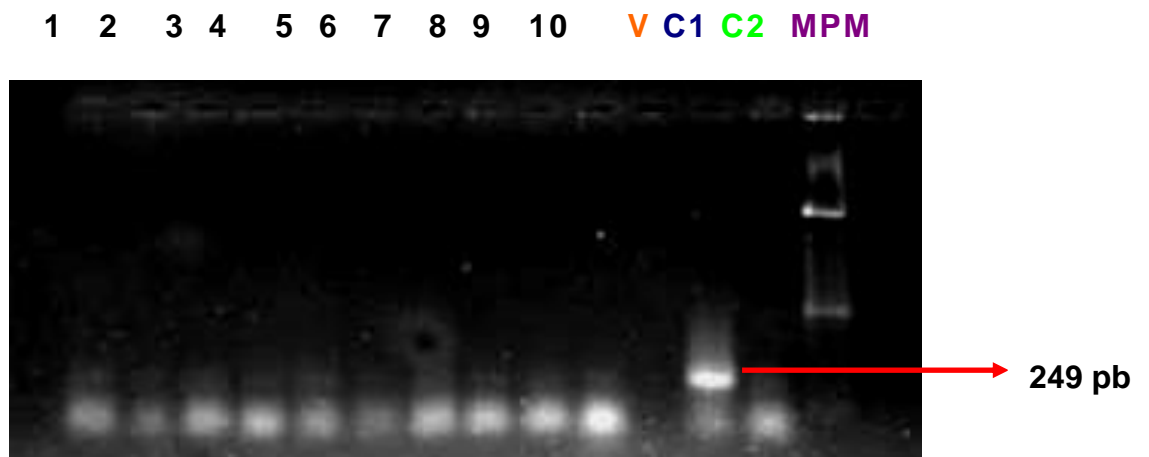
## 27.- DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH- SEGÚN RCP DE SALIVA.

En el gráfico N° 25 se puede observar que 80% (8/10) pacientes VIH- con TBC, fueron positivos a la RCP de saliva, seguido de 70% (7/10) casos positivos VIH+ con TBC.

**Gráfico N°25 Distribución de pacientes con TBC VIH+ Y VIH- SEGÚN RCP de saliva.**



28.- REGISTRO FOTOGRAFICO DE LA ELECTROFORESIS REALIZADA EN GEL DE AGAROSA A 1.5% QUE MUESTRA LOS PRODUCTOS DE RCP PARA SECUENCIA IS6110 DEL COMPLEJO DE *M. tuberculosis* DE MUESTRAS OBTENIDAS DE SALIVA.



Los canales del 1 al 10 muestran RCP obtenido de ADN extraído de saliva de diferentes pacientes, V carril vacío, C1 control positivo ( $10^{-12}$  de ADN de *M. tuberculosis* cepa H37R), C2 control negativo (agua libre de ADNasa, el cual muestra que no hubo contaminación durante el proceso) MPM marcador de peso molecular (100 pb, Invitrogen)

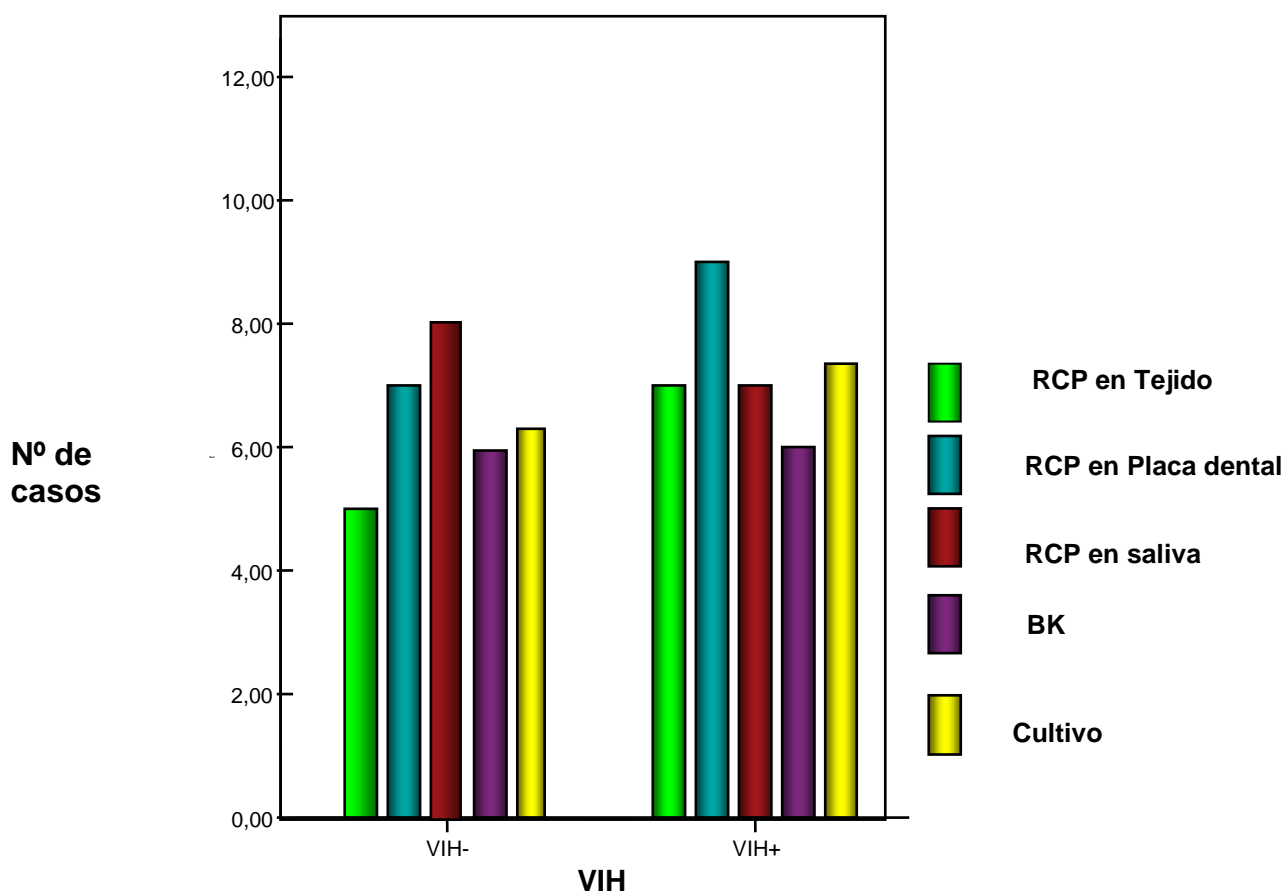
## **29.- DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH- SEGÚN PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS CONVENCIONALES BK Y CULTIVO PARA *M. tuberculosis* y RCP DE TEJIDO, PLACA DENTAL Y SALIVA.**

En el siguiente gráfico se puede observar la distribución entre las pruebas convencionales y las RCP para los pacientes VIH+ y VIH- con TBC, en el grupo de pacientes VIH- es notorio que en cuanto a las pruebas convencionales el BK y el cultivo no presento diferencias significativas en cuanto a los resultados positivos, sin embargo el BK como prueba primaria necesaria para confirmar la presencia del bacilo fue positiva en 60% (6/10) de los casos de este grupo, en cuanto a las pruebas de biología molecular RCP las que mostraron mayor número de casos positivos fue la realizada a saliva, con 80% (8/10) de casos positivos seguido de 70% (7/10) casos positivos para RCP de placa dental. En referencia al grupo de pacientes con VIH+ con TBC la prueba de microbiológica convencional más significativa fue el cultivo ya que se presentaron resultados positivos en 90% (9/10) de los casos, el BK presentó menor sensibilidad, 7/10 casos positivos, inclusive comparándolo con el grupo de pacientes con TBC VIH-, con respecto a la RCP, la prueba con mayor sensibilidad difiere del grupo anteriormente mencionado ya que la mayor sensibilidad estuvo en la RCP de placa dental con 90% (9/10)

casos positivos seguido de 70% (7/10) casos positivos en la RCP de saliva y finalmente 70% (7/10) casos positivos se reportó en tejido, comparando ambos grupos las pruebas convencionales fueron más sensible en el grupo de pacientes VIH+ con TBC al igual que las RCP realizadas a muestras de cavidad bucal

**Gráfico N° 29**

**Distribución de pacientes con VIH+ y VIH- TBC según la positividad por pruebas microbiológicas convencionales y RCP**



**30.-DISTRIBUCION DE LA RCP REALIZADA A TEJIDO, PLACA DENTAL Y SALIVA DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH-.**

En la tabla N° 2 se puede observar la relación entre los RCP y los grupos de pacientes evaluados con TBC VIH+ y VIH- así se describe algunos de estos resultados en cuanto al grupo de pacientes VIH- con TBC 20% (2/10) presentaron RCP de tejido negativo, RCP de placa dental negativo y RCP de saliva positivo, 30% (3/10) pacientes de este grupo fueron positivos en los tres RCP practicados, por otra parte en el grupo de pacientes VIH con TBC 20% (2/10) pacientes presentaron RCP de tejido negativo, RCP de placa dental y saliva positivo y 4/10 presentaron resultados positivos para las tres pruebas de RCP.

**Tabla N°2 Distribucion de la RCP realizada a tejido, placa dental y saliva de pacientes con TBC VIH+ y VIH-**

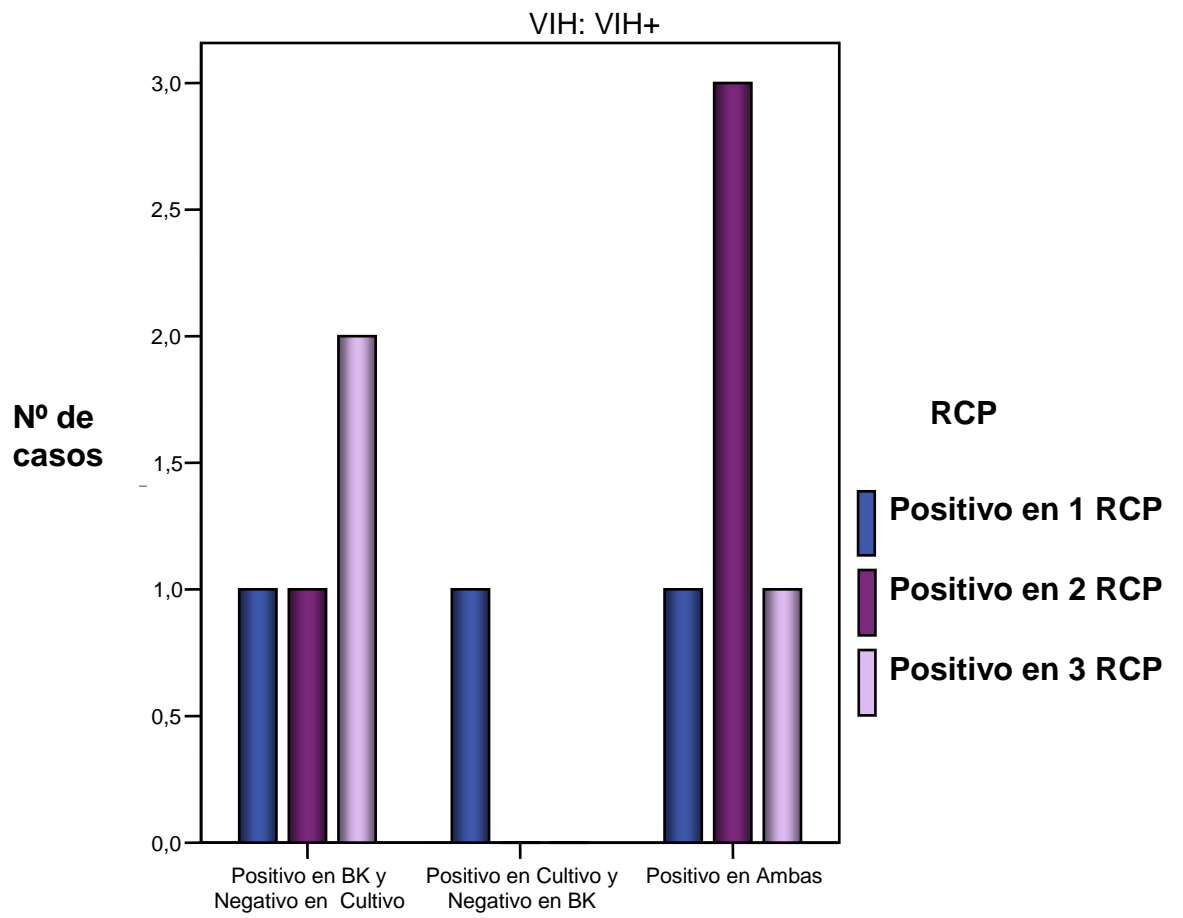
		RCP en Tejido					
		Negativo			Positivo		
		RCP en Placa Dental			RCP en Placa Dental		
		Negativo	Positivo		Negativo	Positivo	
		RCP en Saliva	RCP en Saliva		RCP en Saliva	RCP en Saliva	
		Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo
VIH	VIH-	2	1	2	1	1	3
	VIH+		1	2	1	2	4

**31.- DISTRIBUCION DE PACIENTES VIH+ CON TBC SEGUN PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS BK Y CULTIVO PARA *M. tuberculosis* Y RCP.**

En el siguiente gráfico se puede observar que 30% (3/10) pacientes fue positivo en RCP y positivo en ambas pruebas microbiológicas, 5% (1/10) pacientes fue positivo en ambas pruebas microbiológicas y positivo en tres RCP, y 5% (1/10) paciente fue positivo en ambas pruebas microbiológicas y positivo en un RCP, así mismo se puede apreciar que 5% (1/10) fue positivo en cultivo, negativo en BK y positivo y un RCP, 20% (2/10) pacientes fueron positivos en BK negativos en cultivo y positivo en tres RCP, 5% (1/10) fue positivo en BK, negativo en cultivo y positivo para dos RCP y finalmente 5% (1/10) pacientes fue positivo en BK, negativo en cultivo y positivo un RCP.

Gráfico N° 31

Distribución de pacientes VIH+ CON TBC según pruebas microbiológicas BK Y CULTIVO PARA *M. tuberculosis* Y RCP.





