

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
MAESTRÍA DE MEDICINA ESTOMATOLÓGICA

DETERMINACIÓN DE *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis* y *Actinobacillus actinomycescomitans* EN PACIENTES VIH+ CON ENFERMEDAD PERIODONTAL

**Tesis de grado presentado ante la ilustre
Universidad Central de Venezuela por el
Odontólogo Aubert Brito Arteaga para
optar al título de Magister Scientiarum
en Medicina Estomatológica.**

Caracas, 16 de Mayo de 2002

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
MAESTRÍA DE MEDICINA ESTOMATOLÓGICA

**DETERMINACIÓN DE *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas*
gingivalis y *Actinobacillus actinomycetemcomitans* EN
PACIENTES VIH+ CON ENFERMEDAD PERIODONTAL**

Autor: OD. AUBERT BRITO ARTEAGA

Tutor: DRA. MARÍA CORRENTI DE PLATA

**Aprobado en nombre de la
Universidad Central de Venezuela
por el siguiente jurado examinador**

Tutor: Dra. María Correnti de Plata

Firma

C.I.:

Tutor: Dra. Marianella Perrone

Firma

C.I.:

Tutor: Dra. Laura Escalona

Firma

C.I.:

Observaciones: _____

Caracas, 16 de Mayo de 2003

RESUMEN

Introducción: La enfermedad periodontal en paciente infectados por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) ha sido descrita como una patología característica en este grupo de individuos. **Objetivo:** El propósito de este estudio fue la determinación de la prevalencia de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Aa), *Porphyromonas gingivalis* (Pg) y *Prevotella intermedia* (Pi) además de evaluar parámetros periodontales tales como; índice de placa (IP), índice gingival (IG), profundidad de sondaje (PS), en pacientes VIH+. **Método:** Se evaluaron 32 pacientes VIH+ que asistieron al Servicio de Atención al paciente con Enfermedades Infectocontagiosas de la Facultad de Odontología de la UCV y 16 individuos VIH negativos. Los parámetros clínicos periodontales evaluados fueron: IP(Silness y Löe, 1964), IG (Löe y Silness, 1967) y PS. Se utilizó PCR para la detección de Aa, Pg, y Pi. **Resultados:** El promedio de IP en VIH+ fue de 1.4 y de 1.2 al grupo control ambos grupos presentaron grados de inflamación gingival moderados, el grupo control mostró promedios de profundidad al sondaje >3mm observándose diferencias estadísticamente significativas con el grupo VIH+. Se observó que Pi fue el periodontopatógeno mas prevalente tanto en el grupo VIH+ (72%) como en el control(100%), seguido de Aa (25% y 69%) y Pg (3% y 19%). Se encontró una mayor prevalencia de Periodontitis crónica en ambos grupos, aunque los individuos seropositivos manifestaron enfermedades periodontales fuertemente asociadas al VIH como Eritema gingival lineal y Periodontitis Ulcerativa Necrotizante.

I.- INTRODUCCIÓN

La enfermedad periodontal se puede definir como un grupo de estados inflamatorios de los tejidos de soporte dentario (Socransky y Haffajee, 1992). Esta respuesta inflamatoria de los tejidos periodontales es inducida por microorganismos presentes en la placa dental (Saygun y col, 2002).

A mediados del siglo pasado se estimaba que todas las especies bacterianas encontradas en la placa dental poseían igual capacidad para causar enfermedad, pero para el decenio de los sesenta, estudios microscópicos revelaron la presencia de distintos morfotipos bacterianos en sitios sanos en contraste con otros, con enfermedad periodontal. El avance tecnológico en los procedimientos usados para aislar, cultivar e identificar los microorganismos periodontales demostraron la presencia de grupos específicos en los distintos tipos de enfermedad periodontal (Carranza y Newman, 1998; Lindhe, 2000; Silverstein y col, 1990).

La composición de la placa dental en relación con la salud gingival difiere de la placa vinculada con las diferentes enfermedades periodontales. Socransky y col (1987) y Socransky

y Haffajee (1992), realizaron estudios donde concluyeron que mas de 400 especies han sido cultivadas en los surcos y sacos periodontales de diferentes individuos, así como de 30 a 100 especies en un solo sitio (Lindhe, 2000). Las bacterias mayormente implicadas en la salud o con la enfermedad periodontal son microorganismos Gram -, facultativos, capnofílicos o anaerobios. Entre las bacterias mas frecuentemente relacionadas se encuentran *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *Treponema denticola* y especies de *Eikenella* entre otras bacterias identificadas (Listgarten, 1992).

Aunque la placa dental ha sido implicada como el principal agente etiológico en las diversas formas de enfermedad periodontal, existen factores locales y sistémicos que modifican la interrelación entre los microorganismos y la respuesta del hospedero (Caton y Quiñones, 1991). La patogenia de la gingivitis y de la periodontitis está relacionada con las reacciones inflamatorias e inmunitarias frente a la placa dental. Estos procesos inflamatorios e inmunes actúan protegiendo los tejidos periodontales contra el ataque microbiano evitando la extensión e invasión de los mismos, pudiendo ser

paradójicamente responsables de gran parte de la alteración tisular observada en la gingivitis y periodontitis (Schenkein, 1999).

