

Trabajos Originales:

DETECCION DE MICOBACTERIAS DEL COMPLEJO TUBERCULOSIS EN TEJIDO PERIODONTAL, APLICANDO BIOLOGIA MOLECULAR

Recibido para arbitraje: 04/05/2010

Aceptado para publicación: 29/07/2010

- **Elsi Briceño.** Profa. Asistente de La Cátedra de Microbiología, Facultad de Odontología, Universidad Central de Venezuela.
- **Marianella Perrone.** Profa. Titular de La Cátedra de Microbiología, Facultad de Odontología, Universidad Central de Venezuela.
- **Maria Fernanda Correa de Adjounian.** Instituto de Medicina Experimental. Sección de Biología Molecular de agentes infecciosos. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela

Proyecto financiado por el Concejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH), bajo el Nº PG-10-00-5937-2005.

Proyecto FONACIT, Nº 98-00-3363 de Agenda Salud.

Resumen:

El objetivo de esta investigación fue la detección molecular de micobacterias del complejo tuberculosis en el tejido periodontal afectado de un grupo de pacientes VIH+ y VIH- con tuberculosis pulmonar. Se incluyeron 20 pacientes, 10 VIH+ y 10 VIH- con diagnóstico microbiológico convencional de tuberculosis, provenientes de la consulta de Tisiología, y de Sala de VIH, del Hospital Simón Bolívar, Caracas. De cada uno de los pacientes fue obtenido el consentimiento informado previo al inicio de la investigación, se le realizó una minuciosa historia clínica y un examen clínico bucal, con el fin de establecer la condición periodontal de cada uno de los sujetos participantes en este estudio. Se tomaron muestras de tejido periodontal afectado de cada uno de los pacientes con indicación de cirugía periodontal. Resultados: 50% (10/20) de los pacientes con TBC VIH- presentaron gingivitis crónica localizada y el 30% (3/20) de los pacientes con TBC VIH+ presentaron gingivitis crónica generalizada. El grupo restante mostró gingivitis localizada y cuadros sugerentes de periodontitis. Por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en 60% (12/20) de las muestras de tejido periodontal se detectó la secuencia IS6110, que está presente en micobacterias del complejo tuberculosis. La amplificación de blancos moleculares es una metodología sensible para la detección de este grupo de microorganismos en enfermedad periodontal y pudiera ser utilizada en el diagnóstico diferencial de lesión de la cavidad bucal.

Palabras clave: *Mycobacterium tuberculosis*, cavidad bucal, reacción en cadena de la polimerasa, IS6110.

Introducción

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa causada por micobacterias pertenecientes al Complejo de micobacterias tuberculosas, donde se incluyen *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanun*, *M. microti*.¹ Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), en un informe publicado en el día mundial de la lucha contra la tuberculosis en marzo de 2009, una de cada cuatro muertes por tuberculosis está relacionada con el VIH. En 2007 hubo 1,37 millones de casos nuevos y se produjeron 456.000 muertes por esta enfermedad en personas infectadas por el VIH. Sin embargo, aunque el número de casos totales de tuberculosis está en aumento debido al crecimiento de la población, la tasa de incidencia está disminuyendo en cinco de las seis regiones de la OMS pero a un ritmo menor del 1% al año, con la

excepción de Europa que mantuvo una incidencia estable.^{2,3}

En Venezuela para el año 2007 se reportaron 9.300 casos nuevos de tuberculosis en todas las formas de presentación de la enfermedad, de ellos 1200 eran personas VIH+. La prevalencia de todas las formas de presentación de tuberculosis reportada fue de 39/100.000 habitantes y una mortalidad 5.1/100.000 habitantes.⁴ La tuberculosis constituye la principal causa de muerte producida por un único agente infeccioso.

De las formas de presentación extrapulmonar una de las menos estudiadas es la tuberculosis de la cavidad bucal. Al realizar una revisión minuciosa de la literatura publicada, se afirma en general que las lesiones producidas por tuberculosis en cavidad bucal son raras y que tan solo se presentan entre un 3 a 5% de todos los casos. Se sugiere como explicación para la baja incidencia de lesiones en la cavidad bucal la presencia de la saliva, una barrera primaria que produce un arrastre continuo que impide la invasión de la mucosa por el bacilo, donde allí los mismos son fagocitados por los leucocitos.^{5,6,7,8}

Las manifestaciones bucales se pueden presentar como producto de una infección primaria o de una infección secundaria. En el caso de la infección primaria^{9,10} se ha considerado que el desarrollo de la lesión requiere de una puerta de entrada para el microorganismo producto de una higiene bucal deficiente, daño de la mucosa, extracción dental y leucoplasia, y en cambio en la infección secundaria se encuentra coexistiendo con enfermedad pulmonar producto de una auto inoculación, diseminación hematogena o a través del contacto de la mucosa con el esputo,^{7,8}