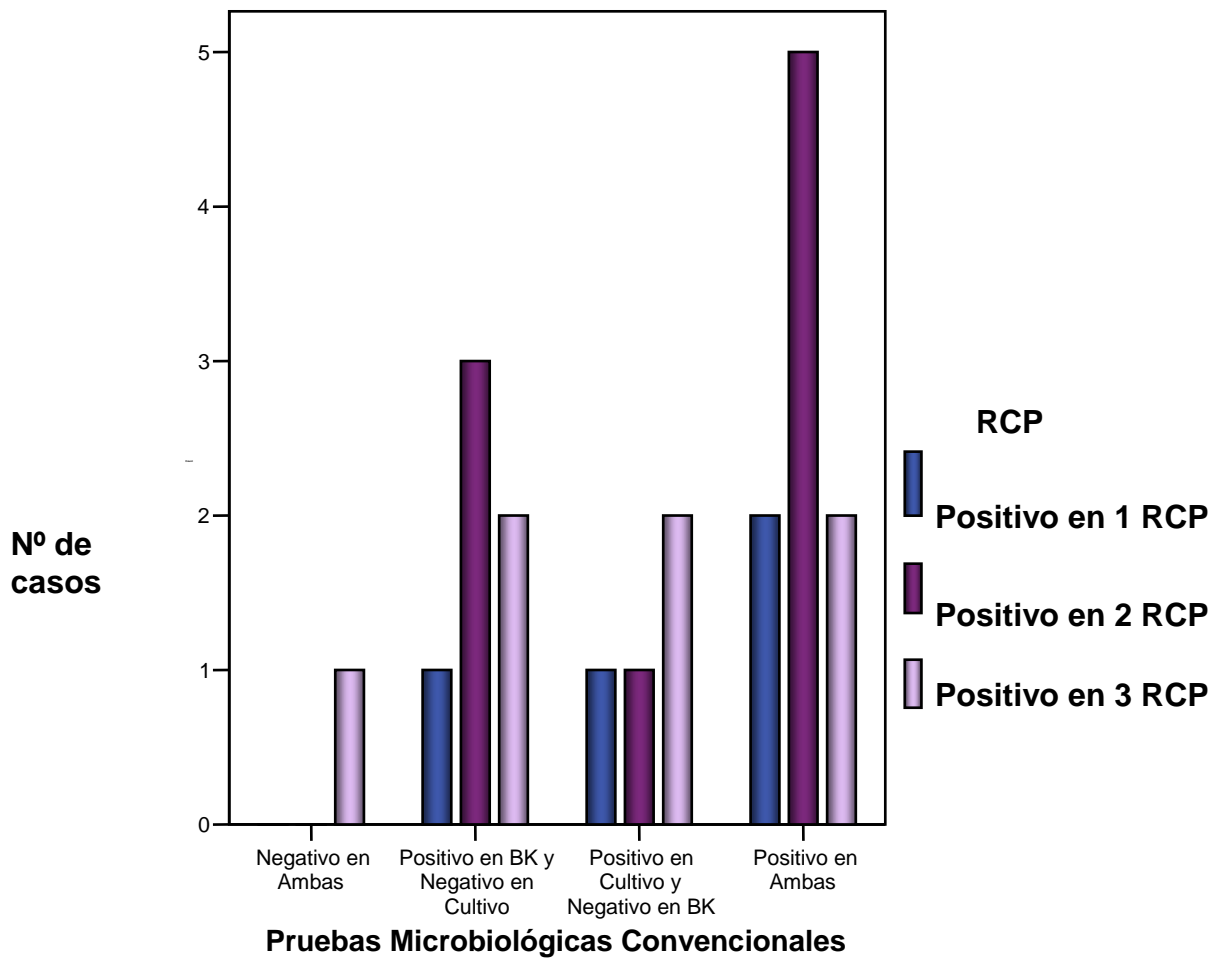
### **32.- DISTRIBUCION DE PACIENTES VIH- CON TBC SEGUN PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS BK Y CULTIVO PARA *M. tuberculosis* Y RCP.**

En el siguiente gráfico se puede observar que 50% (5/10) pacientes fueron positivos a ambas pruebas microbiológicas y positivas en dos RCP, 20% (2/10) pacientes fueron positivos en ambas pruebas microbiológicas y positivos a tres RCP, y 20% (2/10) pacientes fueron positivos en BK y cultivo y positivo en dos RCP, 30% (3/10) pacientes fueron positivos en BK y negativo en cultivo y positivo en dos RCP, 20% (2/10) pacientes fueron positivos en BK negativo en cultivo y positivo en tres RCP, en contraparte 20% (2/10) pacientes fueron positivos en cultivo negativo en BK y positivos en tres RCP y finalmente 5% (1/10) pacientes fue negativo para ambas pruebas microbiológicas y positivo en los tres RCP.

Gráfico N° 32

Distribución de pacientes VIH- CON TBC según pruebas microbiológicas BK Y CULTIVO para *M. tuberculosis* Y RCP

VIH -

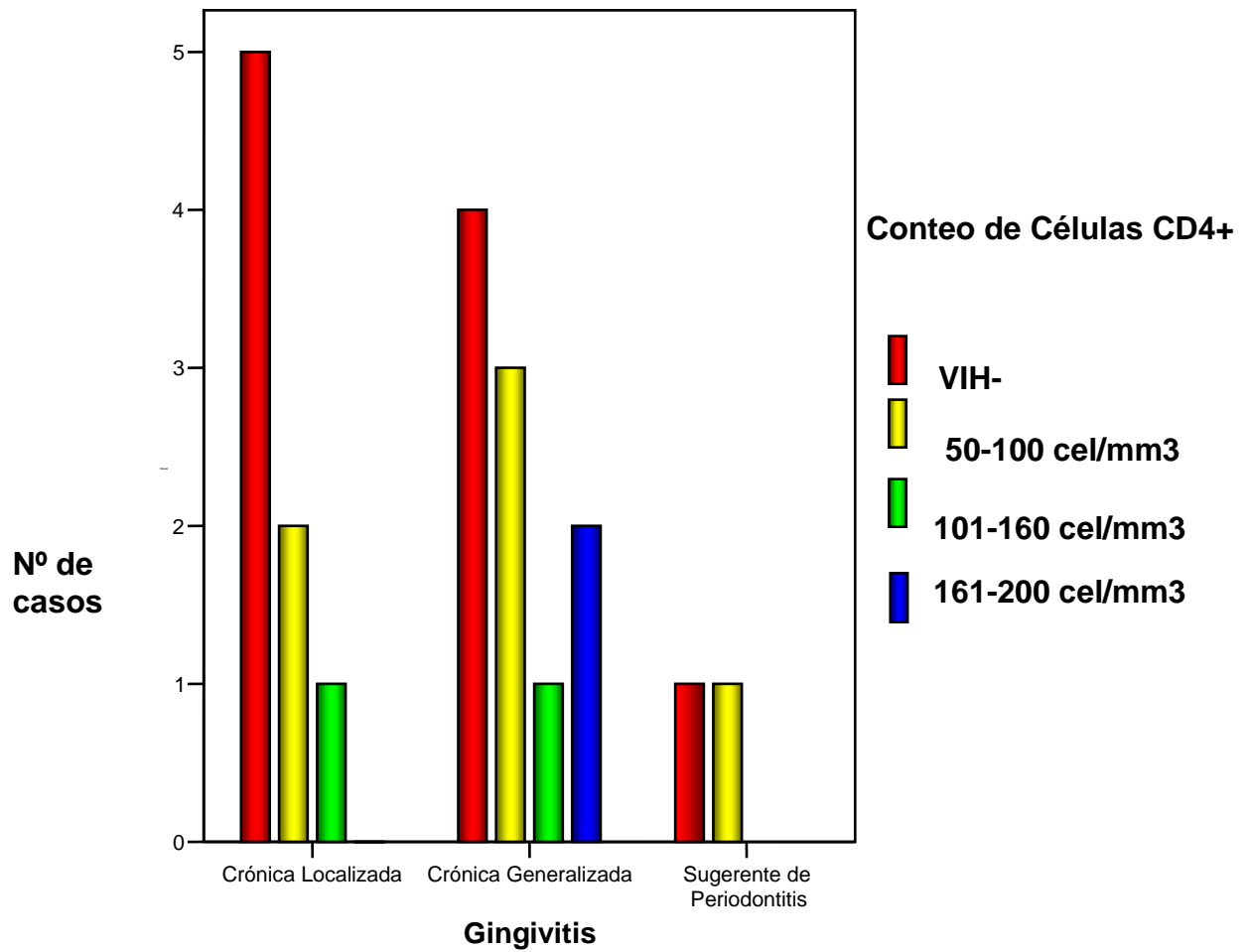


### **33.- DISTRIBUCION DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH – SEGUN ALTERACION PERIODONTAL Y CONTEO DE CELULAS CD4+.**

En el siguiente gráfico se puede observar que de los pacientes VIH- evaluados 50% (5/10) presentaron gingivitis crónica localizada, 40% (4/10) presentaron gingivitis crónica generalizada y 5% (1/10) presentó enfermedad sugerente de periodontitis. En cuanto a los pacientes VIH+, 20% (2/10) con recuento de células CD4 entre 50 y 100cel/mm<sup>3</sup> presentó gingivitis crónica localizada, 3/10 pacientes con recuento de CD4, entre 50 y 100cel/mm<sup>3</sup> presentó gingivitis crónica generalizada, 5% (1/10) pacientes con recuento entre 101 y 160 cel/mm<sup>3</sup> presentó gingivitis crónica generalizada, y 20% (2/10) pacientes con recuento entre 161 y 200cel/mm<sup>3</sup> presentó gingivitis crónica generalizada y finalmente 5% (1/10) pacientes con recuento de células entre 161 y 200cel/mm<sup>3</sup> presentó enfermedad periodontal sugerente de periodontitis.

Gráfico N° 33

Alteraciones periodontales en pacientes con TBC VIH+ y  
VIH- según recuento de células CD4+

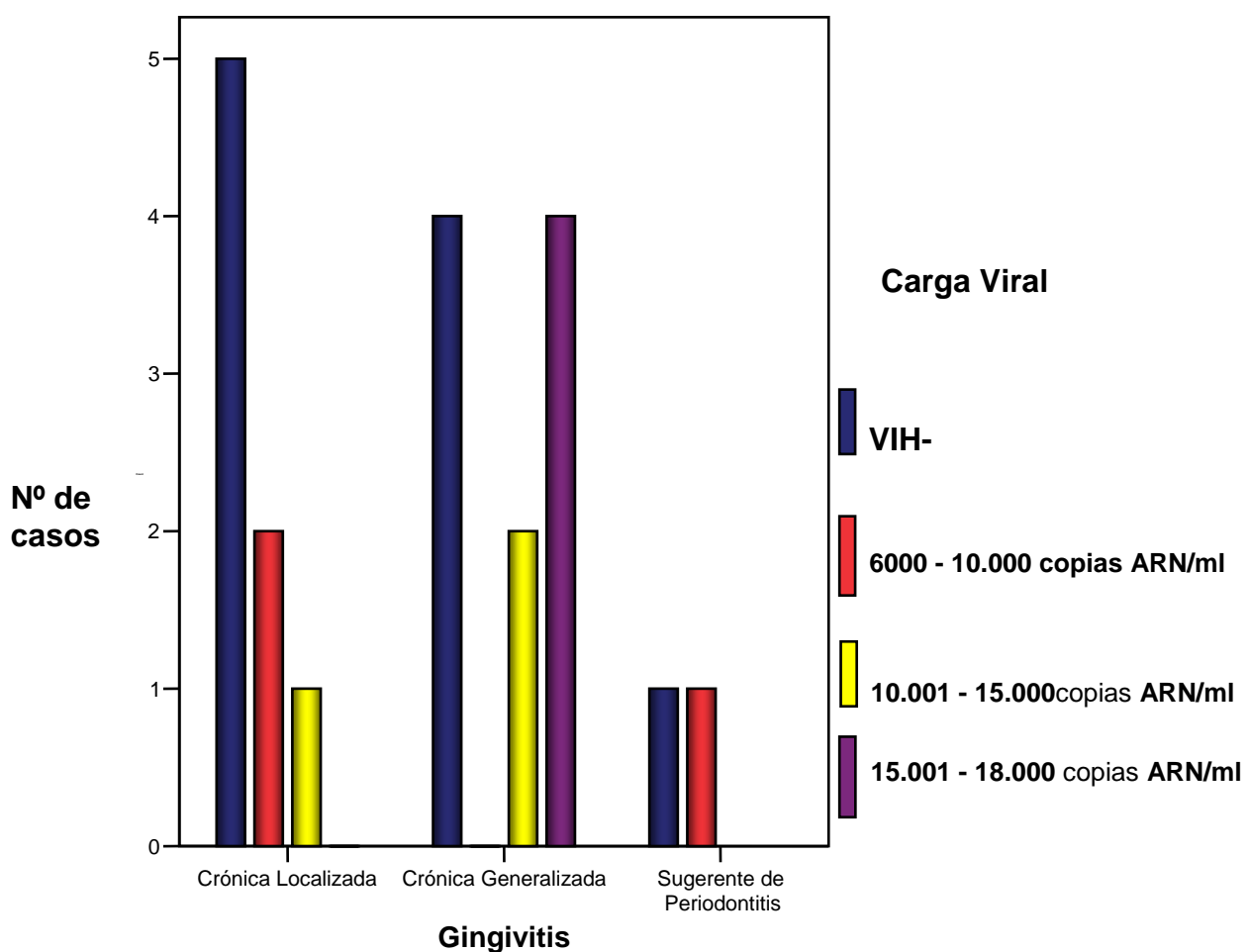


### **34.- DISTRIBUCION DE PACIENTES VIH+ y VIH- CON TBC SEGUN ALTERACION PERIODONTAL Y CARGA VIRAL.**

En el siguiente gráfico se puede observar que 20% (2/10) pacientes con carga viral entre 6.000 y 10.000 copias de ARN/ml presentó gingivitis crónica localizada, 5% (1/10) pacientes con carga viral entre 10.001 y 15.000 copias de ARN/ml presentó gingivitis crónica localizada, 40% (4/10) pacientes con carga viral entre 15.001 y 18.000 copias ARN/ml presentó gingivitis crónica generalizada, 20% (2/10) pacientes con carga viral entre 10.001 y 15.000 copias ARN/ml presentó gingivitis crónica generalizada, y finalmente 5% (1/10) pacientes con carga viral entre 6000 y 10.000 presentó enfermedad periodontal sugerente de periodontitis.

Gráfico N° 34

Distribución de pacientes VIH+ y VIH- con TBC según alteración periodontal y carga viral.