Enfermedad periodontal es la expresión mas frecuentemente usada para agrupar un número de patologías periodontales las cuales pueden tener muchas etiologías como lo son las infecciones virales y bacterianas, lesiones traumáticas, síndromes congénitos, afecciones autoinmunes entre otras. Es importante señalar que cuando nos referimos a las reacciones inflamatorias por una acumulación de bacterias, es apropiado el término de enfermedad periodontal asociada a placa. (Leknes,1997).

Kinane y Marshall en 2001 refieren, que algunas condiciones generales en los pacientes, pudieran incrementar la prevalencia, incidencia o severidad de la gingivitis y la periodontitis y que la afección del sistema inmune, como resulta en la infección por el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), predispone al individuo a la destrucción de las estructuras de soporte dentario. Holmstrup y Westergaard en 1994, consideraron que las enfermedades en el periodonto son una característica común en pacientes seropositivos y que

clínicamente se presentan de manera peculiar denominándolas como “Enfermedades Periodontales asociadas a VIH”(Tenenbaum y col, 1997).

1 - GENERALIDADES DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL

El periodonto, también denominado “aparato de inserción” o “tejidos de soporte y revestimiento del diente”, comprende una unidad funcional, biológica y evolutiva, conformada por la encía, ligamento periodontal, cemento radicular y hueso alveolar. (Carranza y Newman, 1998)

La enfermedad del periodonto, puede presentarse en la infancia, la adolescencia en la edad adulta temprana y avanzada. Sin embargo, su prevalencia, la destrucción del tejido y la pérdida de dientes pueden aumentar con la edad.

El término de *enfermedad periodontal* se ha empleado para abarcar todos los padecimientos del periodonto, las cuales se dividen en dos categorías principales, las enfermedades gingivales, las cuales incluyen a aquellas que atacan sólo a la encía y las periodontales, consideradas aquellas que producen trastornos en las estructuras de soporte dentario. La clasificación de todas las enfermedades en general, es útil para realizar diagnósticos, pronósticos y planes terapéuticos. Clínicos e investigadores han dedicado estudios para clasificar la enfermedad periodontal. La Academia Americana de

Periodontología (AAP), utilizó durante algunos años la clasificación propuesta por Orban y col en 1970 y posteriormente en 1989, la AAP modifica la misma, relacionando la enfermedad periodontal con otras áreas. La Academia Europea de Periodoncia realizó en 1993 algunos cambios en esta clasificación con la finalidad de simplificarla.

Para el año 1997 la AAP formó un comité para revisar el sistema de clasificación de la enfermedad periodontal, surgiendo así en 1999 una nueva clasificación, la cual se basa en signos clínicos, histológicos y etiológicos de la enfermedad periodontal(Armitage, 1999).

CLASIFICACIÓN DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL

I - ENFERMEDAD GINGIVAL

A - INDUCIDA POR PLACA

1- Asociada a Placa Dental

a.- Sin contribución factores locales

b.- Con contribución factores locales

2- Enfermedad Gingival modificada por factores sistémicos

a - Asociada al Sistema Endocrino

- Asociada a Pubertad

- Asociada a Ciclo menstrual

- Asociada a Embarazo
 - Gingivitis
 - Granuloma piogénico
- Asociada a Diabetes Mellitus
- b.- Asociada a Discrasias Sanguíneas
 - Asociada a Leucemias
 - Otros

3 - Modificada por medicamentos

Influenciada por drogas

- Agrandamiento gingival influenciado drogas
- Gingivitis influenciada por drogas
 - Anticonceptivos
 - Otros

4- Modificada por nutrición

- a.- Gingivitis asociada a deficiencia ácido ascórbico
- b.- Otros

B - NO INDUCIDA POR PLACA

1 - Origen bacteriano específico

- a.- *Niesseria gonorrea*
- b.- *Treponema pallidum*
- c.- Especies Estreptococos
- d.- Otros

2 - Origen viral

a.- Herpes Virus

- Gingivoestomatitis herpética primaria
- Herpes oral recurrente
- Varicela Zoster

b.- Otros Virus

3- Origen micótico

a.- Candidiasis gingival generalizada

b.- Eritema gingival lineal

c.- Histoplasmosis

d.- Otros

4 - Origen genético

a.- Fibromatosis gingival Hereditaria

b.- Otros

5 - Por condición sistémica

a.- Desórdenes Mucocutáneos

- Liquen Plano
- Pénfigo Vulgar
- Lupus Eritematoso
- Penfigoide
- Eritema Multiforme
- Inducido drogas

b.- Reacciones alérgicas

- Materiales restauradores(mercurio, acrílico, níquel, otros)
- Reacciones a pastas, enjuagues, gomas de mascar, aditivos, alimentos, otros
- Otras