Las úlceras se originan como una manifestación de la infección pulmonar primaria^{10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31} o de una infección pulmonar solitaria^{1,2,5,8,10,11,12,18,20,21,22,23,24,26,27,28,30,31,34,39,40} múltiple^{6,13,15,17,25,29,32,35,38} o satélite,^{35,39} ubicada principalmente en la lengua en la cara ventral o bordes laterales^{11,15,16,21,22,26,28,30,32,38,40,41} no obstante se puede desarrollar en el piso de boca,^{5,19,23,38} encía,^{16,18,27,30,31} paladar duro y blando.^{6,14,19,29,35,36,37,41} Las lesiones del paladar se pueden extender lateralmente para dejar expuesta zonas radiculares³³ o pueden afectar la úvula,^{29,36,38,41} úvula con extensión a la orofaringe,^{27,42} labios superior e inferior cara interna o externa^{8,10,13,20,32} comisura labial,^{10,11} fondo de vestíbulo,^{12,24,34,41} carrillo,^{6,13,24,37} carrillo sobre lesión liquenoide,³⁰ mucosa bucal,^{19,39} reborde edéntulo,^{19,41} reborde edéntulo posterior a una extracción sin cicatrizar,⁴¹ zona de la tuberosidad posterior a extracción dental sin cicatrizar,⁴¹ y zona retromolar,¹⁹

Las úlceras por tuberculosis también se han descrito como una lesión de aspecto crateriforme de bordes irregulares, e indurados,^{5,6,7,8,10,11,12,13,17,18,19,20,23,25,26,27,29,31,32,33,34,37} pueden ser dolorosas^{12,15,17,20,27} o no, y en algunos casos se puede producir pseudomembrana^{15,23} e inclusive puede presentar exudado hemorrágico,¹⁵ algunos pacientes han señalado dificultad para masticar los alimentos,^{13,27} algunas lesiones pueden ir acompañadas de linfadenopatía regional unilateral o bilateral, submandibular y cervical^{8,11,12,16,17,18,19,20,24,34} odinofagia,^{16,21,35} disfagia,^{10,21,28} y disfonía,¹⁰ sensación de ardor o quemadura,^{11,33} la evolución de la lesión puede ser de días a meses,^{8,11,12,17,23}

Su apariencia en algunos casos es indistinguible de carcinomas, por lo cual, la tuberculosis bucal requiere de un diagnóstico diferencial extenso. También se describen otras lesiones que por sus características clínicas y ubicación pueden presentar similitud como, úlcera por sífilis, úlcera traumática, lepra, infección por micobacterias atípicas, linfogranuloma venéreo, granulomatosis de Wegener, sarcoidosis, paracoccidiodomicosis, histoplasmosis, tularemia, tonsilitis de Plaut-Vincent, lesiones producidas por desórdenes hematológicos, actinomicosis, así como linfoma y metástasis, lesiones producidas por tratamientos de quimioterapia.^{10,12,13,18,19}

Los diagnósticos presuntivos de lesiones en cavidad bucal como manifestación de tuberculosis confrontan un reto, muy pocos son los artículos que asocian la lesión y la enfermedad, e inclusive se describen casos de lesiones producto de la tuberculosis tratadas inicialmente como infecciones estreptocócicas y micóticas,¹⁵ no obstante la úlcera es de todas las posibles alteraciones la más frecuentemente

identificada clínicamente,^{26,27} Las características histopatológicas representadas por un proceso de necrosis caseosa rodeado de una masa de células epitelioideas gigantes mononucleares, células gigantes multinucleares de Langhans, con linfocitos en la periferia, y un área central que abarca los bacilos, son fundamentales en el diagnóstico^{5,6,7,8,9,10,11,12,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34,35,36}

Sumado a la lesión ulcerosa se han reportado casos de tuberculosis de cavidad bucal donde hay inclusive destrucción del hueso tipo osteomielitis,^{16,18,39} las lesiones pueden presentar una mayor extensión y pueden afectar a la orofaringe.¹⁷ El tuberculoma en cavidad bucal puede producir un engrosamiento ulceroproliferativo de la mucosa del carrillo sin induraciones alrededor.⁴⁰ Otras entidades originadas de tuberculosis en cavidad bucal consisten en lesiones exofísticas o engrosamientos de la mucosa de labio y encía.⁴¹ Las lesiones granulomatosas y vegetativas también son comunes, estas se han observado solitarias o múltiples sobre la mucosa bucal, paladar, encía, piso de boca.^{10,16,42,43} Se han reportado procesos de inflamación y agrandamiento moderado afectando la úvula, paladar blando, vías aéreas superiores, tejido tonsilar, carrillo, lengua, y encía con presencia de placas amarillas o eritema en la zona afectada.^{33,44,45,47} Así mismo, se ha sugerido la coinfección de lesiones blancas en carrillos,^{33,48} y la formación de lesiones nodulares en encía,³⁰ finalmente la glándula parótida también puede ser asiento de alteraciones donde la inflamación y obstrucción de la misma han sido las características mayormente descritas.^{18,49}

En la tabla Nº 1 se resumen las lesiones por tuberculosis en cavidad bucal descritas en la literatura revisada, los métodos convencionales o moleculares usados en el diagnóstico e identificación del agente causal.