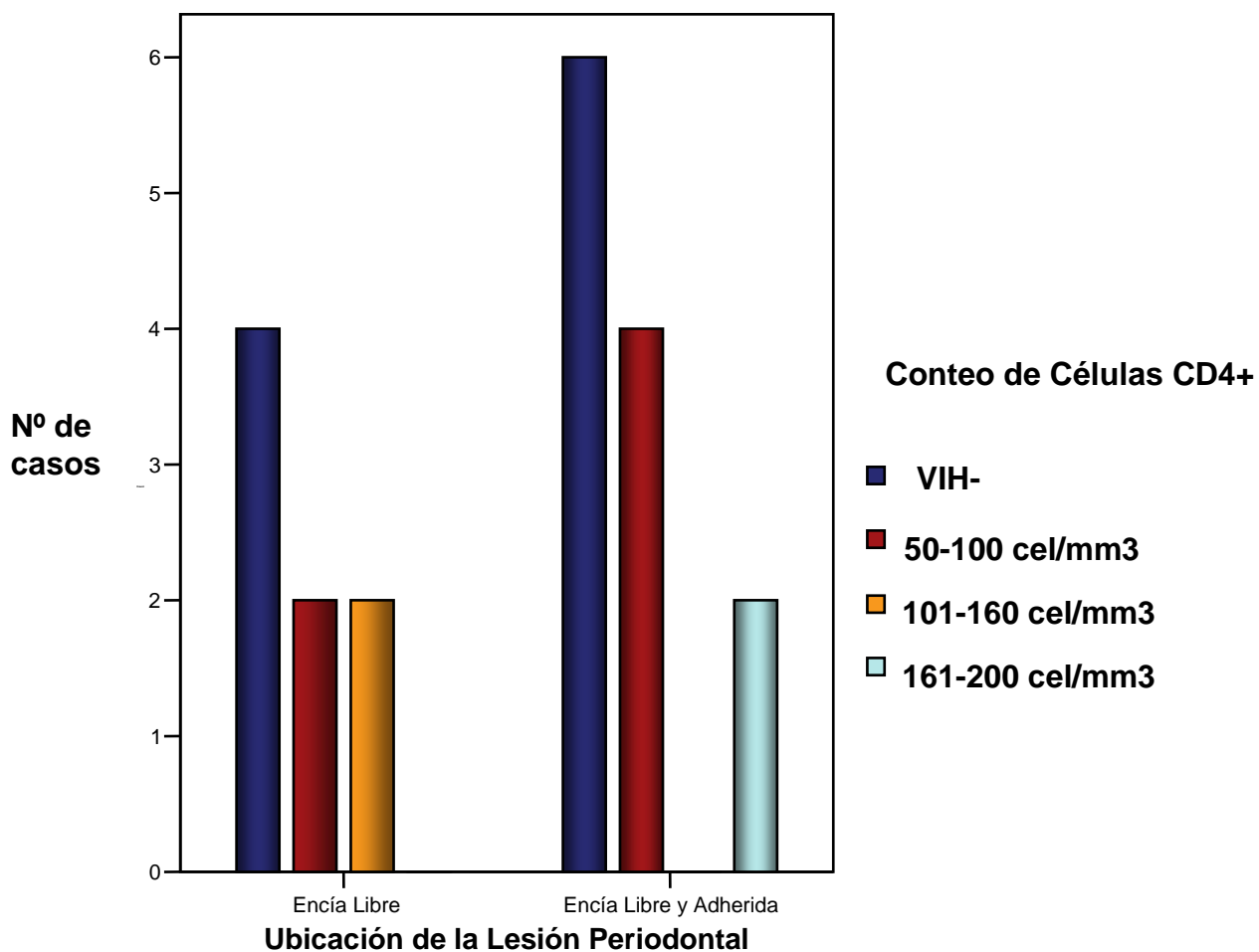


### **35.- UBICACION DE LAS ALTERACIONES PERIODONTALES EN PACIENTES CON VIH+ Y VIH- SEGÚN CONTEO DE CELULAS CD4+**

En el gráfico N° 35 se puede observar que 60% (6/10) pacientes con TBC VIH- presentó alteraciones periodontales en encía libre y adherida, y 40% (4/10) presentó lesiones en encía libre, en cuanto a los pacientes con TBC VIH+ 40% (4/10) pacientes con recuento de células entre 50 y 100cel/mm<sup>3</sup>, presentó lesiones en encía libre y adherida, 20% (2/10) pacientes con recuento de células entre 161 y 200cel/mm<sup>3</sup> presento lesiones entre encía libre y adherida, 20% (2/10) pacientes con recuento de células entre 101 y 160cel/mm<sup>3</sup> presento alteraciones en encía libre y finalmente 20% (2/10) pacientes con recuento de células de CD4+ entre 50 y 100cel/mm<sup>3</sup>.

Gráfico N° 35

Localización de alteraciones periodontales en pacientes con TBC VIH+ y VIH- según recuento de células CD4+



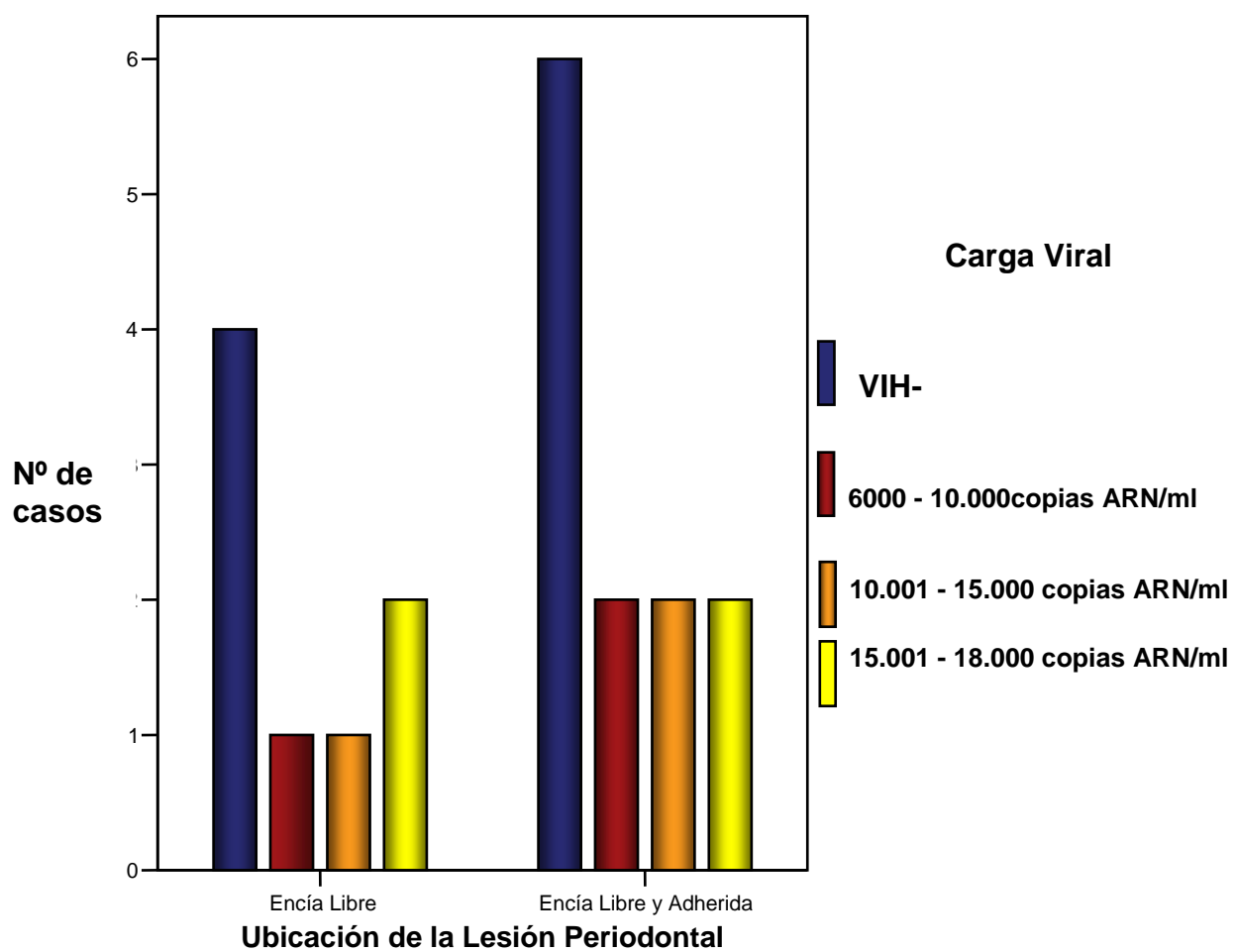


### **36.-UBICACION DE LAS ALTERACIONES PERIODONTALES EN PACIENTES CON VIH+ Y VIH- SEGÚN CARGA VIRAL.**

En el gráfico N°36 se puede observar que 20% (2/10) pacientes con carga viral entre 6.000 y 10.000 copias presentó alteraciones periodontales en encía libre y adherida, 20% (2/10) pacientes con carga viral entre 10.001 y 15.000 copias de ARN/ml, presentó lesión entre encía libre y adherida, 20% (2/10) pacientes con carga viral entre 15.001 y 18.000 presentó alteraciones en encía libre y adherida, en cuanto a las alteraciones confinadas a la encía libre se vieron afectados; 2/10 pacientes con carga viral entre 15.001 y 18.000, 5% (1/10) pacientes con carga viral entre 6.000 y 10.000 copias de ARN/ml, y 5% (1/10) pacientes con carga viral entre 10.001 y 15.000 copias de ARN/ml.

Gráfico N° 36

Localización de alteraciones periodontales en pacientes con TBC VIH+ y VIH- según carga viral

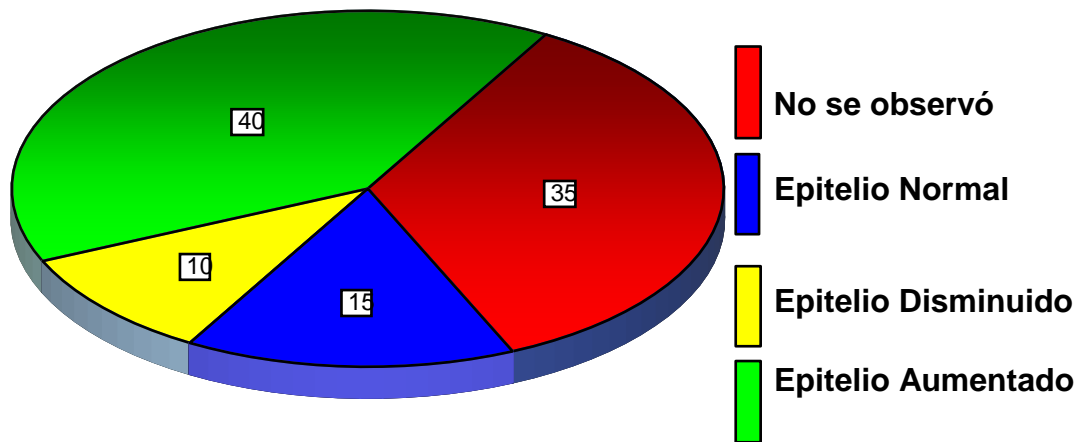


### 37.-CARACTERÍSTICAS HISTOPATOLOGICAS DE LAS MUESTRAS DE TEJIDO DE LOS PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH-

En el gráfico N° 37 se puede observar que en el 35% de las muestras no se apreció epitelio, en 40% se presentó epitelio aumentado de tamaño, 10% exhibió epitelio reducido y 15% epitelio normal.

Gráfico N° 37

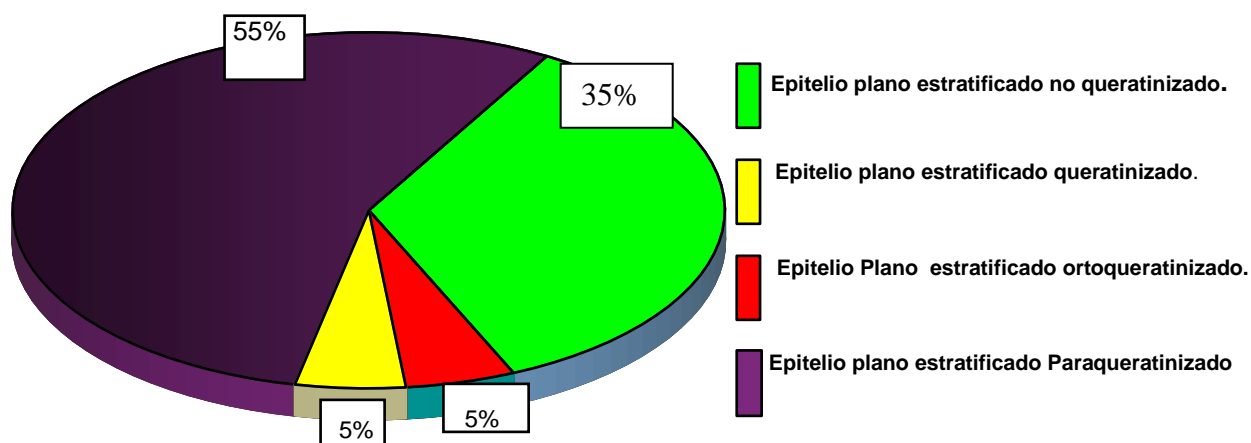
#### Epitelio



### 38.- CARACTERISTICAS DEL EPITELIO DE MUESTRAS DE ENCÍA DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH-.

En el gráfico N° 38 se puede apreciar que 55% de las muestras de encía exhibió epitelio plano estratificado paraqueratinizado, 35% epitelio plano estratificado no queratinizado, 5% epitelio plano estratificado ortoqueratinizado y 5% epitelio plano estratificado queratinizado.

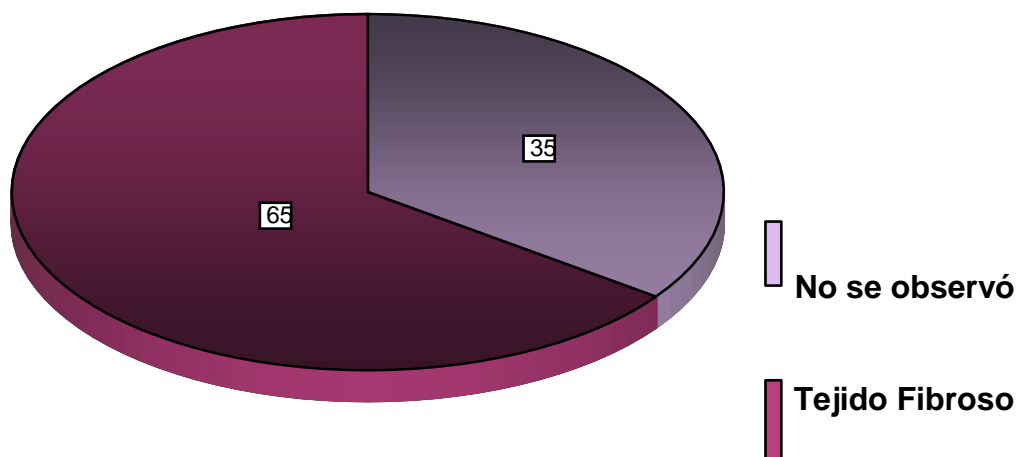
**Gráfico N° 38. Características del epitelio de muestras de encía de pacientes con TBC VIH+ y VIH-**



**39.- CARACTERÍSTICAS PRESENTES EN EL CORION DE MUESTRAS DE ENCÍA DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH-.**

En el gráfico N° 39 se puede observar que 65% de las muestras de encía presentaron en el corion tejido fibrosos. Y en el 35% de las muestras no se pudo observar corion

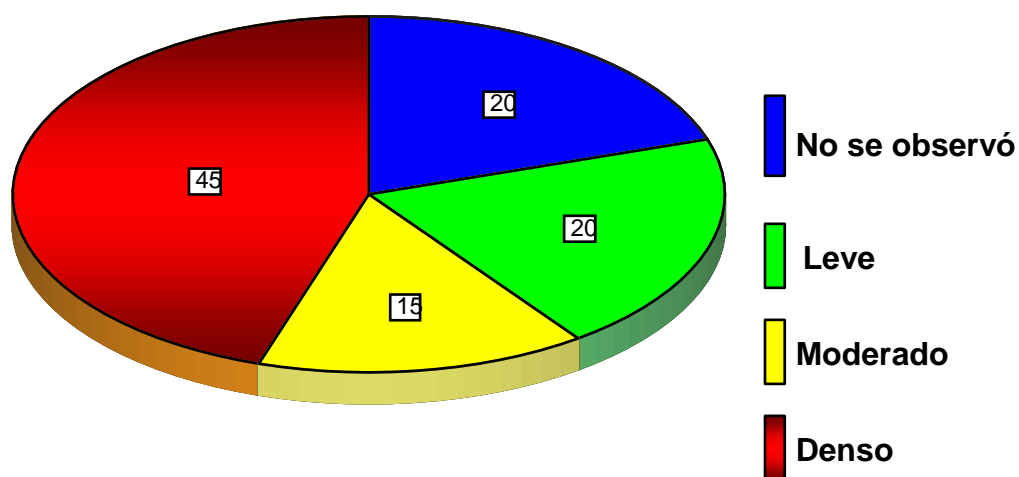
**Gráfico N° 39**  
**Características presentes en el corion de muestras de encía de pacientes con TBC VIH+ y VIH-**



#### 40.- CLASIFICACION DEL INFILTRADO INFLAMATORIO EN MUESTRAS DE ENCIA DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH-

En el siguiente gráfico se puede observar que 45% de las muestras de encía presentaron infiltrado inflamatorio denso, en 20% el infiltrado inflamatorio fue leve, 15% infiltrado moderado y finalmente en 20% no se observo infiltrado inflamatorio.