6- Lesiones traumáticas

- a.- Injurias químicas
- b.- Injurias físicas
- c.- Injurias térmicas

7- Reacciones a cuerpo extraño

II- PERIODONTITIS

1.- Periodontitis Crónica

- a.- Localizada
- b.- Generalizada

2.- Periodontitis Agresiva

- a.- Localizada
- b.- Generalizada

3.- Periodontitis como manifestación Enfermedad Sistémica

a.- Asociación a Desórdenes Hematológicos

- Neutropenia adquirida
- Leucemias
- Otras

b.- Asociación a Desórdenes Genéticos

- Neutropenia Familiar y cíclica
- Síndrome de Papillon Lefevre
- Síndrome de Down
- Síndrome Def. Adhesión Leucocitaria
- Síndrome Chediak-Higashi
- Síndrome de Histiocitosis
- Síndrome de Cohen
- Enf. Aglutinamiento glucógeno
- Agranulocitosis genética infantil
- Síndrome de Ehlers-Danlos
- Hipofosfatasa
- Otros

c.- Otras Periodontitis No Específicas

III- ENFERMEDAD PERIODONTAL NECROTIZANTE

- 1.- Gingivitis Ulcerativa Necrotizante (GUN)
- 2.- Periodontitis Ulcerativa Necrotizante (PUN)

IV- ABSCESOS PERIODONTALES

- 1.- Absceso Gingival
- 2.- Absceso Periodontal
- 3- Absceso Pericoronal

V- PERIODONTITIS ASOCIADA A LESIÓN ENDODÓNTICA

- 1.- Lesión endodóntica combinada

VI- DEFORMIDADES ARQUITECTURA DESARROLLO Y CONDICIONES

- 1.- Factores dentarios que favorecen acumulación de placa
 - a.- Factores anatómicos
 - b.- Restauraciones amplias
 - c.- Fracturas radiculares
 - d.- Resorciones cervicales y Perlas de esmalte

2.- Factores mucogingivales alrededor del diente

a.- Resorción del tejido gingival

- Vestibular
- Lingual
- Proximal

b.- Falta de encía adherida

c.- Disminución de profundidad del vestíbulo

d.- Posición inadecuada de frenillo/músculo

e.- Exceso gingival(seudosacos, agrandamiento gingival)

f.- Alteraciones de color

3.- Factores mucogingivales en espacio edéntulo

a.- Disminución vert/hor del espacio edéntulo

b- Falta de encía adherida

c.- Agrandamiento del tejido blando

d.- Posición inadecuada del frenillo/músculo

e.- Diminución profundidad vestibular

f.- Alteraciones de color

VII- TRAUMA OCLUSAL

1.- Primario

2.- Secundario

Para lograr clasificar la presentación de una enfermedad periodontal, es necesario la realización de un examen del estado periodontal. Este se realiza mediante la evaluación clínica de la inflamación de los tejidos, el registro de la profundidad del surco al sondaje, los niveles de inserción clínica y evaluaciones radiográficas del hueso alveolar.

Los estudios epidemiológicos toman en cuenta, las variables determinadas por los índices de inflamación gingival y sangramiento al sondaje o Índice Gingival (IG), cantidad de placa acumulada o Índice de Placa (IP), la Pérdida de Inserción Clínica (PIC) y la Profundidad al Sondaje (PS) (Ainamo, 1992).

Investigaciones epidemiológicas pueden suministrar información o conocimiento para entender la prevalencia, extensión y severidad de la enfermedad periodontal. Los adelantos en las recientes investigaciones han conducido a cambios fundamentales en el modelo de enfermedad periodontal, con relación a su etiología y progresión (Burt, 1996).

Anteriormente se consideró como modelo en la enfermedad, tres preceptos o normas: 1) Todos los individuos son considerados susceptibles a padecer periodontitis severa, 2) La

gingivitis progresa a periodontitis con la consecuente pérdida de hueso y dientes, 3) La susceptibilidad de la periodontitis aumenta con la edad. (Belting, 1957; Russel, 1967).

Entendiendo que la epidemiología de la enfermedad periodontal es complicada, actualmente es necesario distinguir la prevalencia, incidencia y severidad de la gingivitis y la periodontitis de forma separada.

La gingivitis se caracteriza por la inflamación gingival y/o sangramiento al sondaje, sin pérdida de inserción, ni pérdida ósea, frecuentemente reversible cuando se eliminan los irritantes locales(cálculo y placa dental), mientras que la periodontitis, caracterizada igualmente por un proceso inflamatorio, da como resultado la pérdida de hueso alveolar y del nivel de inserción alrededor del diente (Oliver y col, 1998).

Estudios epidemiológicos, han demostrado que la gingivitis puede presentarse desde la infancia, pero con mayor severidad y prevalencia durante la adolescencia, disminuyendo de manera gradual en el transcurso de la vida (Bhat, 1991). En los Estados Unidos(USA) se han realizado estudios, encontrando que del 40% al 60% de los niños en edad escolar presentaron gingivitis.