Tabla Nº1
Tipo de lesiones en cavidad bucal descritas en la literatura, total de lesiones y porcentaje (del total de reportes revisados), identificación clínica e histopatológica y muestras estudiadas por PCR.

Tipo de lesiones reportadas	Total del Nº de lesiones Reportadas	% del total las lesiones reportadas revisadas	Identificación Clínica de la lesión y asociación con tuberculosis.	Identificación histopatológica	Reacción en cadena de la Polimerasa (RCP) Tipo de muestra	% de positivos a la prueba de PCR.
Úlcera	69	71.13%	3	100% positivas	Saliva	98%
Lesión exofística	1	1.03%			Caries dental	89%
Agrandamiento Gingival	5	5.15%			Placa dental	92%
Lesiones granulomatosas	4	4.12%			Placa dental de Prótesis	100%
Osteomielitis	12	12.37%			Úlcera	1
Estomatitis	1	1.03%	1		Agrandamiento gingival	1
Tuberculoma	1	1.03%				
Glándulas salivales	3	3.09%				
Lesiones Blanquecinas	1	1.03%				

Con la finalidad de establecer si las micobacterias del complejo tuberculosis (MCT) podrían estar

coexistiendo con otros microorganismos en enfermedad periodontal convencional tipo gingivitis y periodontitis, en presencia y en ausencia de lesiones ulcerosas reportadas como lesiones típicas de tuberculosis en cavidad bucal, se realizó en este trabajo la inclusión de la detección de genoma de MTC mediante PCR en muestras de tejido de la cavidad bucal.

MATERIALES Y MÉTODOS

En esta investigación se evaluaron 20 pacientes con tuberculosis pulmonar diagnosticados en el servicio de Tisiología y sala de pacientes VIH+ del Hospital Simón Bolívar (El Algodonal), en la búsqueda de lesiones de cavidad bucal. Cada paciente que acepto participar en el estudio firmó un consentimiento informado. A partir de ADN aislado de tejido periodontal de estos pacientes se amplificó mediante reacción en cadena de la polimerasa un segmento de la secuencia de inserción IS6110. Para la extracción del ADN se digirió el tejido con buffer de lisis: 10mM de Tris/HCl, EDTA, 1% de Tween-20 y 60µg de proteinasa K, durante toda la noche a 65°C. Seguidamente se realizó una segunda digestión con lisozima, a 37°C durante 1 hora. A continuación se realizó la extracción del ADN con el método clásico Fenol/cloroformo/alcohol isoamílico. Se centrifugó, durante 10 minutos, se reextrajo por segunda vez y se ajustó la concentración se agregó 0.3M de NaCl e isopropanol para precipitar los ácidos nucleicos. Se almacenó a 20°C y finalmente la suspensión obtenida se centrifugó. El sedimento se lavó con etanol al 70% se dejó secar y se resuspendió con amortiguador TE. Se amplificó el blanco por reacción en cadena usando el protocolo previamente descrito por Kolk y col, 2000.51 el cual se basa en la amplificación de un fragmento de 245pb del elemento de inserción IS6110, presente en micobacterias del complejo tuberculosis. Para la reacción de amplificación se utilizaron los cebadores Pt8 (5`GTGCGGATGGTCGAGAGAT-3`) y Pt9 (5`-CTCGATGCCCTCACGGTTCA-3`) que hibridan entre las bases 105-124 y 626 a 645, respectivamente del elemento de inserción IS6110.

La reacción de PCR se realizó utilizando como enzima la taq polimerasa platinun® de alta eficiencia, en presencia de concentraciones finales de: 1µ mM Tris-HCl (pH 8.3), 50mM de NaCl, 3 mM de MgCl₂, 0,01% de gelatina, 0,2 mM de dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) una unidad de taq polimerasa y 0,4µM de cada cebador.

El ciclo de amplificación fue de 40 ciclos usando el siguiente esquema: un paso de desnaturalización a 92°C por 10 min, 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 el ciclo se realizó un paso de extensión a 72°C por 10 minutos, finalmente se procedió a realizar la electroforesis en gel de agarosa, visualizándose el producto de 245 pb, al teñir los geles con bromuro de etidio. En cada ciclo de amplificación se emplearon controles negativos.

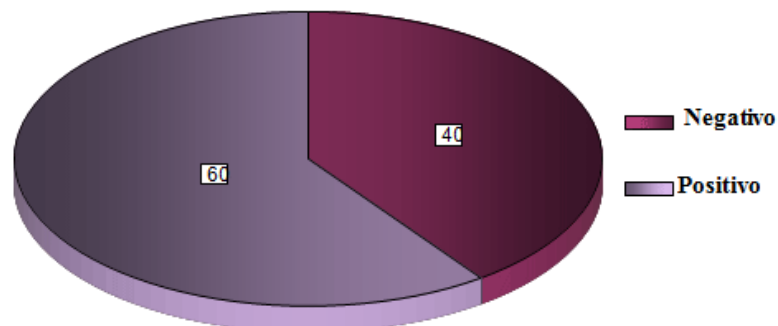
RESULTADOS

1. Detección de micobacterias del complejo tuberculosis de muestras de tejido periodontal, a través de la técnica de PCR en pacientes con TBC VIH+ y VIH-

En el 60% (12/20) de los pacientes se detectó PCR positivo a partir del DNA aislado de tejido y 40% (8/20) negativo.