**Gráfico N° 40**  
**Clasificación del infiltrado inflamatorio en muestras de encía de pacientes con TBC VIH+ y VIH-**

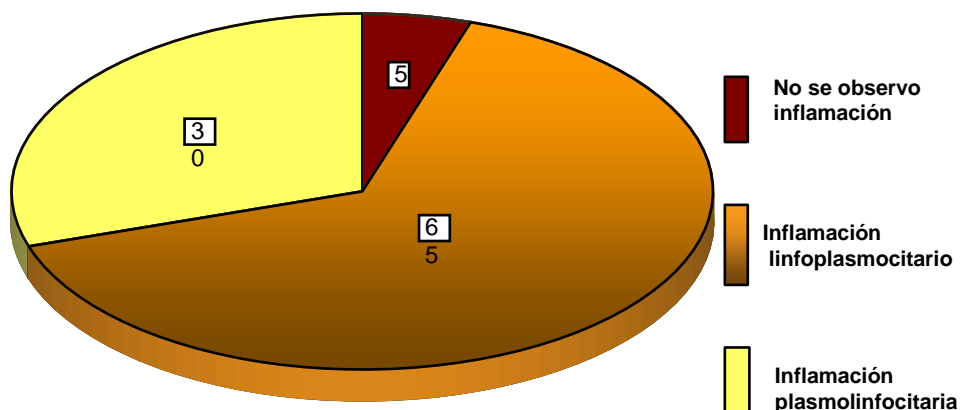


#### 41.- TIPO DE INFILTRADO INFLAMATORIO PRESENTE EN MUESTRAS DE ENCÍA DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH-

En el gráfico N° 41 se puede observar que 65% de las muestras de encía presentó infiltrado linfoplasmocitario seguido de 30% que presentó más cantidad de plasmocitos, inflamación plasmolinfocitaria y finalmente en 5% de las muestras no se apreciaron células inflamatorias.

Gráfico N° 41.

#### Tipo de infiltrado inflamatorio presente en muestras de encía de pacientes con TBC VIH+ y VIH-

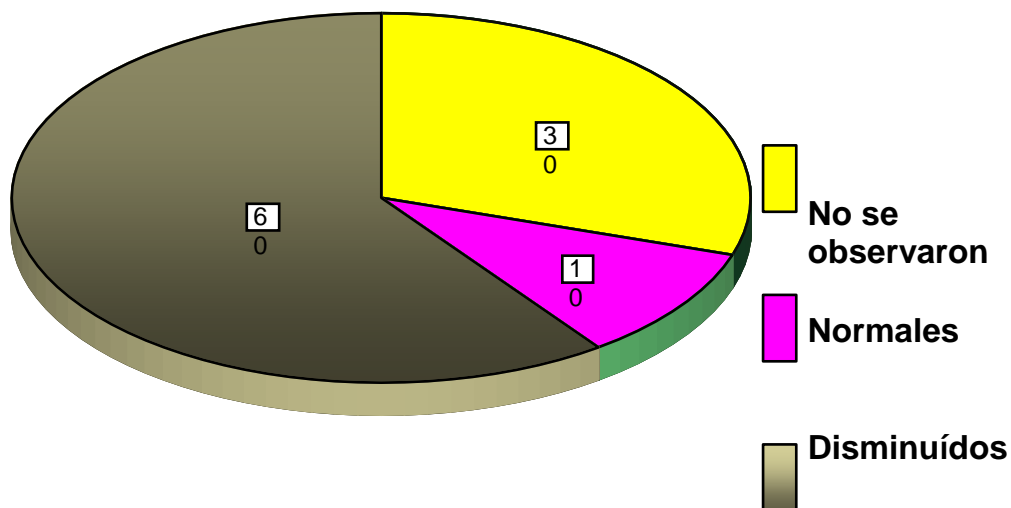


## 42.- CARACTERISTICAS DE LOS VASOS SANGUINEOS DE LAS MUESTRAS DE ENCIA DE PACIENTES CON TBC VIH + Y VIH-

En El gráfico N° 42 se puede observar que 60% de los vasos sanguíneos estaban disminuidos, en 30% de las muestras no se observaron vasos sanguíneos, y en 10% estaban normales.

Gráfico N° 42

Características de los vasos sanguíneos de las muestras de encía de pacientes con TBC VIH+ y VIH\_

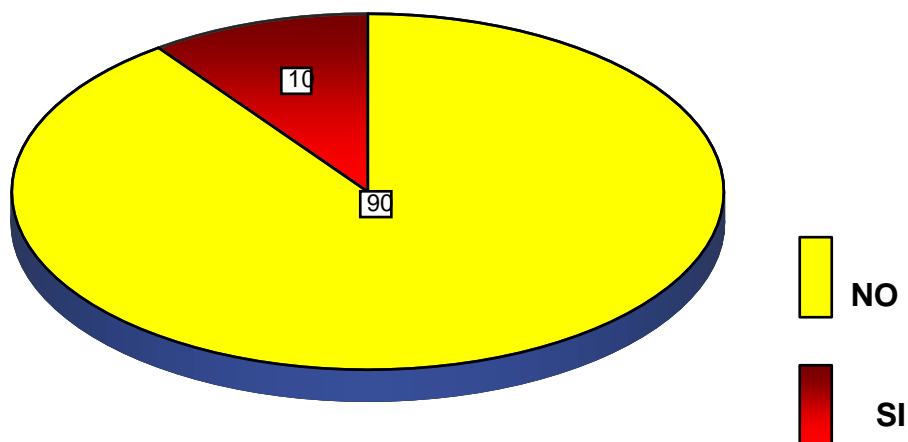




**43.- PRESENCIA DE CALCIFICACIONES DISTROFICAS EN MUESTRAS DE ENCIA DE PACIENTES CON TBC VIH+ Y VIH-**

En el gráfico N° 43 se puede observar que 90% de los pacientes no presento calcificaciones distróficas en contraparte con 10% de muestras de encía que exhibió calcificaciones distróficas.

**Gráfico N° 43**  
**Presencia de calcificaciones distróficas en muestras de encía de pacientes con TBC VIH+ y VIH-**



## DISCUSION.

Si bien es cierto que a medida que transcurren los años son mayores los avances en medicina, ciencia y tecnología, lo que ha permitido acelerar el diagnóstico de las enfermedades a fin de que sean tratados lo más rápidamente posible, ello ha traído como consecuencia un incremento en el índice de vida. Si embargo resulta paradójico el hecho de que enfermedades infecciosas que se creían estaban erradicadas, sigan en el presente afectando a buena parte de la población mundial, siendo la TBC una de ellas.

La TBC es una enfermedad infecciosa, una de la más importante del mundo, no solo para el que la padece, sino para su entorno, traduciéndose esto en un problema de salud pública. La pobreza, las desigualdades e inequidades presentes en las diversas poblaciones, la incapacidad operativa en la detección y tratamiento adecuado de los casos diagnosticados, los cambios demográficos y el VIH, son sin duda factores claves para que se continúe desarrollando la TBC. (1, 2, 9, 154)

El agente causal de la TBC es *M. tuberculosis* o Bacilo de

Koch, está afecta preferiblemente a los pulmones originando la tuberculosis pulmonar, pero puede localizarse en otros órganos o sistemas del cuerpo humano, como pleura, ganglios, aparato digestivo, sistema nervioso, huesos, entre otros. (19, 20,21, 22, 23, 24, 25, 53, 54, 55, 56, 57, 59, 60, 154)

En el presente trabajo se detecto la presencia de *M. tuberculosis* en lesiones bucales de un grupo de pacientes con diagnosticó de TBC, VIH+ y VIH- aplicando RCP a muestras de cavidad bucal, correlacionando la presencia de alteraciones bucales con la presencia de *M. tuberculosis* como microorganismo transeúnte en cavidad bucal.

Con relación al sexo presentó altos porcentaje de afectados en el género masculino 75% tanto en pacientes VIH+ como VIH-, así queda representado este género con 75% y el género femenino con 25%.

En cuanto a la edad de los pacientes el grupo etáριο más representativo estuvo entre la tercera y cuarta década de vida para ambos grupos de pacientes, la población VIH- con TBC obtuvo un promedio de edad de 35 años, y en el grupo de pacientes VIH+ con TBC obtuvo un promedio de edad de 32 años.

La literatura reporta que pacientes jóvenes con PPD positivo es un indicador importante de enfermedad en comparación con pacientes de más edad los cuales pueden presentar un falso positivo, una reactivación o desarrollo de la entidad de manera tardía al primer contacto. (19, 25, 26)

La edad promedio y sexo de los pacientes de esta investigación coincide con diversos estudios como el realizado por Godoy, 2001<sup>(155)</sup> en 905 pacientes durante los años 1992 y 1998 en la Provincia de LLeida, España, para el cual el grupo más afectado fue el del género masculino entre 30 y 44 años, sin embargo Santos, 2003<sup>(156)</sup> en un estudio retrospectivo entre 1997 y 2002 realizado en la Delegación Provincial de Sanidad de Toledo, refiere que el grupo de edad de mayor porcentaje entre 335 casos bacilíferos fue el correspondiente al grupo entre 15 y 24 años seguido del grupo entre 25 y 34 años y el género más afectado fue el masculino.

En cuanto a la frecuencia según género, Rigo, 2003<sup>(157)</sup> señala que existen estimaciones mundiales sobre la incidencia de la enfermedad en el género masculino inclusive con una proporción definida de 70%, y menciona ciertas diferencias entre hábitos y estilo de vida que hace más vulnerable al sexo masculino para contraer la infección. (157, 158, 159)

El consumo de drogas y alcohol, VIH, situaciones de riesgo como la problemática social, prisión, entre otros, son factores asociados que pueden incrementar la adquisición y desarrollo de la TBC en el género masculino. <sup>(155, 157)</sup> En este estudio 50% de los pacientes eran VIH+ progresión a SIDA y de estos el 50% presentó problemas de adiccióna múltiples a drogas, como cocaína, marihuana, heroína, piedra de manera simultánea, asociadas estas al consumo de alcohol. Solo el 30% de los pacientes presento hábito de alcohol aislado de drogas.

El 75% de los pacientes examinados no presentó hábitos de drogas asociados, lo cual pareciera no arrojar un resultado estadísticamente significativo, por la baja frecuencia de casos, sin embargo, una vez expuesto los análisis de los grupos por separado, la asociación de drogas y alcohol en los pacientes VIH+ con TBC es significativamente elevada con 50% y 30% respectivamente.

Bravo, 2001 <sup>(160)</sup> determinó la prevalencia y diferencia entre el consumo de drogas intravenosas y las inhaladas, incluyendo variables sociodemográficas, consumo de drogas y conductas sexuales, concluyendo que el uso de drogas inyectadas no solo es un riesgo para contraer VIH, sino

también otras patologías de transmisión parenteral (infección por VHC o VHB), no obstante la sustitución de la vía parenteral por la vía pulmonar puede generar daño y susceptibilidad en los pulmones.

El consumo de alcohol es un elemento que puede desencadenar el shock séptico por *M. tuberculosis* en ausencia o no de infección por VIH, suele aparecer en varones jóvenes alcohólicos que presentan síndrome constitucional, fiebre elevada, infiltrado intersticial o micronodulillar bilateral en los que se aísla *M. tuberculosis* en esputo, broncoaspirado o lavado broncoalveolar y raramente en sangre, y evolucionan a *shock* séptico con Síndrome de Disfunción Multiorgánica (SDMO), distrés respiratorio y éxitus.<sup>(161)</sup>

Los signos y síntomas de la TBC pulmonar son variados, la tos seca con posterior expectoración, con secreción purulenta o hemoptisis es un signo significativo en la enfermedad, la fiebre, diaforesis, sudoración, pérdida de peso, fatiga, disnea, y linfadenopatías, son otros de los signos y síntomas descritos en la literatura <sup>(21, 22, 23, 24, 25, 26)</sup>

Todos los pacientes de este estudio presentaron, como principales signos la tos con expectoración, pérdida de peso con desnutrición y lesión radiográfica con la presencia de

cavernas y un fibrotorax. El fibrotorax ha sido descrito en casos de larga data con reinfección como lo refiere Bustamante, lo cual coincide con las características del paciente que evidenció esta lesión. <sup>(161)</sup> Estos resultados son estadísticamente significativos, así el 100% de los pacientes evaluados presentaron criterios relevantes en el diagnóstico de TBC.

En cuanto a la pérdida de peso y desnutrición estos criterios se han considerado parte de un problema social. Sin embargo, Mora <sup>(162)</sup> describe el caso de una mujer de 29 años de edad que desarrolló TBC pulmonar posterior a un tratamiento de adelgazamiento, teniendo un contacto previo de TBC pulmonar con trece años de anterioridad.

En el presente estudio La frecuencia de casos de desnutrición fue elevada con 17/20 casos positivos (85%). De estos 10/10 casos pertenecieron al grupo de pacientes VIH+ y 7/10 pertenecieron al grupo VIH- con TBC. La frecuencia fue elevada, sin embargo la diferencia entre ambos grupos no fue estadísticamente significativa.

La presencia de lesiones radiográficas es de importancia y

fundamental para el diagnóstico de la enfermedad como lo señala Cecil, <sup>(26)</sup> las lesiones se observan como sombras fibronodulares en la zona superior de los pulmones que pueden abarcar uno o los dos ápices, conforme las lesiones avanzan, crecen y se tornan algodonosas o con bordes delicados, que posteriormente coalescen y se cavitan paralelamente a la necrosis y descamación del tejido pulmonar.

Las manifestaciones radiográficas de la TBC pulmonar dependen de diversos factores, como son la exposición previa a *M. tuberculosis* la tuberculosis, la edad y el estado inmunitario subyacente. Aunque la radiografía simple, presenta una buena sensibilidad para el diagnóstico de enfermedad pulmonar activa, no es útil para diferenciar lesiones antiguas de TBC reactivada. <sup>(160, 163)</sup> La tomografía computarizada (TC) convencional es superior a la radiografía simple en detectar cambios radiográficos sugestivos de actividad de la enfermedad. <sup>(164, 165)</sup>

En este estudio la frecuencia de lesiones observadas radiográficamente fue elevada. En el 100% de los pacientes se observó la presencia de lesiones pulmonares, que describían



cavernas unilaterales y bilaterales coincidiendo con lo que señalado por Cecil y Godoy <sup>(26, 155)</sup> sin embargo, en algunas ocasiones la lesión puede presentar aspectos que difieren de los clásicos y complican el diagnóstico o simplemente no se presenta lesión radiográfica. <sup>(164)</sup>

Los signos y síntomas son indicadores importantes de la enfermedad más no son concluyentes para dar el diagnóstico definitivo, las pruebas indudables son las microbiológicas ya que permiten la observación del bacilo y obtención del crecimiento bacteriano, <sup>(19, 20, 21, 22,23, 24, 25, 26, 31, 45, 126)</sup> Sin embargo, la literatura reporta y es parte de los resultados de este estudio, que no siempre las pruebas microbiológicas dan resultados positivos aun en presencia segura de la enfermedad. <sup>(165)</sup>

En este estudio 75% del grupo general presento BK positivo, otro 25% aun teniendo clínica y radiografía sugerente de TBC pulmonar y que a través del tiempo respondieron favorablemente al tratamiento contra la enfermedad fueron negativos en el BK.