Un estudio realizado en el National Institute of Dental Research USA, concluyó que de un grupo de adultos entre 18 y 64 años de edad, 47% de los hombres presentaban gingivitis en comparación con el 39% de mujeres, y que el número de sitios con sangramiento al sondaje aumentaba con el tiempo en los hombres y no en las mujeres (Papapanou, 1996). Oliver y col reportaron en 1998, que en el 44% de la población estudiada en una edad comprendida entre los 18 y 64 años, la gingivitis decrecía ligeramente con la edad y que la misma prevalecía en la población adolescente.

La periodontitis en sus diferentes formas, ha sido objeto de muchas investigaciones epidemiológicas. Un estudio realizado en la India por Marshall-Day y col en 1955, observaron que un 100% de la población evaluada presentaba, después de los 40 años, algún tipo o signo de enfermedad periodontal destructiva. Sherp en 1964 realizó una revisión de la literatura disponible y concluyó que la enfermedad periodontal afecta a la mayoría de la población adulta después de los 35-40 años de edad, iniciándose con una gingivitis en los jóvenes, que de no recibir tratamiento conduce a una periodontitis destructiva progresiva. Estos fundamentos, dominaron la literatura periodontal hasta fines de la década de 1970 (Lindhe, 2000). Estudios publicados en los

últimos años sugirieron, que la enfermedad periodontal destructiva no debe ser considerada como una consecuencia inevitable de la gingivitis que conduce finalmente a una pérdida dentaria. Estos resultados se evidencian en investigaciones epidemiológicas que reportan que la periodontitis, con sacos de 4mm, se manifiesta especialmente en adultos en un 30%, y con sacos mayores de 6mm sólo en el 5%. Igualmente concluyen que la periodontitis agresiva es menor del 1% en adolescentes (Periodontitis Juvenil), y en un 3.6% en adultos jóvenes (Periodontitis de avance rápido). Finalmente consideraron que existían factores de riesgo a considerar para la prevalencia y severidad en la presentación de la enfermedad periodontal (Baelum y col, 1988; Oliver y col, 1998).

FACTORES DE RIESGO

EDAD: la prevalencia y la severidad de la enfermedad periodontal se incrementa de modo directo con el aumento de la edad. Así lo refiere el estudio reportado por Oliver y col, 1996, donde expresan que la presencia de pérdida de inserción en pacientes de 25-34 años es de 13.8%, mientras en pacientes de 55-64 años de edad es de 53.4%; concluyendo que la gravedad de la enfermedad del periodonto como indica la pérdida media

de la inserción aumenta de modo directo con la edad (Oliver y col, 1998).

GÉNERO: los hombres tienden a presentar mayor prevalencia de enfermedad periodontal que las mujeres y promedian pérdida de inserción clínica casi del 10% mas alta en milímetros que las mujeres (Lindhe, 2000).

RAZA: los estudios de prevalencia por grupo racial y étnico demuestran que la población de raza negra exhibe una mayor prevalencia que la raza blanca. Reportes de estudios epidemiológicos de USA sugieren incluso que en los estadounidenses de origen latinoamericano la prevalencia pareció ser mayor que en la raza blanca y negra (Carranza y Newman, 1998).

NIVEL SOCIOECONÓMICO: el nivel de enfermedad periodontal históricamente ha sido relacionado directamente con los niveles socioeconómicos bajos. La gingivitis y la higiene oral deficiente, están claramente asociadas, pero no ocurre así con la periodontitis la cual tiene un leve grado de asociación. Del mismo modo, la prevalencia y gravedad de la enfermedad periodontal son ligeramente mayores en zonas rurales que en zonas urbanas (Bascones, 2001).

TABACO: la relación entre fumar y enfermedad periodontal se basa en los efectos potenciales de sustancias relacionadas,

como la nicotina, monóxido de carbono y anhídrido cianhídrico, las cuales actúan como vasoconstrictor con producción de isquemia y reducción de la respuesta inflamatoria (Botröm y col 1999).

ENFERMEDADES SISTÉMICAS: existe una variedad de padecimientos que pueden presentarse y provocar efectos sobre los tejidos bucales y del periodonto. Es importante señalar que los estudios a través del tiempo han demostrado, que dichos padecimientos no inician la periodontitis sino que pueden acelerar su progresión e incrementar la destrucción del tejido. La Diabetes Mellitus y la infección por el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), entre otras, son enfermedades sistémicas que se han asociado como factores de riesgo en la enfermedad periodontal. (Barr y col, 1996; Emingil y col, 2001).

2 - ETIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL

La enfermedad periodontal era considerada, aún a mediados del siglo pasado, como el resultado de la acumulación de la placa dental. Este enfoque estuvo apoyado por estudios epidemiológicos que la relacionaron con la edad y la cantidad de placa dental, pensando que toda placa dental era igual y tenía la misma capacidad de ocasionar enfermedad. Se pensaba que las personas con enfermedad periodontal extensa, tenían una resistencia débil a la placa dental o que sus cuidados higiénicos eran inadecuados (Theilade,1986). Hallazgos clínicos posteriores contradijeron tales conclusiones, encontrando que pacientes con cantidades considerables de placa dental nunca llegaron a desarrollar enfermedad periodontal destructiva. Así mismo, en individuos que exhibían enfermedad avanzada, algunos sitios contiguos no estaban afectados; resultando estos hallazgos incompatibles con el concepto de que toda placa dental era igualmente patógena (Zambon, 1996).