Grafico Nº 1

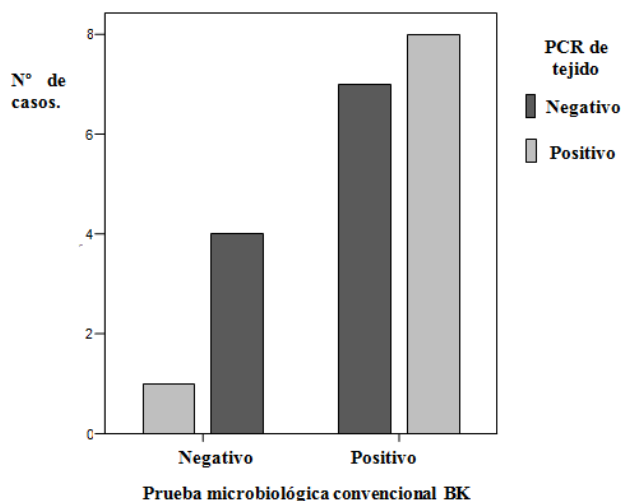
Detección de micobacterias del complejo tuberculosis de muestras de tejido periodontal.



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

En el gráfico N°2 se representan los resultados obtenidos al correlacionar los resultados de PCR con el diagnóstico convencional de baciloscopia, el 40% (8/20) de los pacientes presentaron PCR de tejido y BK de esputo positivo, y 35% (7/20) pacientes presentaron PCR de tejido negativo y BK de esputo positivo.

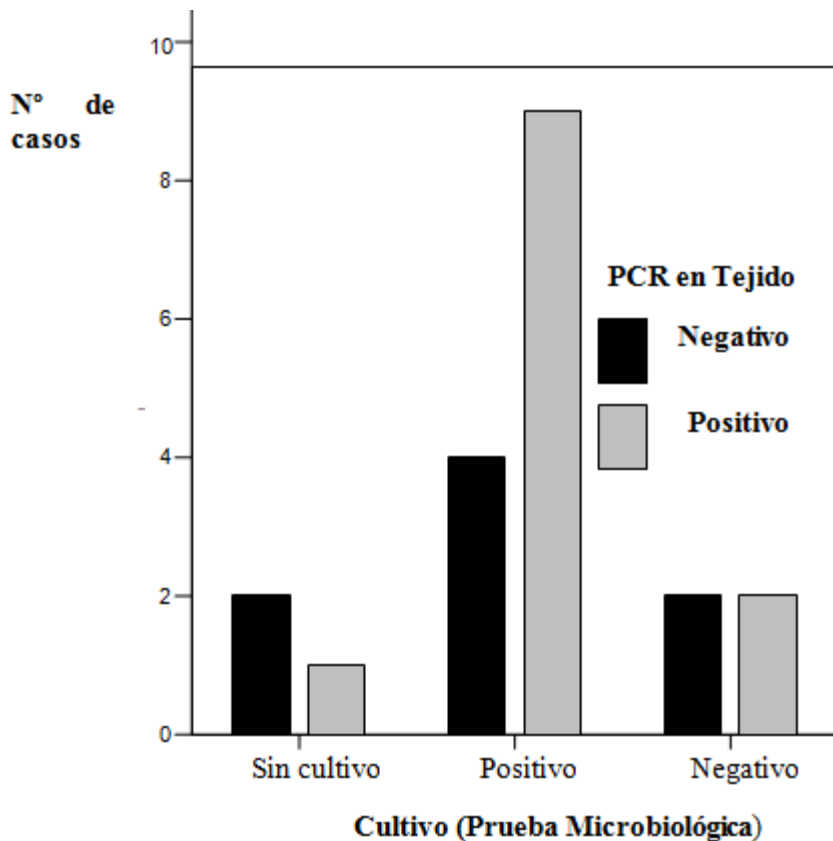
Gráfico N° 2 Relación general entre pruebas convencionales cultivo y PCR de tejido identificación clínica e histopatológica y muestras estudiadas por PCR.