La TBC pulmonar con baciloscopia de esputo negativa plantea dificultades debido al lento crecimiento de *M.*

*tuberculosis* en los medios tradicionales de cultivo y a la necesidad de utilizar exploraciones invasivas.

El BK permite a través de la tinción, de manera fácil y rápida observar los bacilos que pueden presentarse de manera aislada o congregados, sin embargo, la sensibilidad es menor que los medios de cultivo, esta depende de factores tales como: tipo de muestra, número y concentración de micobacterias presentes, técnica de coloración utilizada, tiempo dedicado a la observación, actitud y perseverancia del microscopista ante una muestra sospechosa de tuberculosis.

(126)

Paralelo al examen directo de la muestra esto debe cultivarse en medios especiales, como Löwenstein Jensen en el cual se observa el crecimiento de colonias 8 semanas después de la siembra, más aún si se toma en consideración que el tiempo de crecimiento de *M. tuberculosis* oscila entre 18 y 20 horas. Posteriormente se realizan pruebas bioquímicas de la siembra que completan la identificación sumado a las pruebas de sensibilidad a los antibióticos.<sup>(19, 20,</sup>

21, 22, 23, 126)

Debido a las exigencias de este microorganismo para

crecer en los medios de cultivo sólido, en la actualidad se emplean medios líquidos radioactivos con producción de dióxido de carbono radioactivo <sup>(19, 20, 22, 23, 126)</sup> que permiten obtener crecimiento bacteriano en un período de tiempo de alrededor de dos semanas, accediendo con prontitud al informe microbiológico.

Además de esto se han desarrollado medios que permiten establecer la sensibilidad microbiana ante los antibióticos contra la TBC. De esta forma el empleo de medios con lucíferasa, que puede detectar microorganismos multirresistentes en unos pocos días, la lucíferasa es una enzima extraída de las luciérnagas, que produce destellos de luz en presencia de adenosina trifosfato (ATP), si el microorganismo aislado es resistente no será dañado por el fármaco, producirá una cantidad normal de ATP y la luciferasa producirá una cantidad de luz normal.<sup>(22)</sup>

En el caso de los pacientes que ingresaron en este estudio la coloración utilizada para las muestras de esputo de los pacientes fue auramina y rodamina y la siembra en medio de cultivo se realizó en medios Löwenstein Jensen, con las características propias de crecimiento que provee este tipo de medio de cultivo, inclusive en algunos pacientes que habían

culminado su tratamiento todavía no se tenía el reporte del cultivo realizado a la muestra de esputo.

La proporción de BK positivos en esta investigación correspondió a 75% y 65% de cultivos positivos para *M. tuberculosis*, ahora bien realizando la correlación entre ambos resultados se observó que la frecuencia de estas dos pruebas positivas para un mismo paciente fue baja ya que tan solo 40% fueron positivos.

En la literatura se han reportado diferentes casos de de BK negativos con otras pruebas confirmatorias para *M. Tuberculosis*, positivas. Al respecto Teijo, <sup>(163)</sup> reportó el caso de un paciente masculino con fístula esofágica mediastínica por *M. tuberculosis* en un paciente con infección por VIH+ La baciloscopia del broncoaspirado y de la PAAF de adenopatías supraclaviculares fue negativa, observándose posteriormente crecimiento de *M. tuberculosis* en los medios de cultivo. Efectivamente, el desarrollo en medios de cultivo permitió la identificación de la cepa, pero hay que tomar en cuenta que la prueba primaria que es el BK en este reporte fue negativa debido a que sólo es positiva en el 50% de los casos y a pesar de ser una prueba de gran importancia, su sensibilidad en ocasiones está disminuida.

Otro caso con BK negativo y cultivos positivos es el descrito por Pérez, <sup>(166)</sup> en un paciente masculino de 17 meses de edad, con otomastoiditis tuberculosa, entidad de difícil diagnóstico, por lo general con foco primario en pulmón con evidencia radiográfica tan solo en la mitad de los casos, el BK realizado al material obtenido por antrostomía fue negativo con la técnica de Ziehl Neelsen, sin embargo la biopsia mostró células epiteliales y células gigantes multinucleadas, el cultivo del exudado ótico y del obtenido por antrostomía resultaron positivos en el cultivo para *M. tuberculosis*, cabe destacar que la radiografía de tórax presentó adenopatías hiliares bilaterales e infiltrado en llingula.

Otros casos describen la importancia de los métodos convencionales como diagnóstico, Salgado <sup>(167)</sup> expone el caso de un paciente masculino de 50 años de edad, VIH+ que presento fascitis necrosante como primera manifestación de tuberculosis, se le inició tratamiento sin mejoría alguna, se reevaluó indicándose biopsia muscular y esta expuso gran cantidad de bacilos ácido alcohol resistentes y cultivo positivos a *M. tuberculosis*, este caso no solo muestra una forma poco usual de presentación de la TBC si no que

evidencia que las pruebas microbiológicas convencionales fueron eficaces para el diagnóstico de la infección en ese paciente.

Gonzalez, <sup>(165)</sup> estudió 28 casos de pacientes que a pesar de presentar signos y síntomas que sugerían TBC pulmonar, presentaron BK de esputo negativo, y tan solo 12 presentaron positividad en los medios de cultivo, sin embargo, todos respondieron de manera favorable con la antibioticoterapia. En dicho estudio se evaluarón las lesiones en el pulmón a través de tomografías computarizadas de alta resolución, (HRCT).

Los hallazgos en la HRCT más frecuentes en pacientes con TBC activa son consolidación, macronódulos, y nódulos centrolobulillares con diferencias significativas en tuberculosis inactiva. <sup>(165)</sup>

Azuaje, <sup>(168)</sup> realizó un estudio retrospectivo entre 1987 y 2000 con los casos diagnosticados en el Hospital de Vall d'Hebron, Barcelona, España, durante este período se recibieron 3.710 casos de TBC con diferentes presentaciones, 611 casos correspondieron a pacientes VIH. En dicha investigación se tomaron en cuenta criterios como tipo de infección, (pulmonar, extrapulmonar, o presentación mixta),

características demográficas, enfermedades asociadas a los pacientes VIH, factores de riesgo, entre otros.

En la investigación realizada por Azuaje y col, <sup>(168)</sup> de 611 casos de TBC y VIH+ el 16,3% de los pacientes presentó TBC simultánea a la forma pulmonar siendo la más común la TBC meníngea. Existen similitudes entre el trabajo de Azuaje y este estudio en cuanto a la presentación de la infección, ya que 20% de los pacientes VIH+ con TBC, desarrollaron de manera simultánea TBC pulmonar y TBC meníngea.

Los resultados de los BK aplicados a los pacientes del estudio realizado por Azuaje, <sup>(168)</sup> fueron negativos a excepción de dos muestras de LCR, mientras que el 77,8% de los cultivos resultó positivo para *M. tuberculosis*.

En cuanto a las entidades concomitantes con la TBC que reporta Azuaje, <sup>(168)</sup> coincide con algunas de las entidades sobreañadidas de los pacientes de este estudio como son las hepatitis virales específicamente la C, con la subsiguiente toxicidad relacionado con el daño hepático.

Las entidades sobreañadidas a la TBC en este estudio fueron más comunes en el grupo de pacientes VIH+ con TBC. La frecuencia de insuficiencia renal fue baja se presentó en

40% (4/10) pacientes con TBC, sin embargo, el denominador común fue pertenecer al grupo de pacientes VIH+ como se mencionó anteriormente.

Otra entidad que se pudo diagnosticar en el grupo de pacientes VIH+ con TBC fue el síndrome diarreico con una frecuencia elevada, 90% (9/10) de los pacientes de este grupo desarrolló este síndrome.

La candidiasis orofaríngea es otra de las entidades añadidas al grupo de pacientes VIH+ con TBC, al respecto la frecuencia de casos fue baja con 20% (2/10) casos positivos.

La anemia también constituyó un hallazgo importante en los pacientes con TBC VIH+, la frecuencia de casos fue elevada con 90% (9/10) casos positivos.

En cuanto a las entidades añadidas a la TBC entre los grupos VIH+ y VIH- existen diferencias estadísticamente significativas, ya que el grupo VIH+ por su condición inmunológica está más expuesto a desarrollar de manera simultánea diversas enfermedades que no solo complican el estado sistémico de los mismos, si no, que también en algunos casos dificultan el diagnóstico de las diferentes entidades. Es importante señalar que las enfermedades



añadidas en estos pacientes no dependen de la presencia o no de la TBC ni están influenciadas por esta,

El diagnóstico microbiológico si bien es definitivo, en gran cantidad de casos requiere de pruebas especiales complementarias, que finalmente dan el diagnóstico de la infección, esto aunado a la pericia del profesional de salud que indaga y aplica métodos convencionales y también innovadores para lograr el ansiado diagnóstico definitivo en pro de un tratamiento eficaz para el paciente.

En esta investigación como método diagnóstico no convencional se aplicó la RCP; sin embargo, cabe destacar que existen otros medios que se emplean en la actualidad, Entre estos se mencionan los métodos directos como ácidos micólicos, ácido tuberculoesteárico, detección de antígenos, detección de secuencias nucleotídicas por hibridación y amplificación y los métodos indirectos a través de enzimas y métodos serológicos. <sup>(127,169)</sup>

Métodos como la cromatografía, identificación mediante fagos específicos, identificación genotípica a través de observación de los fragmentos de amplificación (regiones de diferencia RD, RD10, RD3, RD5 y RD11), RCP-RFLP (hsp65), secuenciación (ADN) de la subunidad ribosomal 16S,

hibridación en fase sólida, Chips (arrays) de ADN, amplificación y detección en tiempo real. <sup>(170, 171)</sup>

Otras pruebas de importancia son las basadas en la detección de anticuerpos, ELISA, anticuerpos antiproteínas, anticuerpos antilípidos, anticuerpos antiazúcares. <sup>(171)</sup>

La técnica de RCP, constituye una herramienta de gran utilidad en el diagnóstico de enfermedades producidas por agentes de difícil reconocimiento.

Las técnicas de amplificación genética permiten generar a partir de una única copia de ADN o ARN y mediante un proceso enzimático, millones de copias de ácido nucleico diana, facilitando de esta forma la detección directa de *M. tuberculosis* en muestras clínicas. <sup>(173)</sup>

Algunos autores como Mendez y Col <sup>(172)</sup> en una revisión realizada sobre estrategias innovadoras en el diagnóstico de pacientes con TBC, afirman, que los métodos de amplificación de ADN para este microorganismo deben ser cuidadosos para disminuir la presencia de agentes inhibidores de la RCP y poder lograr con esta técnica el diagnóstico en pocas horas. Por su parte la sencillez y el bajo costo de las pruebas serológicas hacen de este un procedimiento atractivo y que

según estos autores pueden llegar a sustituir al BK que solo tiene una sensibilidad del 10%, en cuanto al cultivo tradicional tiene un valor predictivo de 95% en conjunto con las pruebas bioquímicas, pero requiere de un tiempo muy largo para dar resultados.

El diagnóstico de pacientes con clínica de tuberculosis, pero donde la concentración de bacilos en las muestras clínicas es poca, la sensibilidad es 90% y 100% y la especificidad del 70 y 98%.<sup>(127)</sup>

En este estudio se realizó RCP a muestras de Tejido, placa dental y saliva, de 20 pacientes. Los resultados dieron positivos aún en pacientes que presentaron BK y cultivo negativo y que sin embargo la radiografía y la clínica era sugerente de TBC, en pacientes con todas las pruebas positivas convencionales de esputo y genética de muestras de cavidad bucal, e incluso en pacientes con alguna de las dos pruebas microbiológicas positivas y RCP de cavidad bucal positiva. En este sentido podemos inferir que la cavidad bucal es una fuente diagnóstica importante.

La RCP realizada en muestras de cavidad bucal aportó resultados variados, de manera general. La RCP de placa dental fue la que permitió detectar mayor cantidad de casos

para el genoma de *M. tuberculosis*, positivos con 80% de casos, seguido de los resultados de RCP de saliva con 75% de casos positivos y finalmente tejido con 60% de casos positivos. Al relacionar estos hallazgos con los resultados generales de las pruebas microbiológicas convencionales estadísticamente no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas más descriptivamente las diferencias son notorias entre las pruebas microbiológicas y las RCP.

El grupo de pacientes VIH+ con TBC, presentó niveles de frecuencia diferentes en referencia a las pruebas microbiológicas convencionales y RCP, 20% de los pacientes fue positivo (2/10) en BK, negativos en cultivo y positivos en tres RCP, entre el grupo de pacientes VIH- con TBC, la frecuencia de RCP positivos presentó diferencias aunque estadísticamente no fueron significativas. Estos pacientes fueron positivos en BK, negativos en cultivo y positivos en dos RCP, otro caso descriptivamente importante es el relacionado con 5% (1/10) de los pacientes que fueron negativos en ambas pruebas microbiológicas pero positivas en las tres RCP.

Entre los grupos VIH+ y VIH- los resultados en cuanto a RCP positivos fue muy similar manteniendo la frecuencia de

positivos en los resultado, 20% (2/10) pacientes con TBC tanto del grupo de pacientes VIH+ como VIH- fueron positivos en placa dental y saliva, 5% (1/10) para ambos grupos fueron positivos para tejido, negativo en placa dental, y positivo en saliva, 30% (3/10) de pacientes VIH- fueron positivos para las tres RCP, 40% (4/10) pacientes VIH+ fueron positivos para tres RCP.

Los resultados de la RCP exhiben la alta especificidad y sensibilidad de esta prueba para muestras de cavidad bucal, 85% para placa dental, 75% para saliva y 75% en saliva, esto tomando en cuenta como pruebas comparativas el BK y el cultivo.

En cuanto a las lesiones encontradas en estos pacientes todas se presentaron en el periodonto bajo las formas clínicas de gingivitis y algunos cuadros sugerentes de periodontitis, lo cual es interesante si se revisa la literatura ya que diversos autores señalan que la úlcera tuberculosa en cavidad bucal es la lesión más común producto de esta enfermedad, por lo general descrita como manifestación primaria. (74, 75, 76,77, 83)

Por su parte Avdnonina, y col. (1993), refieren a un grupo de 113 pacientes con diagnóstico a nivel bucal de periodontitis, 37.2% de los mismos presentó áreas de

enfermedad localizada con lesiones tipo vegetativas acompañadas de inflamación granulomatosa, proponiendo que la presencia de enfermedad periodontal previa es una característica importante para que los bacilos pueden producir daño al tejido. <sup>(4,79)</sup>

El estado del periodonto previo a la TBC, factores relacionados con el bacilo y el sistema inmunológico del paciente son importantes, para vencer barreras iniciales contra la colonización que crean los microorganismos residentes de la cavidad bucal, específicamente en la placa dental como lo han señalado, Marsh y Martin 1999. <sup>(174)</sup>

Dimitrakopoulos, <sup>(87)</sup> señala que normalmente la mucosa bucal permanece intacta debido a mecanismos naturales de resistencia hacia *M. tuberculosis* y otros agentes microbianos. Este autor le atribuye la resistencia a la presencia de las enzimas presentes en la saliva, así como su efecto de barrido, la presencia de anticuerpos, microorganismos propios de cavidad bucal, y la estructura epitelial.