Walter Loesche en 1976 configuró *las “hipótesis de la placa no específica y específica”*. La *“Hipótesis de la placa no específica”* afirmaba que la enfermedad periodontal surge de la elaboración de productos nocivos por parte de la microflora de la

placa. El huésped neutraliza los productos nocivos cuando hay cantidades bajas de placa mientras que considerables cantidades de la misma provocarían una alta presencia de productos nocivos, que en esencia someterían a las defensas del huésped. Esta hipótesis estuvo soportada por estudios experimentales de gingivitis, realizados por Løe y col en 1965. La *“Hipótesis de la placa específica”* afirma, que sólo cierta placa es patógena, y que la enfermedad periodontal es producida por patógenos bacterianos específicos capaces de producir sustancias que median la destrucción de los tejidos del hospedador. Estudios conducidos por investigadores como Slots y col, 1982 y 1991; Dzink y col, 1988; Listgarten y col 1993 entre otros, examinaron la composición de la placa subgingival y su asociación con las diferentes formas de enfermedad periodontal, alentando la aceptación de la teoría de la placa específica (Carranza y Newman, 1998; Lindhe, 2000; Zambon, 1996).

En el estudio de la etiología de la caries dental, se sugiere una hipótesis denominada *“hipótesis ecológica”*, por medio de la cual han tratado de explicar la etiología de la enfermedad periodontal. Esta propone que los cambios ocurridos en el medio ambiente local (surco gingival), favorece a los microorganismos residentes en esa zona (Marsh y Martin, 2000).

La presencia de microorganismos residentes a niveles bajos en sitios sanos, no son capaces de ser dañinos y de producir cambios clínicos. Si ésta acumulación de bacterias va mas allá de niveles compatibles con salud, el huésped produce una respuesta inflamatoria. Esto hace posible el incremento del fluido crevicular por la presencia de componentes provenientes tanto del huésped como de las bacterias anaerobias presentes. Estos procesos favorecen el crecimiento de especies bacterianas que conducen a cambios en la microflora residente en el surco gingival. Uno de ellos es el aumento el pH de 7.0 a 7.5 durante la inflamación permitiendo elevar el número de *P. gingivalis*, entre otros (Marsh y Martin, 2000).

Esta hipótesis describe, la dinámica relación existente entre la microflora residente y la respuesta ecológica del hospedero tanto en salud como en enfermedad. La misma permite trazar programas terapéuticos dirigidos no sólo al agente patógeno sino del mismo modo interferir en los factores ambientales que producen ese desequilibrio durante la respuesta inflamatoria (Marsh y Martin, 2000).

El rol que juegan los microorganismos como principal factor etiológico de la enfermedad periodontal, ha sido corroborado en los últimos años por los estudios epidemiológicos y los avances en análisis moleculares, (Zambon,1996).

La complejidad del estudio sobre la etiología de la enfermedad periodontal, ha obligado a los investigadores a buscar otros factores. Si la sola presencia de patógenos fuera suficiente, la detección del mismo sería un sinónimo de la eliminación del problema. Claramente está establecido que otros factores juegan un papel muy importante en la iniciación, progresión y curso de la enfermedad periodontal destructiva. Para que se establezca la enfermedad periodontal debe haber un huésped susceptible a patógenos periodontales, de lo contrario la enfermedad no ocurriría. Esta susceptibilidad puede derivarse de los defectos en los niveles y función de los leucocitos polimorfonucleares, de la inadecuada o irregular respuesta inmunológica, del uso de drogas, hábito tabáquico, de la dieta, predisposición genética y la presencia de diversas enfermedades generales debilitantes, como la Diabetes o el VIH, que pueden alterar la capacidad del huésped para superar las infecciones y exacerbar las existentes, (Socransky y Haffajee, 1992; Quirynen y col, 2001; Greenstein y Hart, 2002).

3 - MICROBIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL

Las evidencias que implican a los microorganismos como el agente etiológico primario de las enfermedades del periodonto derivan: de la asociación de la placa dental con la gingivitis y la periodontitis, de la vinculación de microorganismos específicos con enfermedades periodontales específicas y de la propiedad patogénica de los microorganismos implicados (Caton y Quiñones, 1991)

La gran mayoría de los microorganismos encontrados en la placa dental de pacientes con periodontitis, pueden hallarse eventualmente en pacientes sanos; es por ello que podrían catalogarse como “Patógenos Oportunistas”.

El estudio de la microbiología en la salud y la enfermedad del periodonto se ha realizado a través de una variedad de técnicas de muestreo, cultivos y recientemente con pruebas de biología molecular. Estos han demostrado, que la cantidad y la proporción de grupos bacterianos en placa subgingival y en saliva varían en la salud y la enfermedad (Carranza y Newman, 1998).