3. Relación general entre pruebas convencionales. Cultivo y PCR de tejido.

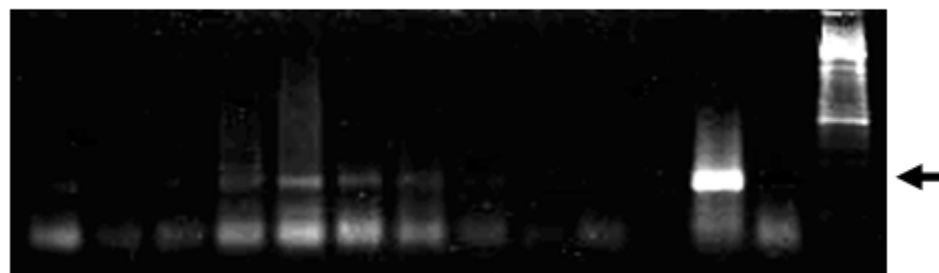
En el gráfico N°3 se representan los resultados obtenidos al correlacionar el PCR de tejido periodontal con el diagnóstico convencional de cultivo. En el 45% de los pacientes (9/20) se detectó PCR de tejido y cultivo para micobacterias positivos, y en 20% (4/20) se detectó PCR de tejido negativo y cultivo positivo para micobacterias.

Gráfico N. 3
Relación general entre pruebas convencionales cultivo y PCR de tejido



Registro fotográfico de la electroforesis realizada en geles de agarosa al 1.5% que muestra algunos de los productos de PCR obtenidos a partir de la extracción de DNA de tejido periodontal para secuencia IS6110 del complejo de *M. tuberculosis*.

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



Los canales del 1 al 10 muestran los productos de PCR obtenidos a partir de ADN extraído de tejido periodontal de diferentes pacientes; v carril vacío; C1 control positivo (10-12 de ADN de *M. tuberculosis* cepa H37R), C2 control negativo (agua libre de nucleasas, el cual muestra que no hubo contaminación

durante el proceso) y PM marcador de peso molecular escalera de 100 pb de Invitrogen. La flecha indica la posición del producto esperado de 245 pb.

DISCUSIÓN

Al realizar la evaluación de las lesiones ulcerosas en cavidad bucal pocos investigadores realizaron un diagnóstico provisional de lesión por tuberculosis,^{10,23,16,25} en resumen se pudo identificar mediante la lectura de 60 trabajos que existen problemas en el diagnóstico inicial de la lesión bucal y su asociación con esta enfermedad, lo cual pone en riesgo de infección al odontólogo si este no sospecha de la enfermedad como causa de la lesión ulcerativa en la cavidad bucal.

De las manifestaciones de la cavidad bucal, la úlcera es la lesión más común y ésta es poco identificada de manera presuntiva y en la mayoría de los casos es la histopatología la que permite observar las características propias de este tipo de entidad. Algunos autores señalan que existen otras patologías originadas de la tuberculosis que pueden orientar hacia otros diagnósticos provisionales por presentarse de manera diferente a la úlcera y en otras zonas de la cavidad bucal,^{27,36,46}

La cavidad bucal presenta una resistencia innata a la colonización de diversos microorganismos donde se incluye a las micobacterias del complejo tuberculosis, la saliva ejerce un proceso de arrastre y limpieza importante, la presencia de microorganismos que compiten por el sustrato y receptores, y el espesor del epitelio son factores que protegen y que hacen menos vulnerable al tejido bucal a la invasión que produce daño,^{11,52} no obstante esos mecanismos pueden ser vencidos y las micobacterias patógenas pueden estar presentes en cavidad bucal sin causar las lesiones típicamente descritas de tuberculosis donde se incluyen la úlcera en lengua, encía, mucosa, carrillo o paladar, lesión vegetativa o periodontal entre otras, sumado a procesos de coinfección o coexistiendo en otro tipo de lesiones.

El BK (baciloscopia) es el método más ampliamente utilizado en el diagnóstico de tuberculosis pulmonar no obstante es una herramienta exigente ya que se requiere de alta concentración de bacilos (105/ml) para ser detectados y generar reportes positivos, por estar la cavidad bucal en continua auto-limpieza por medio de la saliva, el BK no se considera una herramienta diagnóstica apropiada para identificar bacilos presentes en boca.^{1,53}

El cultivo como prueba microbiológica permite identificar el crecimiento de micobacterias viables, pero resulta lento y los reportes se logran después de varias semanas, sin embargo es "estándar oro" de diagnóstico y debería aplicarse de rutina al igual que el BK.^{1,53} No obstante en la literatura consultada algunos autores,^{14,16, 45,18} encontraron pacientes con BK de esputo y cultivo negativo, e histopatología de la lesión bucal positiva para infección por tuberculosis, A diferencia de otros estudios^{15,36,46} que obtuvieron solo un ensayo microbiológico positivo e histopatología de la lesión positiva para infección por tuberculosis. Esto contrasta con lo expuesto por otros investigadores^{47,30,17} que obtuvieron resultados positivos en las pruebas microbiológicas convencionales y la histopatología.