La siembra de los bacilos puede ser directa o por vía hematológica. <sup>(76)</sup> lo que es evidente es que la exploración y adecuado diagnóstico de las lesiones de TBC en cavidad bucal cuenta con una desventaja al igual que otras zonas y

sistemas del cuerpo, la poca cantidad de bacilos capaces de ser detectados por BK e inclusive por cultivo. <sup>(87)</sup>

La técnica de RCP ha sido ampliamente descrita en cavidad bucal, para identificación de virus y agentes infecciosos, el aplicarlo a *M. tuberculosis* y amplificar genoma es de suma importancia porque describe igualmente el riesgo existente para el personal de salud y contactos de los pacientes que en un momento dado pueden ser susceptibles a ser contagiados. <sup>(136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145)</sup>

En la cavidad bucal así como en diversas partes del organismo, puede que no se concentre la cantidad de bacilos necesarios para ser observados en BK, En muestras con poca concentración de bacilos La técnica de RCP ha sido aplicada.

De esta forma Mendez, <sup>(35)</sup> reporta el caso de un niño de 2 años de edad que presentó un cuadro sugerente de pericarditis tuberculosa finalmente diagnosticado a través de la RCP, después de realizar tres BK de jugo gástrico, cultivo, BK de líquido y biopsia pericárdica con resultados negativos, la RCP con primers IS6110 arrojó resultados negativos para el líquido pericárdico y resultados positivos para el tejido que inclusive se encontraba en parafina.

Mendez, <sup>(35)</sup> señala que esta técnica es capaz de identificar material genético de micobacterias muertas o en escaso número. Sin embargo es indispensable manejar las posibles variables que como señala Méndez, <sup>(172)</sup> pueden ser inhibidores de la RCP.

En cavidad bucal, la técnica de RCP ha arrojado resultados de suma importancia y con múltiples interpretaciones. Eguchi, <sup>(112)</sup> probó la técnica de La RCP, en 97 pacientes con TBC, VIH negativos, tomando muestras de saliva, caries, placa dental y prótesis dentarias, los resultados arrojaron una sensibilidad y especificidad de 98% en saliva, 92% en placa dental, 89% en lesiones de caries y 100% en placa dental adherida a prótesis dentales, Como patrón de comparación realizó cultivo de cada una de las muestras y los resultados fueron: 17% de muestras de saliva fueron positivas en el cultivo, 2% de muestras de placa dental fueron: positivas en el medio de cultivo y ningún cultivo de lesiones cariosas y placa de prótesis fue positivo en el medio de cultivo.

En este estudio la sensibilidad de la técnica de RCP con primers IS6110 arrojó 75% en placa dental, 65% en saliva y 55% en tejidos, si bien los porcentajes de este estudio son un poco menor a los obtenidos por Eguchi, <sup>(112)</sup> representan



porcentajes de sensibilidad elevados, si se comparan con los obtenidos a través del cultivo.

Rivera, <sup>(106)</sup> reportó el caso de una paciente femenina de 34 años de edad, con una lesión eritematosa, de aspecto granular, irregular, en encía entre canino y segundo molar. De la muestra incluida en parafina se extrajo ADN para aplicar la Técnica de RCP con Sonda IS6110, resultando positivo la RCP para tejido periodontal en cavidad bucal, inclusive tomando en cuenta que la extracción del ADN se realizó del bloque de parafina en el cual disminuye la cantidad de ADN y aumentan los inhibidores de la RCP.

Los resultados anteriores producen varias interpretaciones no solo relacionados con la colonización de *M. tuberculosis* en boca para causar daño, sino que la cavidad bucal es una fuente diagnóstica y es un reservorio de microorganismos causante de infecciones ocupacionales.

Méndez, <sup>(172)</sup> hace referencia a sistemas de complemento para el diagnóstico de *Mycobacterium* spp, denominados RCP múltiples que se fundamentan en reacciones que consiguen detectar de forma simultánea y en un único tubo diferentes secuencias diana, Con el transcurrir del tiempo y corrigiendo los errores, esta técnica se ha optimizado y ha permitido la

identificación de diversas especies de este Género: *M. tuberculosis*, *M. avium*, *M. Kanssii*, *M. chelona*, *M. genavense*, *M. bovis* BCG, *M. xenopi*, y *M. marinum*.

Otro tipo de RCP utilizado para *M. tuberculosis* es la técnica de RCP en tiempo real, Costa <sup>(173)</sup>, refiere que con esta técnica los procesos de amplificación y detección se producen de manera simultánea en el mismo vial cerrado, sin necesidad de una acción posterior. Además, mediante detección por fluorescencia, se puede medir durante la amplificación la cantidad de ADN sintetizado en cada momento, ya que la emisión de fluorescencia producida en la reacción es proporcional a la cantidad de ADN formado. Esto permite conocer y registrar en todo momento la cinética de la reacción de amplificación. <sup>(173)</sup>

En este estudio el 50% de los casos pertenecían a pacientes VIH positivos y el otro 50% eran VIH negativos, en cuanto a las lesiones periodontales presentadas en cada grupo no existieron diferencias estadísticamente significativas, el 55% de los pacientes presentó gingivitis generalizada con zonas específicas más afectadas, y el otro 45% restante presentó gingivitis localizada.

En cuanto a las características de estas alteraciones

relacionadas con los niveles de CD4+ y niveles de carga viral la frecuencia de gingivitis crónica generalizada fue más elevada en los pacientes con recuento de células CD4 entre 50 y 100cel/mm<sup>3</sup>, ya en relación con la carga viral fue más frecuente los casos de gingivitis crónica generalizada en los pacientes que presentaron entre 10001 y 15000 copias de ARN/ml.

La localización de las lesiones en los pacientes VIH+ según niveles de CD4+, fueron más frecuentes en encía libre y adherida y en pacientes con conteo de células entre 50 y 100cel/mlm<sup>3</sup>, en cuanto a la relación con la carga viral no existieron diferencias significativas.

En cuanto a la clasificación según el CDC 1993, el grupo de pacientes afectados con el VIH fueron incluidos en el grupo C3, esta clasificación se trata de un sistema clínico inmunológico por el que los infectados se clasifican tanto en función de su eventual sintomatología como de su recuento de linfocitos CD4 (CD4). La categoría clínica A incluye a sujetos afectados por primoinfección y asintomáticos, con o sin linfadenopatía generalizada persistentes. La categoría clínica B engloba a pacientes que presenten o hayan presentado síntomas debidos a enfermedades no

pertenecientes a la categoría C, pero relacionados con la infección por el VIH o cuyo manejo y tratamiento suele verse complicados debido a la presencia de esta última. En la categoría C se integran aquellos pacientes que presenten o hayan presentado alguna de las complicaciones ya incluidas en la definición de SIDA de 1987, más otras tres nuevas que se añadieron con posterioridad y que fueron aceptadas también por la OMS para Europa. <sup>(175)</sup>

La infección por *M. avium intracellulare* o *M. kansasii* diseminada o extrapulmonar, TBC pulmonar o extrapulmonar diseminada, infección por otras micobacterias diseminada o extrapulmonares, son en conjunto con otras enfermedades como candidiasis traqueal, bronquial o pulmonar, candidiasis esofágica, carcinoma de cérvix invasivo, coccidiodomicosis diseminada, criptococosis extrapulmonar, infección por citomegalovirus, retinitis, encefalopatía, infección por virus herpes simple, histoplasmosis, sarcoma de kaposi, situaciones clínicas diagnósticas de SIDA en el adulto CDC, 1993. <sup>(174)</sup>

En la fase final o de crisis se produce un incremento de la actividad replicativa del virus. Es probable que el sistema inmunológico sea capaz de reponer los CD4 destruidos y, por

lo tanto, que su capacidad para limitar la multiplicación del VIH se reduzca progresivamente, se produciéndose una depleción de CD4 e igualándose las cargas virales linfoide y circulante. Clínicamente, los pacientes suelen presentar una grave alteración del estado general, así como infecciones oportunistas, determinadas neoplasias y ciertos trastornos neurológicos característicos. <sup>(174)</sup>

En relación con la clasificación de Clearinghouse y col, 1993 <sup>(176)</sup> en relación con las enfermedades bucales relacionadas con los pacientes VIH, las lesiones producidas por M. tuberculosis están catalogadas dentro del grupo de lesiones vistas ocasionalmente que exhiben una asociación potencial con la enfermedad.

Con respecto a las características histopatológicas de la TBC, estas suelen ser muy variadas, sin embargo, es importante la descripción de células gigantes multinucleadas, y formación de granulomas entre otros.

La histopatología en conjunto con otras pruebas diagnósticas descritas anteriormente, no siempre son concluyentes para dar un diagnóstico de TBC, es una prueba complementaria, Machado, 2005 <sup>(44)</sup> señala que en el diagnóstico de TBC de 94 pacientes con TBC y SIDA, en

Pereira Colombia, la biopsia como prueba diagnóstica tan solo se empleó en un 2,1% de los casos, al igual que el empleo de cultivo para *M. tuberculosis* de la población evaluada.

Las características histopatológicas en algunos casos no son variadas, y se sugieren lesiones por TBC, Mendez, 2005 <sup>(35)</sup> reportó pericarditis fibrinosa, sin granulomas y BK negativo para un paciente con pericarditis tuberculosa, diagnosticada por RCP.

Salgado, 2006 <sup>(167)</sup> en el estudio histopatológico de un paciente con fascitis necrosante, describió la presencia de infiltrado inflamatorio crónico, sin formación de granulomas, ni presencia de bacilos en la muestra.

En cuanto a las características histopatológicas descritas en cavidad bucal la demostración de las lesiones por TBC ha sido establecidas por la formación de granulomas , presencia de células multinucleadas, células epiteliodes, con o sin la identificación e bacilos ácido alcohol resistente, en la actualidad. <sup>(109, 110,)</sup>

Sammartino, 1986 <sup>(84)</sup> señaló que las características histopatológicas pueden variar y que estas están directamente

relacionados con instauración del bacilo de manera directa en los tejidos o por vía hematógica.

Lo Bello, 1984 <sup>(81)</sup> sugiere algunas consideraciones a tomar en cuenta en la histopatología relacionada con TBC en cavidad bucal, mencionando: que en la mucosa gingival es usual encontrar un aumento de volumen del epitelio, con la presencia de infiltrado inflamatorio y alteraciones en la lámina propia.

La presencia de células de Langerhans con tendencia a confluir, células epiteliales, células multinucleadas y células de procesos inflamatorios crónicos, son características que permitían hasta hace pocos años concluir con el diagnóstico de una lesión producto de *M. tuberculosis*. <sup>(81)</sup>

Lo anteriormente expuesto puede llegar a representar una de las posibles causas de un bajo índice de reportes de lesiones producidas por *M. tuberculosis*, lo cual se corrobora con lo reportado por diversos autores, con respecto a pacientes con TBC diagnosticada por diversas pruebas, que no incluían la histopatología típica de TBC sumado a un BK negativo por sensibilidad baja a la prueba.

En cuanto a las características histopatológicas de las

muestras de tejido de los pacientes que ingresaron en este estudio, el epitelio, en 40% de los pacientes presentó aumento, acorde con lo señalado por Bello, <sup>(81)</sup> así mismo se presentaron procesos inflamatorios crónicos en los cuales predominó el infiltrado linfoplasmocitario denso, el tipo de epitelio que se observó con más frecuencia fue el plano estratificado paraquetinizado. con 55%, el corión exhibió fibrosis en 65% de los casos, los vasos sanguíneos se encontraron disminuidos en un 60% de las muestras y se presentaron calcificaciones distróficas en 10% de los pacientes evaluados.

En cuanto a la coloración ácido alcohol resistente no se pudo observar formas bacilares correspondientes a *M. tuberculosis* en ninguna de las muestras evaluadas, tampoco se evidenciaron granulomas o células multinucleadas, en contra parte con la RCP realizada a esas mismas muestras de tejido en la cual resultaron positivas 60% de las mismas, para la amplificación de la secuencia 1S6110, correspondiente a *M. tuberculosis*.

Las técnicas de biología molecular resultan una gran herramienta para la identificación de agentes infecciosos de origen microbiano o viral, este estudio permitió, evidenciar las



bondades de esta tecnología, y confirma el beneficio del trabajo como equipo multidisciplinario en pro del paciente, así mismo nos permite suministrar una posibilidad de diagnóstico sin usar procedimientos invasivos molestos y riesgosos para los pacientes.

## **CONCLUSIONES.**

- 1.- El género más representativo de pacientes con TBC en este estudio fue el masculino, tanto en el grupo de pacientes VIH+ Y VIH-.
- 2.- El grupo etario con TBC que predominó fue la tercera y cuarta década de edad para ambos grupos de pacientes.
- 3.- El grupo de pacientes VIH+ con TBC presento elevados porcentajes de asociación con hábitos asociados como drogas y alcohol.
- 4.- En cuanto a la relación de los niveles de Carga Viral y niveles de CD4+ de los pacientes con TBC / VIH+ estos presentaron un recuento de copias virales elevadas y conteo de células CD4+ bajo.
- 5.- En el presente estudio El BK mostró mayor sensibilidad como prueba microbiológica convencionales para el grupo de pacientes VIH-
- 6.-El cultivo obtuvo mayores resultados positivos de manera aislada en el grupo de pacientes con TBC VIH+
- 7.-La RCP realizada a muestras de placa dental de paciente con TBC fue más sensible en el grupo VIH+ con 90% y el

grupo VIH- presento 70% de casos positivos para la RCP de placa dental.

8.- La RCP realizada a muestras de saliva de pacientes con TBC fue más sensible en el grupo VIH- con 80% y el grupo VIH- igualmente se pudo demostrar la presencia de material genómico de *M. tuberculosis* con 70% de casos positivos para la RCP de saliva.

8. La RCP realizada a muestras de encía de pacientes con TBC fue más sensible en el grupo VIH+ con 70% y el grupo VIH- presento 50% de casos positivos para material genético de *M. tuberculosis* en muestras de encía.

9.- Las características histopatológicas descritas para infecciones de micobacterias, describen el daño por la instauración de *M. tuberculosis*, bien sea como una lesión primaria o secundaria, sin embargo, deja sin alcance la identificación de microorganismos en las etapas iniciales de colonización, por lo cual procesos inflamatorios leves pueden no asociarse con la enfermedad.