Cuando se examinan morfotipos de bacterias presentes en sitios o sujetos sanos encontramos que predominan bacilos facultativos Gram positivos y cocos (75%), los cuales disminuyen en proporción en la gingivitis (44%) y aún más en la periodontitis (13%). En pacientes con enfermedad periodontal encontramos un mayor número de bacilos móviles e inmóviles y espiroquetas (Slots y Listgarten, 1988). Mas específicamente, se consideran frecuentes en sitios sanos, primeramente las especies Gram positivas facultativas e integrantes de los géneros *Streptococcus* y *Actinomyces* como por ejemplo *S. sanguis*, *S. mitis*, *A. viscosus* y *A. naeslundii*.; y en proporciones más reducidas especies Gram positivas como *P. intermedia*, *F. nucleatum* y especies *Capnocytophaga*, *Neisseria* y *Veillonella* (Griffen y col, 1998; Caton y Quiñones, 1991).

Las investigaciones también han planteado que existen especies bacterianas que protegen o benefician al huésped. *Veillonella parvula*, *S. sanguis*, entre otras, son localizadas en grandes cantidades en sacos inactivos y en cantidades bajas en sacos activos. Un ejemplo pudiera ser la producción de H₂O₂ por parte de *S. sanguis*, lo cual está comprobado es letal para *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Socransky y Haffajee, 1992).

La flora bacteriana asociada con la gingivitis está dominada por especies de *Actinomyces*, grampositivos y un incremento en el número de microorganismos gramnegativos. Dentro de los grampositivos se encuentran *S. sanguis*, *S. mitis*, *A. israelii*, *A. viscosus*, *Peptostreptococcus micros*. Dentro de las especies Gram negativas, predominan *F. nucleatum*, *Campylobacter sputorum*, *P. intermedia*, *V. parvula*. En la Gingivitis Ulcerativa Necrotizante (GUN), caracterizada por necrosis del tejido del margen gingival y papilas interdentes, algunas veces asociada a la infección por el VIH, entre otros, los estudios microbiológicos indican grandes valores de *P. intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* y espiroquetas capaces de penetrar el tejido necrótico (Canton y Quiñones, 1991; Schenkein, 1999).

La flora bacteriana asociada a la enfermedad periodontal destructiva difiere dependiendo de que tipo de periodontitis evaluemos. La Periodontitis Crónica se compone de microorganismos Gram negativos, anaerobios, móviles. Los estudios muestran que entre los organismos aislados encontramos *Porphyromonas gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* y regularmente se presentan otros como *Wolinella recta*, *P. intermedia*, *Bacteroides forsythus*, *Eikenella*

corrodens, *C. rectus*, *Treponema dentícola*, *Dialister pneumosintes* y especies de *Eubacterium* (Sirinian y col, 2002).

Las formas de Periodontitis Agresiva (anteriormente denominadas Periodontitis de Aparición Temprana, Periodontitis Juvenil, Periodontitis Prepuberal, Periodontitis Rápida Progresiva o de Avance Rápido) están íntimamente relacionadas con especies como *A. actinomycetemcomitans* (siendo la más vinculada) , *P. intermedia*, *P. gingivalis*, *E. corrodens*, *C. rectus*, *Bacteroides capillus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Eubacterium brachi*, y especies de *Capnocytophaga* (Loesche y col, 1984; Canton y Quiñones, 1991; Schenkein, 1999).

En la Periodontitis Ulcerativa Necrotizante(PUN), muchas veces asociada al VIH-SIDA, las bacterias periodontopatogénicas que están involucradas son muy parecidas a las encontradas en la Periodontitis Crónica. Gornitsky y col en 1991 estudiaron a una población de pacientes VIH+, y reportaron que *A. actinomycetemcomitans*, *Wolinella recta*, *Fusobacterium spp.*, *P. gingivalis* y *Candida albicans* se encontraron estrechamente relacionados con PUN (Rams y col, 1991; Gornitsky y col, 1991).

Actinobacillus actinomycetemcomitans

De las publicaciones encontradas de asociación bacteriana y enfermedad periodontal, el microorganismo más estudiado ha sido *A. actinomycetemcomitans*. Este microorganismo es un bacilo pequeño, anaerobio facultativo, inmóvil, Gram negativo, sacarolítico, capnofílico, de extremos redondeados que cuando es cultivado en placas de agar sangre, forma pequeñas colonias convexas con un centro en forma de estrella. Este microorganismo tiene la capacidad de producir una proteína de 116 kDa tóxica, denominada leucotoxina (LtxA), capaz de eliminar a los leucocitos. Estudios realizados por Baehni y col 1981, reportaron que no todas las especies de *A. actinomycetemcomitans* tenían la misma propiedad leucotóxica. Es ampliamente conocido que esta leucotoxina pertenece a una familia de toxinas llamadas RTX, las cuales también son liberadas por algunas especies Gram negativas como *Pasturella haemolytica* y *Echerichia coli*. Las LtxA tienen como células blanco específicamente a los poliformonucleares neutrófilos, monocitos y linfocitos, ya que estos tienen expresada en su superficie una proteína receptora LFA-1 para LtxA, evadiendo así la respuesta fagocitaria del huésped. La LtxA es considerada