Algunos autores^{36,19} confirmaron a través de la histopatología lesiones derivadas de tuberculosis en tejido linfoide y sobre base liquenoide respectivamente. Esto disiente con resultados más recientes generados por diferentes autores,⁵⁰ que emplearon técnicas de biología molecular en su estudio, y pudieron amplificar blancos moleculares, entre ellos el blanco multirepetido en el genoma de micobacterias del complejo tuberculoso, la secuencia IS6110, en saliva, placa dental, lesiones de caries, entre otros, aún en ausencia de las características histopatológicas antes señaladas, lo que sugiere que si se afinan desde el punto de vista de sensibilidad analítica los métodos de detección del bacilo, es posible que muchas lesiones de cavidad bucal observadas en los pacientes que asisten a la consulta odontológica puedan identificarse como producto de una infección secundaria (la forma más común de tuberculosis bucal) o primaria de tuberculosis. Existen reportes^{30,36,45,27,46} de estudios que pudieron amplificar la secuencia IS6110, de lesiones que involucraban la encía y paladar con diferentes alteraciones como agrandamiento, y lesiones vegetativas.

En esta investigación se pudo amplificar la secuencia IS6110, perteneciente al complejo de micobacterias tuberculosas, en muestras de tejido con enfermedad periodontal convencional como gingivitis y periodontitis, lo cual sugiere, que estos microorganismos poseen la capacidad de vencer los mecanismos de homeostasis de la placa dental y colonizar los tejidos bucales.

Del total de los pacientes analizados el 50% (10/20) de los pacientes con TBC VIH- presentaron gingivitis crónica localizada y el 30% (3/20) de los pacientes con TBC VIH+ presentaron gingivitis crónica generalizada

El 60% (12/20) de las muestras de tejido periodontal resultaron positivas para la secuencia genética IS6110, se revisaron los resultados de BK de esputo y cultivo de los pacientes y se obtuvo 40% (8/20) con BK de esputo y PCR de tejido periodontal positivo y 10% (2/20) de pacientes que presentaron cultivo y PCR de tejido periodontal positivo.

Ishihara 2003,⁵⁰ hace referencia a diversos autores que señalan la presencia de Mycobacterium tuberculosis en impresiones de alginato, así mismo en aerosoles generados durante la consulta dental y que tuvieron como fuente infecciosa la saliva y placa dental, estos reportes exponen la necesidad de realizar una historia clínica minuciosa y adecuada a cada paciente con el fin de evitar el desarrollo de infecciones nosocomiales a través de la inhalación de partículas infecciosas ya que es posible la colonización y presencia del microorganismo sin causar lesión en boca, que solo tardíamente se traducen en lesiones de cavidad bucal.

La elaboración de una exhaustiva historia clínica también permite establecer la presencia de pacientes bacilíferos o pacientes con reciente exposición a contactos cercanos enfermos, así como en aquellos pacientes con susceptibilidad a desarrollar tuberculosis por recibir tratamiento con esteroides o inmunosupresión, entre otros.²⁷

Con el uso de herramientas moleculares se abre el campo de investigación sobre el diagnóstico y detección de microorganismos que a través de técnicas microbiológicas convencionales no se pueden aislar fácilmente y diagnosticar.

La técnica de PCR muestra propiedades aditivas para el diagnóstico de tuberculosis, como son la alta especificidad, sensibilidad y rapidez que hacen de ella una herramienta útil y confiable en la identificación de microorganismos de difícil diagnóstico por medios convencionales, el uso de la misma en cavidad bucal se encuentra en aumento y el número de reportes que incluyen patologías diferentes a la úlcera por tuberculosis pone de manifiesto la amplitud en el tipo de lesiones que se pueden originar de esta enfermedad y que anteriormente no se diagnosticaban correctamente por no asociarlas con tuberculosis. Este reporte se suma a otros que indican la necesidad de conocimiento por parte de los odontólogos de riesgos laborales y que al atender a un paciente que presenta lesión en cavidad bucal, piense, en un país como Venezuela con alta incidencia de tuberculosis, y se incluyan las alteraciones bucales como diagnóstico diferencial, no obstante la cavidad bucal también constituye una fuente diagnóstica aun en ausencia de lesión aparente.³⁰

CONCLUSIONES

1. La frecuencia de casos positivos para PCR de tejido periodontal fue igual tanto para el grupo de pacientes VIH+ como VIH- .
2. La técnica de PCR permitió amplificar la secuencia IS6110, para micobacterias del complejo tuberculosis a partir de muestras de tejido con enfermedad periodontal convencional.
3. En el presente estudio el BK mostró mayor sensibilidad como prueba microbiológica convencional para el diagnóstico de tuberculosis en comparación con el cultivo.

RECOMENDACIONES

1. Las medidas de bioseguridad en el consultorio odontológico deben ser reforzadas por igual para todos los pacientes, bajo ninguna circunstancia se debe esperar observar una lesión producto de tuberculosis para implementar normas de saneamiento.
2. Toda lesión ulcerosa en lengua, encía, mucosa, carrillo o paladar, lesión vegetativa o periodontal, debe ser tomada en cuenta como diagnóstico presuntivo y diferencial de tuberculosis.
3. Aquellos pacientes que a través del interrogatorio presenten factores que los hagan susceptibles al desarrollo o contagio de la tuberculosis, a nivel bucal deben ser evaluados de manera minuciosa en búsqueda de posibles lesiones diferentes a la úlcera por tuberculosis.