## BIBLIOGRAFIA.

- 1.- <http://www.ifrc.org/sp/docs/news/pras/2603>
- 2.- <http://www.who.com>.
- 3.- Coen. L. Oral tuberculosis. Oral Med. 1959;(14);139-141.
- 4.- Avdonina, L., Gedymin, L., Erokhin, V. Tuberculous periodontitis. Probl tuberk. 1993;(4):4-7.
- 5.- Mignona, M., Muzio, L., Favia, G., Ruoppo, E., Sammartino, G., Zarrelli, C., Bucci, E. Oral tuberculosis: a clinical evaluation of 42 cases. Oral disease. 2000;(6):25-30.
- 6.- Dalessandro. G. Lezioni di microbiología. Eliotécnica. 1959
- 7.- Davis. B., Dulbecco R., Eisen. H. Jr Microbiology. 1970;(134)
- 8.- Komiyama, K., Norio , H., Makoto, Y., Masahiro, O., Okay, T., Mitsuaki, T., Rapid diagnosis of oral tuberculosi by amplification of Mycobacterium DNA from paraffin embedded specimens. J Oral Sci. 1998;(40):31-36

9.- Harries, A., Maher, D., TB/VIH: Manual clínico para América Latina. Programa Mundial de tuberculosis. Organización Mundial de la Salud. 1996.WHO/TB/96.200

10.- Ministerio de salud y Desarrollo Social, Venezuela, año 2003

11.- <http://www.ifrc.org/cgi/webnater/tesis.exe/searchsp>

12.- Ministerio de salud y Desarrollo Social, Venezuela, año 2000.

13.- Savacool, J. Philadelphia and the white plague. Trans Stud Coll Physicians Phila. 1986 ; (8):147-182

14.- Carrillo, A. Los medicos ante la primera campaña antituberculosa en México. Gac Med Mex. 2001;(137):361-367.

15.- García, J., Rubel, A., Moore, C., Marquez, M., Csasola, S., Von Glascoe, C. Algunos aspectos antropológicos del encuentro médico paciente con tuberculosis pulmonar en el occidente de México. Gac Med Mex. 2002;(138)211-216.

16.- Lehmann, J., para-aminosalicylic acid in the treatment of tuberculosis. Lancet I . 1946:15-16.

17.- Karlson, A., Pfitze, K., Carr, D., Feldman, W., Hinshaw, H., The effect of combined therapy with streptomycin, para-aminosalicylic acid and promin on the emergence of streptomycin resistant strains of tubercle bacilli: a preliminary report. Proc Natl Meet Mayo Clin 1949:(24);520-515.

18.- Dolin , P., Raviglione, M., Kochi, A. Estimates of future global tuberculosis morbidity and mortality. MMWR. 1993:(42);961-963.

19.- Prescott, L., Harley, J., Klein, D. Microbiología. Primera ed. Edit. McGraw-Hill- Interamericana. España, Madrid, 2000.

20.- Zinsler., Joklik., Willett., Arlos. Microbiología. Vigésima ed. Edit Panamericana. México. 2000.

21.- Jawetz, Melnick, Adelburg. Microbiología Médica. Décimo sexta ed. Edit. Manual Moderno. México, Df, 1999.

22.-Warren, L. Microbiología e inmunología médicas. Octava ed. Edit. . McGraw-Hill- Interamericana. España, Madrid, 2006.

23.- Kenneth, R., Ray. G. Microbiología médica. Cuarta ed. Edit. . McGraw-Hill- Interamericana. México, DF, 2005.

24.- Nuñez, M., Gómez, M., Carmona., O., Microbiología médica. Segunda ed. Edit. Formas Laser. Venezuela, 1997.

25.-Cotran, ramzi., Kumar, V., Collins, T. Patología estructural y funcional. Sexta Ed. Edit. McGraw-Hill- Interamericana. España, Madrid, 2000.

26.- Bennet, G., Gill, D., Kokko, G., Powell, S. Tratado de Medicina Interna. Vigésima primera ed. Edit. McGraw-Hill- Interamericana. España, Madrid, 2000.

27.- Garmendia, J. Inmunopatología de la infección por micobacterias. Act Cient Venez. 2001,(52):10-12.

28.- Garcia, J. Gonzalez, A. Tuberculosis: Patogenia y manifestaciones clínicas. Acta Cient Venez. 2001;(52)5-9.

29.- Yepez, J., Sullivan, J, Pinto, A. Tuberculosis: Medical management update. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 2004;(98):267-273.

30.-TaKiff, H. El papel que cumplen los factores genéticos en humanos en la susceptibilidad a la tuberculosis. Act Cient Venez. 2001;(52)16-18.

31.- Avilan, Y., Rodríguez, N., Fernández, B. Tuberculosis en el tercer milenio. Arch Hosp Vargas. 2002;(44):172-179.

32.- Nagai, H. HIV infection and tuberculosis. Kekkaku. 2003;(78):45-49.

33.- De Backer, A., Mortele, K, Vanschoubroeck, I, Keulenaer, B. Abdominal tuberculous lymphadenopathy: MRI features. Eur Radiol. 2005;15(10):2104-2109.

34.- Kraemer, M. Gill, S., Seowchoen, F. Tuberculous anal sepsis: report of clinical features in 20 cases. Dis Colon Rectum. 2000;43(11):1589-1591.



- 35.- Mendez, A., Baquero, A., Alvarez, F., Ceano, M., Garcia, M., Del castillo, M. Pericarditis tuberculosa diagnosticada por PCR en biopsia pericardica. An Pediatr . 2005;(62): 77-78.
- 36.- Fica, A., Bozan; P., Aristegui, M., Bustos, P. Espondilodiscitis. Análisis de una serie de 25 casos. Rev Med Chile. 2003;(131):473-482.
- 37.- Pérez, C., Rojas, A., Baudrand, R., Gonzalez, S., Fontboté, C. Bursitis tuberculosa: caso clínico. Rev Med Chile. 2002;3(130)34-39.
- 38.- Granich, C., Hans, R., Espinal, M. Normas para la prevención de la tuberculosis en los establecimientos de asistencia sanitaria en condiciones de recursos limitados. WHO/CDS/TB/ 2000:99-269.
- 39.- Rangel. M. La epidemiología cambiante de las infecciones en el hospital. Enf Infecc y Microbiol. 2002;22(2): 51-54.
- 40.- Castellano, J. Medicina en odontología, enfermedades infecciosas. Segunda ed. Edit. Manual Moderno. México, DF, 2002.

41.- Alvarez, T., Merino, J. Anso, S., Montero, A., Gil, M., Martínez, A., Sánchez, M. características clínicas y radiológicas de la tuberculosis pulmonar primaria en adolescente. An Esp Pediatr . 2000;(52):15-19.

42.- Bleed, D., Watt, C., Dye, C. Global tuberculosis. WHO report 2000. WHO/CDS/TB/2000.275. Ginebra. Organización Mundial de la Salud, 2000.

43.- Goletti, D., Weissman, D., Jackson, RW. Effect of *Mycobacterium tuberculosis* on HIV replication. Role of immune activation. Journal of immunology 1996;157(3):1271-1278.

44.- Machado, J., Martinez, J. Asociación tuberculosis y VIH en pacientes de Pereira, Colombia. Coloma Med. 2005;(36):239-243.

45.-Harrinson. Medicina Interna. Cuarta ed. Edit Interamericana. México, DF. 2002.

46.- López, P., Garcia, P., saldarrega, A., Montes de Oca, M., Moreno, I., González, M. Características de la tuberculosis en pacientes mayores de 65 años en el área sanitaria de Cádiz, España. Rev Med Chile. 2004;(132). 325-330.

47.-Wook, J. Tuberculosis. Boletín OPS/OMS/HCP/TB. 2003;1(6)1-8.

48.- Velez, H. Fundamentos de neumonología. Tercera ed. Edit. Manual Moderno. México, DF. 1998.

49.- Derbe, M., Hidar, S., El Moweddeb, S., Jemaca, A., Korbi, S. Tuberculosis axillary lymphadenitis: an unusual presentation. Rev Med Lrege. 2007;62(4):188-189.

50.- Universidad de LLeida. Tuberculosis pleuropulmonar. <http://wed.udl.es/usuarios/w4137451/wepresp/contenidos-docentes/temario/temas/tuberculosis/tuberculosis9-7htm>

51.- Haruna, A., Tomioka, H., Ohtake. Y., Fujiyama. R., Ohnishi, H., Sakurai. T. et al. clinical analysis of 10 cases of chest wall tuberculosis. Kekkaku. 2005;80(2):69-72.

52.-farga, V. Tuberculosis. Segunda ed. Edit. Manual Moderno. México, DF, 1992.

53.- Suarez, S., Gomez, J., Arkuch Saade, A., Noguez, M., de la Vega; M. peritonitis y tuberculosis urinaria como forma de presentación de tuberculosis generalizada tardía. Geritria y Gerontol. 2001;(36):238-240.

54.- Marshall J.B. Tuberculosis of gastrointestinal tract and peritoneum. Am J Gastroenterol. 1993;(88):989-999

55.- Parra, I., Esteres, M., Herrera, J. tuberculosis osteoarticular. Arch Broconeumonol. 2001;37(3):334-336.

56.- Pino. P., Volcy, M., Franco, A., Uribe., Guzman. A., Restrepo. B., Robledo, J. Tuberculosis Meníngea. IATREIA. 2004;17(2):158.

57.- Maroto, A., Ponce, M. Tuberculosis and digestive tract. Gastroenterol Hepatol. 2003;26(1):34-41.

58.- Contreras. A., Rodrigo. B., Vera, L. Pericarditis Constrictiva. Exp Med. 2006;24(1)32-35.

59.- Del Castillo, Y., Santos , B., castender, D., Juber, M., Espinoza, V. tuberculosis miliar in a patient treated with intravesical instillations of bacillus Calmatte Gueren. Med Intensiva. 2006;30(3):116-119.

60.- Solda. P., Rojo, S., Casiansi, M., Bornes. A., Frecuencia de tuberculosis pulmonary y extrapuilmonar en un Hospital de referencia de la provincial de Cordoba 1991-2003. Rev Argent Microbiol. 2005;(37):80-82.

61.- Kocak, N., Saatci, A., Gingil, C., Cimrin, A., Ucar, E. Miliary tuberculosis and bilateral multifocal choroidal involvement. Bull Soc Ophtalmol. 2006;(30):59-65.

62.- Zambrano. A., Salazar, C., Pontecilla. M., Miranda. M. Tuberculosis Miliar enpaciente inmunocompetente como causa rara de fiebre nosocomial. Rev Chil Enf Respir. 2204;(20)175-180.

63.- Frieden. T., Sterling. T., Munsiff. S., Walt. C. Tuberculosis. Lancet. 2003;(362):887-899.

64.- Inoue, T., Kurasawa, T., Sato, A., Nakatani, K., Ikeda, T. et al A case of middle ear tuberculosis; PCR of the otorrhea was useful for the diagnosis. Kekkaku. 1999;74(5):453-456.

65.- Romero, M. Primary nasal tuberculosis. Act Otorrinol Esp. 2004;(55)240-243.

66.- Ministerio de Salud República de Peru. Tuberculosis. 1995.

67.- La OMS exhorta a redoblar los esfuerzos para salvar anualmente de la muerte por tuberculosis aun cuarto de millón de personas que viven con SIDA.  
<http://www.WHO.int/mediacentre/news/releases/2006>.

68.- La OMS lanza una ofensiva para ampliar rapidamente las medidas de lucha contra la TBC y el VIH.  
<http://www.WHO.int/mediacentre/news/releases/2004/prs/es>

69.-Tuberculosis.  
<http://www.WHO.int/mediacentre/events/2006>.

70.- Von Rey, C., Hasburgh, C. Reinfection with *Mycobacterium tuberculosis*. Am J Resp Crit Care Med 2006;(1)173:133-134.

71.- Scaf, H., Krooks. S., Hollemans. D., Warren. R., donald. P., Hesseling. A. recurrent culture confirmed tuberculosis HIV infected children. Pediatric Infect Dis J. 2005.

72.- Lambert. M., Hasker. E., Van Deun. A., Riberfroid. D., Boelaert. M. recurrence in Tbc ; relapse or reinfection? Lancet Infect Dis 2003; (5):282-287.

73.-Saap, Patología Bucal, segunda ed. Edit. Interamericana. México, DF. 1999.

74.- Regezzi, Sciubba. Patología Bucal. Segunda ed. Edit. Panamericana. México, FD. 1999

75.- Bernard, H., Carroll, T., Wade, W., Travis, C. Miliary tuberculosis with oral manifestations: report of case. J Oral Surg 1973(31);305-307.

76.- Yusuf, H. Oral tuberculosis. British Dent J. 1975:(138):471-473.

77.- Turbiner, S., Giunta, J., Maloney, P. Orificial tuberculosis of the lip. Oral Surg. 1975;(33):441-447.

78.-Muroff, F., Tuberculous lesion of the cavity: report of case. J Canad Dent Assn. 1970;(10)380-381.

79.- Viva, E., Ferrari, P., Gazzotti, A., Serenna, E. La tubercolosi Della mucosa orale. Min Stom. 1980;(29)203-207.

80.- Rouch, D., Friedman, E. Systemic tuberculosis initially seen as an oral ulceration: report of case. J Oral Surg 1978;36(5):387-389.

81.- Lo Bello, S., Lo Bello, L., Lo Bello, M., Scoto, S. tubercolosi o9rale primari dopo avulsioni dentarie. Min Stom. 1984;(33):41-48.

82.- McAndrew, P., Adekeye, E., Ajdukiewicz, A. Miliary tuberculosis presenting with multifocal oral lesions. Br Med J. 1976;(29):1320-1325.

83.- Michaud, M. Chronic ulceration of the hard palate: first clinical sing of on diagnosed pulmonary tuberculosis. Oral Surg 1984;57(1):63-67.



84.- Sammartino, G., Battagliese, G., Mignogna, M., Amatto, M.  
Il complesso primary del cavo orale. Min Stom 1986:(85)1143-  
1146.

85.- Hashimoto, Y., Hiroaki, T. Primary tuberculosis of the  
tongue: report of a case. J Oral Maxillo Fac Surg  
1989;(47):744-747.

86.- Escoda, G., Buenechea, I. Oral tuberculosis: presentation  
of 3 cases. Rev Actual Odontoestomatol Esp.  
1991;51(400):40-44.

87.- Dimitrakopoulos, I., Zouloumins, L., Lazaridis, N.,  
Karakasis, D., Trigonidis, M., Sichletidis, L. et al. Primary  
tuberculosis of the oral cavity. Oral Surg Oral Med Oral  
pathol. 1991;(72)712-715.

88.- Antico, A. Oral tuberculosis: primary localisation in an  
elderly non immunodepressed patient. Tubercle and Lung  
Disease. 1995;(76):176-177.

89.- Michaud, M., Blanchette, G., Tomich, C. Chronic ulceration of the hard palate: first clinical sign of undiagnosed pulmonary tuberculosis. *Oral Surg.* 1984;(57):63-67.

90.- Ceballo, A., Aguirre, U., Bagan, S. Oral manifestations associated with human immunodeficiency virus infection in a Spanish population. *J Oral Pathol Med* 1996;(25)523-526.

91.- Eng, H., Lu, S., Yang, C., Chen, W. Oral tuberculosis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Radiol Endod.* 1996;2(3):242-243.

92.- Kolokotronis, A., Antoniadis, D., Trigonidis, G., Papanagiotou, P. Oral tuberculosis. *Oral Disease.* 1996;(2)242-243.