altamente virulenta porque permite neutralizar los mecanismos de respuesta del huésped. Aquellas leucotoxinas mínimamente tóxicas no serán capaces de producir daño. *A. actinomycetemcomitans* es uno de los periodontopatógenos que tiene la capacidad de invadir las células epiteliales gingivales y por su capacidad leucotóxica, podría ser importante la virulencia de este microorganismo en las Periodontitis Agresivas y Periodontitis Crónica en los adultos (Carranza y col, 2002; Lally y col 1997; Saarela y col, 1999; Haraszthy y col, 2000).

A. actinomycetemcomitans también puede presentar preferencia para ubicarse en ciertas zonas de la cavidad bucal. Un estudio realizado por Müller y col en el 2001 estableció diferencias en la ubicación de *A. actinomycetemcomitans*. Así quedó demostrado que se encuentran en mayor cantidad en la mucosa masticatoria(62%), saliva(59%), dorso de la lengua y bordes laterales de la lengua. Del mismo modo, las zonas mesio-vestibulares tienen mayor prevalencia (34.4%) seguido de las zonas mesio-linguales (33.1%) y mas específicamente se observó que el 55% de los 3ros molares en el maxilar superior, presentaban la bacteria, seguido del 50% de los incisivos laterales del maxilar superior y el 41% de 3ros molares en maxilar inferior (Müller col, 2001)

Porphyromonas gingivalis

P. gingivalis es otro de los microorganismos fuertemente asociado a la enfermedad periodontal. Es una bacteria, Gram negativa anaerobia, inmóvil, asacarolítica que pertenece al grupo de “*Bacteroides*” de pigmentación negra que suele presentarse en forma de cocos o bacilos cortos, que cuando son cultivados en placas de agar sangre forman colonias de color pardo o negro.

Las diferentes investigaciones han enumerado una serie de propiedades que le confieren la capacidad a éste microorganismo para causar enfermedad. *P. gingivalis* es capaz de producir una amplia variedad de proteasas, entre ellas una enzima tipo tripsina, fibronectina, colagenasas. Estas proteasas no son capaces de ser inactivadas o degradadas por los inhibidores de proteinasas del huésped, conduciendo esto a un desequilibrio del mecanismo de respuesta inmunológica, que contribuye a la destrucción del tejido. Las colagenasas tienen una actividad proteolítica capaz de degradar el colágeno, conjuntamente con las colagenasas que también producen las células del huésped. Se ha comprobado que un grupo de proteasas de *P. gingivalis*

denominadas “gingipain”, son igualmente capaces de degradar el colágeno del huésped. Así mismo, las gingipainas pueden estimular la liberación de la bradiquinina, resultando un incremento en la permeabilidad vascular, abasteciendo de nutrientes a los microorganismos presentes (Imamura y col, 2000; Cutis y col, 1999; Tokuda y col, 1998). Finalmente, *P. gingivalis* posee fimbrias que le dan la capacidad de adherirse o fijarse a otras bacterias, a células epiteliales y a los elementos de fibrinógeno y fibronectina del tejido conjuntivo lo cual es importante en la virulencia de este microorganismo (Carranza y col, 2002).

Prevotella intermedia

P. intermedia ha sido aislada principalmente en Periodontitis Agresiva, tanto en adolescentes como en adultos. Múltiples estudios la han relacionado estrechamente con GUN, así como con áreas de inflamación gingival severa (Zambon, 1996). Es una bacteria en forma de bacilo anaerobio Gram negativo, corto, de extremos redondeados el cual pertenece al grupo de *Bacteroides* de pigmentación negra, que cultivados en placas de agar sangre, forman colonias de color negro a pardo, capaces de fermentar hidratos de carbono. *P. intermedia* posee propiedades las cuales son consideradas como potenciales factores de virulencia. Estos incluyen los lipopolisacáridos, cápsula y apéndices en su superficie que influyen directamente en la adherencia (Takada y col 1991; Sugiyama y col, 2002).

P. intermedia se asocia directamente con enfermedades periodontales durante el embarazo, la pubertad, la menstruación y la menopausia, al parecer puede sustituir a la progesterona o al estradiol por vitamina K, aumentando en número; este microorganismo emplea los esteroides como factor de crecimiento (Kornman y Loesche, 1980)

Estudios comparativos reportan, que este microorganismo es menos virulento que *P. gingivalis*, ya que tiene una actividad proteolítica inferior, por el hecho de que algunos productos tóxicos, de bajo peso molecular, como ácido propiónico y componentes sulfuros están ausentes o se producen en menor cantidad. (Gharbia y col 1994). En contraste, Minami y col en 1997, compararon la virulencia de *P. gingivalis* y *P. intermedia*, encontrando que una cepa de *P. intermedia* (YKD8), induce a la pérdida de hueso alveolar equivalente a la que produce *P. gingivalis*. (Minami y col, 1997)

Recientemente Shah y Gharbia en 1992, separaron a cepas *P. intermedia* en dos especies (*P. intermedia*, *P. nigrescens*) que han mostrado rasgos fenotípicos idénticos, pero encontrando que *P. nigrescens* puede ser más virulenta y tener una distribución intraoral diferente. Esta distinción hace difícil interpretar los estudios previos de esta especie, ya que se trata de dos especies diferentes inadvertidamente combinadas, sin embargo nuevos estudios que discriminan las especies refuerzan la relación de una o ambas con la patogenia de la enfermedad periodontal (Shah y Gharbia, 1992; Zambon, 1996).