Bibliografía

1. Nava O, Prieto L. Diagnóstico bacteriológico de tuberculosis pulmonar: revisión. Disponible en World Wide Web: http://www.serbi.luz.edu.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=soo75522220010060000048ing=es&nrm0iso. ISSN0075-5222. (consultado el 28 de octubre de 2009)
2. Organización Mundial de la Salud. La mortalidad por tuberculosis relacionada con el VIH es anterior a la calculada anteriormente. Disponible en: http://www.who.int/tb/publications/global_report/2009/key_points/es/index.html. (consultado el 28 de octubre de 2009)
3. Organización Mundial de la Salud. Control mundial de la tuberculosis-informe OMS 2009. Disponible en: http://www.who.int/tb/publications/global_report/2009/key_points/es/index.html. (consultado el 28 de octubre de 2009)
4. Organización Mundial de la Salud. TB country profile Venezuela, surveillance and epidemiology. Disponible en: www.who.int/tb/publications/global_report. (consultado el 05 de octubre de 2009)
5. Ito F, De Anfrade C, Vargas P, Jorges M. Primary Tuberculosis of the oral cavity. Oral Dis 2006; 1:50-53
6. Von A, Husain A. Oral tuberculosis. Brit Den J 2001;190:420-422
7. Yusue H. Oral tuberculosis two case reports. Brit Den J 1975:470-472
8. Kolokrotionis A, Antoniadis D, Trigonidis G, Papanagiotou P. Case report. Oral tuberculosis. Oral Dis 1996;2:242-243
9. Gareth R, Phil M, Jones M. Review Article. Mycobacterium marches back. J Laryngol and Otol 1995;109:5-13.
10. Turbiner S, Giunta J, Maloney P. Orificial tuberculosis of the lip. Oral Surg 1975;33:443-447
11. Hashimoto Y, Tanioka H. Primary tuberculosis of the tongue: report of a case. J Oral Maxillofac Surg 1989; 47:744-746

12. Dimitrakopoulos I, Zouloumis L, Lazaridis N, Karakasis D, Trigonidis G, Sichletidis L. Primary tuberculosis of the oral cavity. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1991;72:712-715
13. Hock L, Shin Y, Chuang H, Wei-Jen C, Jaconson J, Van M. Oral tuberculosis. *Oral Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1996;4:415-420
14. Gupta A, Shinde K, Bhardwaj I. Primary lingual tuberculosis: a case report. *J Laryngol and Otol* 1998;112:86-87
15. Llyas S, Chen F, Hodgson T, Speight P, Lacey C, Porter S. Labial tuberculosis: a unique cause of lip swelling complicating HIV infection. *HIV Med* 2002;3:283-287.
16. Ramirez V, Anaya G, Gonzalez I, Mosqueda J, Esquivel L, Reyes E, Sierra J. Ulcera lingual como signo único de infección recurrente por micobacterias en un paciente con VIH/SIDA. *Med y Patol Oral* 2005;10:109-114.
17. Ebenezer J, Samuel R, CMathew G, Santosh K, Chackro R, Jesudason M. Primary oral tuberculosis report of two cases. *Ind J Dent Res* 2006;17:41-44
18. Sharma A, Laishram D, Sarma B. Primary tuberculosis of tongue. *Ind J of Pathol and Microbiol* 2008;51:65-66
19. Tovar S, Costache M, Sardella A. Primary oral tuberculosis: a case series from Bucharest, Romania. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;105:e41-e45
20. Rivera H, Correa M, Castillo S, Nikitakis N. Primary oral tuberculosis: a report of a case diagnose by polymerase chain reaction. *Oral Dis* 2003;9:46-48
21. Wang W, Chen J, Chen Y, Lin L. Tuberculosis of the head and neck: a review of 20 cases. *Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009;107:381-386
22. Harris B, Taylor C, Wade D, Calif T. Miliary tuberculosis with oral manifestations: report of case. *J Oral Surg* 1973; 31:305-307
23. Viva E, Ferrari G, Gazzotti A, Sesenna E. La tubercolosi della mucosa orale. *Min Stom* 1980; 29:203-207
24. Adiego M, Millan J, Royo J, Dominguez L, Castellote M, Alfonzo J, Valles H. Unusual association of secondary tonsillar and cerebral tuberculosis. *J Laryngol and Otol* 1994;108:348-349.
25. Ayay G, Laxmikanth C, Prashanth S. Tuberculosis ulcer of tongue with oral complications of oral antituberculosis therapy. *Ind J of Dent Res* 2006;17:87-90.
26. Sezer B, Zeytinoglu M, Tuncay Ü, Unal T. Oral mucosa ulceration a manifestation of previously undiagnosed pulmonary tuberculosis. *Am Dent Assoc* 2006;135:336-340
27. Kolokotronis A, Avramidou E, Zaraboukas T, Mandraveli K, Alexiou S, Antoniadis D. Oral tuberculosis associated with a treatment with anti-rheumatic drugs. *J Oral Pathol Med* 2006; 35:123-125
28. Vidal M, Delevaux I, André M, Marroun I, Gavet F, Voinchet H, Palat S, Kintossou R, Gilain L, Aumaître O. Lingual tuberculosis revealing disseminated tuberculosis. *La Revue de Medicine*

Interne 2007; 28:124-126.