93.- Junquera, L., Vaquero, A., Castro, A., Gutierrez, Rodríguez, V. Primary tuberculosis of the oral cavity. *Rev Stomatol Maxillofac.* 1996;97(1):3-6.

94.- Ferreira, M., Arrais, M., Ferradans, M., Calvancati, V. Tuberculosis en la cavidad oral: a propósito de un caso. *Quintessence. (ed Esp)* 1998;(11);621-623.

95.- De Aguiar T., Arrais, M., Mato, M., De Araujo, V. Tuberculosis of the oral cavity: a case report. Quintessence Int. 1997;28(11):745-747.

96.- Avdonina, L., Gedymin, L., Erokhin, V. Intradental route of experimental tuberculosis infection. Probl Tuberk. 1991;(10);79-83.

97- Moran, E., Lazo Y. Tuberculosis. Rev Cubana Estomatol 2001;38(1):33-51.

98.- Cakan, A., Mutlu, Z., Oszos, A., Erbaycu, A., Unal., T. Koyuncu, B. Tuberculosis of oral mucosa. Monaldi Arch Chest Dis. 2001;56(4):315-317.

99.- Baldwin, A., Foster, M. Tuberculosis parotitis. Br J Oral Maxillo Surg. 2002:444-445.

100.- Umadevi, M., Adeyemi, O., Patel, M., Reichart, P., Robinson. P. Periodontal disease and other bacterial infections. Adv Dent Res. 2006;(36):139-145.

101.- Marker, P., Kroghdal, A. Plasma cell gingivitis apparently related to the use of khat: report of a case. Br Dent J. 2002;192(2):311-313.

102.- Ito, F., Andrade, C., Vargas, P., Jorge, J., Lopez, M. Primary tuberculosis of the oral cavity. Oral Dis. 2005;11(1):50-53.

103.- Heigis, G., Krimmel M., Hoffman, J., Kaiserling, E., Reinert, S. Oral manifestation of miliary tuberculosis. Mund Kiefer Gesichtschir. 2005;9(3):180-183.

104.- Yigit, O., Cinar, U., Coskum, B., Basak, T. Tuberculous ulcer of the tongue: a case report. Kulak Burun Bogaz Ithis Derg. 2004;13(3-4):98-101.

105.- Michalak, A., Wojtas, G., Kidawa, I., Tylzanowska-Nitek, K., Tuberculosis of the tongue in a patient with disseminated pulmonary tuberculosis. Pneumonol Alergol Pol. 2004;72(1-2):28-31.

106.- Rivera, H., Correa, M., Castillo, C., Nikitakis, N. primary oral tuberculosis: a report of a case diagnosed by polymerase chain reaction. Oral Disease. 2003;(9):46-48.

107.- Bangalore, V., Raju, A. Primary tuberculosis gingival enlargement a rare entity. J Can Dent Assoc. 2006;72(7):45-48.

108.- Anil, S., Ellepola, A., Samaranyake, L., Beena, V. Tuberculous ulcer of the tongue as presenting feature of pulmonary tuberculosis and HIV infection. Gen Dent. 2000;48(4):458-461.

109.- Llyas, S., Chen, F., Hodgson, T., Speight, P., Lacey, C., Porter, S. Labial tuberculosis: a unique cause of lip swelling complicating HIV infection. 2002;(3):283-287.

110.- Ramirez, A., Anaya, G., Gonzalez., Mosqueda, J., Esquivel, L., Guitierrez, E. Y col. Ulcera lingual como único signo de infección recurrente por micobacterias en un paciente con VIH/SIDA. Med Patol Oral. 2005;(10):109-114.

111.- Feller, L., Anagnostopoulos, C., Bouckaert, M., Raubenheimer, E. HIV/TB co-infection : literature review and report of multiple tuberculosis oral ulcers. SADJ. 2005;60(8):330-343.

112.- Eguchi, J., Ishara, K., watanabe, A., fukumoto, Y., Okuda, K. PCR method is essential for detecting Mycobacterium tuberculosis in oral cavity samples. Oral Microbiol Inmunol 2003;(18):156-159.

113.- Navarrete, S.; Muria, J.; Rivera, B.; Rangel, M. ¿Cómo estudiar brotes de Infección nosocomial? Enf Infec Y Micro 2003;23(1):17-22

114.- Carvaho, E.; Marques, S.; Infeccao Hospitalar em Pediatria, ( pediatric nosocomial infections ) J Pediatri 1999;(75):54-58.

115.- Troconis, J.; Control Del Ambiente de los Consultorios Odontológicos: uso de bata, tapaboca y calzado. Trabajo de ascenso, Universidad central de Venezuela, Facultad de Odontología. 2000.

116.- Ponce de León, S., Barido. E., Rangel. S., Soto. V., Wely. S. Manual de prevención y control de infecciones hospitalarias. OPS/OMS. 1996. <http://www.who.es>

117.- Bayley. T., Leinstter. S. Enfermedades sistémicas en odontología. México. DF. 1985;(103):92-98

118.- Liébana, J.; Microbiología oral. España:McGraw – Hill; 2002.

119.- Negroni, M.; Microbiología estomatológica, guía y fundamentos. Argentina: Panamericana; 2003.

120.- Barrios, G., Periodoncia. Segunda ed. Edit. Gulka. Colombia, 1989.

121.- Word, W., Compendio de anatomía patológica. Novena ed. Argentina, 1979.

122.- Mandel. G., Douglas, R., Bennett. J. Principles and practice on infectious diseases. Tercera edición. Edimburgo, Livingstone. 1990.

123.-Gonzáles. S. Anatomía patológica del aparato respiratorio. Universidad de Chile. Capitulo 2. [http://escuela.med.puc.d/pagmas/publicaciones/anaatomiapatalogica/02respiratorio/2tuberc\\_pulm.html](http://escuela.med.puc.d/pagmas/publicaciones/anaatomiapatalogica/02respiratorio/2tuberc_pulm.html)

124.- American Thoracic Society: Diagnostic Standard and clasification of tuberculosis. Am Rev Respir Dis 1990;(142):725.

125.- Armengol, R., Guilarte, A. Norma Oficial Venezolana del Programa Nacional Integrado de Control de la Tuberculosis. Ministerio de sanidad y Desarrollo social. 1998.

126.- Hernández, C., Gómez, M. Técnicas bacteriológicas para el diagnóstico e identificación de *Mycobacterium tuberculosis*. Act Cient Venezolana. 2001;(52):23-25.

127.- Correa, M., Pedrozo, R., Adjounian, H. Métodos de diagnóstico no convencionales para la tuberculosis. Acta Cient Venezolana. 2001;(52)30-32.

128.- Aris, E., Bakari, M., Chonde, T., Kitinya, J., Swai, A. Diagnosis of tuberculosis in sputum negative patients in Dar es Salaam. East Afr Med J. 1999;76(11):630-634.

129.- Palmieri, F., Girardi, E., Pellicelli, A., rianda, A., Bordi, E., Rizzi, E. et al. Pulmonary tuberculosis in HIV-infected patients presenting with normal chest radiograph and negative sputum smear. Infection. 2002;30(2):68-74.



130.- Millar BC, Xu J, Moore JE. Molecular diagnostics of medically important bacterial infections. *Curr Issues Mol Biol.* 2007;9(1):21-39.

131.- Cheng VC, Yew WW, Yuen KY. Molecular diagnostics in tuberculosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2005;24(11):711-720.

132.-Katoch VM. Newer diagnostic techniques for tuberculosis. *Indian J Med Res.* 2004;120(4):418-28.

133.- Lodha R, Kabra SK. Newer diagnostic modalities for tuberculosis. *Indian J Pediatr.* 2004;71(3):221-7.

134.- Hodgson TA, Greenspan D, Greenspan JS. Oral lesions of HIV disease and HAART in industrialized countries. *Adv Dent Res.* 2006;19(1):57-62.

135.- Luo CW, Roan CH, Liu CJ. Human papillomaviruses in oral squamous cell carcinoma and pre-cancerous lesions detected by PCR-based gene-chip array. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2007;36(2):153-8

136.- Tanner AC, Paster BJ, Lu SC, Kanasi E, Kent R Jr, Van Dyke T, Sonis ST. Subgingival and tongue microbiota during early periodontitis. *J Dent Res.* 2006;85(4):318-23.

137.- Thiha K, Takeuchi Y, Umeda M, Huang Y, Ohnishi M, Ishikawa I. Identification of periodontopathic bacteria in gingival tissue of Japanese periodontitis patients. *Oral Microbiol Immunol.* 2007;22(3):201-7.

138.- Vianna ME, Conrads G, Gomes BP, Horz HP. Identification and quantification of archaea involved in primary endodontic infections. *J Clin Microbiol.* 2006;44(4):1274-82.

139.- Webster-Cyriaque J, Duus K, Cooper C, Duncan M. Oral EBV and KSHV infection in HIV. *Adv Dent Res.* 2006;19(1):91-5.

140.- Miller CS, Berger JR, Mootoor Y, Avdiushko SA, Zhu H, Kryscio RJ. High prevalence of multiple human herpesviruses in saliva from human immunodeficiency virus-infected persons in the era of highly active antiretroviral therapy. *J Clin Microbiol.* 2006;44(7):2409-15.

141.- Djuric M, Pavlica D, Jankovic L, Milasin J, Jovanovic T. Presence of herpes simplex virus on the oral mucosa in patients undergoing chemotherapy. *Scott Med J*. 2007;52(1):28-31.

142.- Smith EM, Swarnavel S, Ritchie JM, Wang D, Haugen TH, Turek LP. Prevalence of Human Papillomavirus in the Oral Cavity/Oropharynx in a Large Population of Children and Adolescents. *Pediatr Infect Dis J*. 2007;26(9):836-840.

143.- Castro TP, Bussoloti Filho I. Prevalence of human papillomavirus (HPV) in oral cavity and oropharynx. *Rev Bras Otorrinolaringol* 2006;72(2):272-82.

144.- Kansky AA, Seme K, Maver PJ, Luzar B, Gale N, Poljak M. Human papillomaviruses (HPV) in tissue specimens of oral squamous cell papillomas and normal oral mucosa. *Anticancer Res*. 2006;26(4B):3197-201.

145.- Foschi F, Izard J, Sasaki H, Sambri V, Prati C, Muller R, Stashenko P. *Treponema denticola* in disseminating endodontic infections. *J Dent Res*. 2006;85(8):761-5.

146.- Sharma CG, Pradeep AR, Karthikeyan BV. Primary tuberculosis clinically presenting as gingival enlargement: a case report. J Contemp Dent Pract. 2006 1;7(5):108-14.

147.-An, S., fan, Y. Polymerase chain reaction technique in monitorin treatment of bacillary pulmonary tuberculosis. Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi. 1998;21(3):392-394.

148.-Colston. M. The molecular basis of *Mycobacterium tuberculosis* infection. Mol aspects of Med 1996;17(4)385-454.

149.-Erich. H. PCR technology, principles and aplications for DNA amplification, Printed in the United status of America , 1989.

150.-Innis. M., Gelfand. D., Shinsky. J., White. J. PCR protocols a guide to the methods applications. Printed in the the United Satates of América. 1990.

151.-Belisle. J., Sonnenberg. M. isolation and genomic DNA from Mycobacteria. In: *Mycobacterium tuberculosis* protocols. Parish T Y Stoker N G (Ed). Methods in Molecular Biology. Human Press, Totowa, New Jersey, pp:31-44

152.-Kolk. A., Kuijper. V. PCR assay for Mycobacterium tuberculosis complex and other mycobacteria. Department of Biomedical Research, Royal Tropical Institute, Amsterdam, The Neatherlands. 2000

153.-Wright. D., Manos. M. In PCR Protocols: A guide to methods and applications . academic Press In, P:153-158.

154.-Caminaro, J. Mecanismos de transmisión condicionante de la infección. Guía de la tuberculosis para médicos especialistas. Edit. UICTER. Paris. 2003.

155.- Godoy, M. Factores de riesgo asociados a pacientes tuberculosos con microscopia de esputo positivo. Gac. Sanit. 2000;(15):506-512.

156.- Santos, A. Perfil epidemiológico de la tuberculosis en el área de Toledo entre 1997-2001. Gac Sanit. 2003;(17):183-185.

157.- Rigo, V. Patrón de la tuberculosis pulmonar según sexo en el área de Alicante. 1997-2001. Gac Sanit. 2003;(18):192-194.

158.- Chover, J. Casos secundarios de tuberculosis pulmonar: un problema no resuelto. Gac Sanit. 2001;(15):104-108.

159.- Ardobas, M., Mortalidad asociada a tuberculosis en la comunidad de Madrid entre 1991 y 1998. Gac Sanit. 2001;(15):120 -122.

160.- Bravo, M., Elevada prevalencia de infección por el VIH y de practicas de riesgo para su transmisión entre las inyectores de drogas de Palma de Mallorca.

161.- Bustamante, R. SOC séptico por *Mycobacterium tuberculosis* . Med Intensiva. 2006;(30):236-237.

162.- Mora, H., Sempere, V., Peribañez, S., Pérez, J. Desarrollo de tuberculosis después de una dieta de adelgazamiento. Aten Primaria 2002;(30):527-528.

163.- Teijo, C., Fístula esófago mediastínica por *Mycobacterium tuberculosis* en un paciente con infección por VIH+. Enferm Infecc Microbiol Clin 2005;(25):66-67.

164.- Soler, A. Ulcera tuberculosa en paladar duro en una paciente con infección por el VIH. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2004;(22):91-93.

165.- Gonzalez, E. Tomografía computarizada de alta resolución en tuberculosis pulmonar con baciloscopia de esputo negativo. *Rev clin Española*. 2006;203(11):532-535.

166.- Pérez, T., Diaz, A., Tobeña, L., Cuchi, E., Cabeza, A., Forcada, P. Otomastoiditis tuberculosa en un paciente de origen Magebrí. *An Pediatr (Barc)* 2006;(64):104-106.

167.- Salgado, F., Fuñez, R., Pérez, P., Garcia, E. Fascitis necrosante como primera manifestación de tuberculosis en un paciente inmunodeprimido. *Reumatol Clini*. 2006;(2)212-216.

168.- Azuaje, C., Fernandez, N., Almirante, B., Diaz, M., Prats, G., Pahissa, A. Meningitis tuberculosa: estudio comparativo en relación con la coexistencia de infección por el virus de inmunodeficiencia humana. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2006;(24):245-250.

169.- Alcalde, F. Nuevos métodos de identificación de micobacterias. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2006;(24):53-57.

170.- Auxina, V. ¿Qué puede ofrecer actualmente el laboratorio de micobacterias en la formación profesional del microbiólogo clínico? *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2003;(21) 44-48.

171.- Prisco, P., Bocanegra, V. estrategias innovadoras para el diagnóstico y seguimiento de los pacientes tuberculosos. *Arch Bronconeumol* 2007;(43)225-232.

172.- Méndez, S., Pérez, E. La PCR múltiple en microbiología Clínica. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2004;(22):183-192.

173.-Costa, J. Reacción en Cadena de la Polimerasa a tiempo real. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2004;(22):299-305.

174.- Marsh y Martin,

175.- Pérez, S. Historia Natural y clasificación de la infección por el VIH. *Plan Integral Andaluz.* 2004.

176.- Clearinghouse. EC. Virus classification and diagnosis for oral lesion in HIV infection. *J Oral Pathol Med.* 1993;(22):289-291.