29. Koffi S, Kouassi A, Kette F, Ahui J, Danguy E. Tuberculosis of the oral mucosa in an HIV/AIDS patient. *Médecine et Maladies Infectieuses* 2008; 38: 167-16
30. Gupta H, Gupta R, Dixit N. Primary tuberculosis of soft palate. *Ind J Dis Allied Sci* 2001;43:119-121
31. Hatiran B, Gregal D, Irani D, Tankwal M, Patankar M. Tuberculoma of then cheek: a case report. *J Larylgol and Otol* 1997;3:873-873
32. Ferreira M, Arrais M, Ferradans J, Cavalcanti V. Tuberculosis en la cavidad bucal: a propósito de un caso. *Quintessence ed. España* 1997;11:621-626
33. Jawad J, El Zuebi F. Primary tuberculosis: a case report. *J Larylgol and Otol* 1996;110:177-178
34. Moran E, Lazo Y. Tuberculosis. *Rev Cubana Estomatol* 2001;38(1):33-51
35. Zee W, Poliakov N, Baruchin A, Shumuel O. Diagnosis and treatment of cervical tuberculous lymphadenitis. *J Oral Maxillofac Surg* 2000;58:477-481
36. mit E, Tozoglu S, Uyanik H. Submandibular tuberculous lymphadenitis after endodontic treatment of the mandibular first premolar tooth: report of case. *J Endod* 2006;32:1107-1109
37. Mignona M, Muzio L, Favia G, Ruopoo E, Sammartino G, Zarelli C, Bucei E. Oral tuberculosis: a clinical evaluation of 42 cases. *Oral Dis* 2000;6:25-30
38. Selimo?lu E, Sütbeyaz Y, Çiftçio?lu A, Parlak M, Esrefo?lu M, Öztürk A. Primary tonsillar tuberculosis : a case report. *J of laryngol and otol* 1995:109;880-882ses. *Oral Dis* 2000;6:25-30
39. Michaud M, Blanchette G, Tomich C. Chronic ulceration of the hard palate: first clinical sign of undiagnose pulmonary tuberculosis. *Oral Surg* 1984;57:63-67
40. Sepheriadou T, Yannouloupoulos A. Tuberculosis of the jaw. *J Oral Maxillofac Surg* 1986;44(2):158-162
41. Ghatak S, Tamoghana J, Bandyadhyaya S, Biswas S. Primary oropharyngeal tuberculosis causing destruction of uvula-a rare presentation. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2009;4:259
42. Muroff FI. Tuberculosis lesion of the oral cavity: report of case. *J Can Dent Assoc* 1970;10:380-381
43. Lo Bello L, Lo Bello M, Scoto S. Tuberculosis orale primaria dopo avulsione dentarie. *Min Stom* 1984;33:41-48
44. Murray A, Gardiner D, Path M, McGuinness R. Primary mycobacterial infection of the uvula. *J Larylgol and Otol* 1998;112:1183-1185
45. Varadhan B, Raju A, Sharma D. Primary tuberculous gingival enlargement: a rare entity. *J Can Dent Assoc* 2006;72(7):645-648.

46. Singh M, Barthi V, Singh A. Gingival tuberculosis. *Indian J Pathol Microbiol* 2009;52(3)
47. Çakan A, Mutlu Z, Özsöz A, Erbaycu A, Ünal T, Koyuncu B. Tuberculosis of oral mucosa. *Monaldi Arch Chest Dis* 2001;56:315-317.
48. Rodriguez G, Carnelio S, Valliathan M. Primary tuberculosis isolated gingival tuberculosis. *Braz J Infect Dis* 2007;11(1)
49. Baldwin A, Foster E. Tuberculosis parotitis. *Brit J of Oral and Maxillofac Surg* 2002;40:444-445.
50. Ishihara E, Watanabe K, Fukomoto A, Okuda K. PCR method is essential for detecting *Mycobacterium tuberculosis* in oral cavity samples. *Oral Microbiol Immunol* 2003;18:156-159.
51. Kol A, Kuijper A. PCR assay for *Mycobacterium tuberculosis* complex and other mycobacteria. Department of biomedical Research, Royal Tropical Institute, Amsterdam, The Neatherlands.2000
52. Marsh P, Martin M. *Oral Microbiology*. Fourth edition, Oxford 2000
53. Hernández C, Correa M, Zamora F. Aislamiento e identificación de micobacterias mediante métodos bacteriológicos y de biología molecular. *Rev Soc Ven Microbiol* 2005;25:64-71.