Los procesos inflamatorios e inmunes actúan para proteger al tejido gingival de la agresión bacteriana y así evitar la invasión de los microorganismos al tejido. Esta reacción de defensa paradójicamente puede ser responsable de la lesión tisular observada en la gingivitis y en la periodontitis. Como hemos dicho anteriormente el surco o saco puede contener mas de 400 especies bacterianas, lo que hace a la enfermedad periodontal una enfermedad infecciosa diferente a las enfermedades comunes como la tuberculosis , sífilis etc; en donde el agente causal y el tratamiento es fácilmente determinable.

La destrucción del periodonto puede deberse a la liberación de enzimas virulentas por parte de las bacterias presentes en la placa dental que inducen la inflamación como una reacción inmunitaria.

Ocurren cambios a nivel vascular, donde hay dilatación de arteriolas, capilares y vénulas, aumentando la permeabilidad vascular, lo que hace que los neutrófilos y los macrófagos migren hacia el surco. Paralelamente ocurre un aumento de la cantidad de fluido crevicular y se liberan proteínas como anticuerpos, complemento, etc ocurriendo un predominio

de células T y B , lo que provoca una agresión y destrucción del tejido.

El epitelio de unión se extiende apicalmente en respuesta a esa agresión y al infiltrado de células inflamatorias, y al extenderse la infiltración, se reabsorbe el hueso para dar paso a las células de defensa.

II - ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

1 - INFECCIÓN POR VIH

El Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), fue aislado e identificado por primera vez en el año 1983, en el Instituto Pasteur de París, demostrándose en 1984 que era el agente causal del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA)(Rosenberg y Fauci, 1993). Es bien conocido que la infección se presenta en diferentes fases y que su progresión a SIDA difiere de un individuo a otro, pudiendo evolucionar de manera rápida o presentar síntomas entre 10 y 15 años después de haber adquirido la infección (Pantaleo y Fauci, 1995). Se caracteriza por una profunda inmunosupresión con presentaciones clínicas diversas, incluyendo las infecciones oportunistas, las neoplásicas y la degeneración del Sistema Nervioso Central (SNC) (Pantaleo y col, 1993)

1.1 – Características moleculares y biológicas del VIH

El VIH es un retrovirus considerado miembro de la familia de los lentivirus, los cuales han sido aislados en diferentes especies de mamíferos superiores (ovejas, ganado, monos, etc.). Son capaces de infectar de forma latente las células o de producir efectos citopáticos a corto plazo y se caracterizan por producir enfermedades lentamente progresivas y mortales. Estas patologías de evolución lenta podemos agruparlas en tres tipos de síndromes: neurológicos, autoinmunes y de inmunodeficiencia (Virelizier, 1990; Simon y col, 1994)

Se han estudiado dos tipos de VIH que se denominan VIH-1 y VIH-2, que aunque difieren en su estructura genómica y en su antigenicidad, ambos producen síndromes clínicos similares.

El virus está formado por dos cadenas idénticas de ARN de polaridad positiva, las cuales tienen una longitud aproximada de 9.800 pares de bases contenidas dentro de un núcleo de proteínas virales, rodeadas de una doble capa de fosfolípidos, derivadas de la membrana celular del huésped y proteínas de membrana codificadas por el virus. El genoma del VIH comparte

la estructura básica de todos los retrovirus conocidos, con las secuencias llamadas *gag*, *env* y *pol*, denominadas genes estructurales. El gen *gag*, codifica proteínas estructurales como p24, p9,p4 y p17 ; las secuencias del gen *pol*, que codifican la transcriptasa reversa, la integrasa y la proteasa viral necesarias para la replicación del virus y las secuencias *env*, que codifican glucoproteínas de la envoltura viral, como la gp120 que constituye la porción externa, participando directamente en el reconocimiento del receptor específico del virus, la molécula de CD4, y la gp41 implicada en el proceso de fusión de membranas entre el virus y la célula (Weiss, 1993; Cullen, 1993; Weiss,1996). Además de estos genes típicos de los retrovirus, el VIH posee al menos otros seis genes denominados reguladores. El *nef*, *rev* y *tat* esenciales para la replicación viral y los genes *vif*, *vpr* y *vpu* que colaboran en la transcripción del genoma viral o en la infectividad y maduración de los viriones(Velasco, 2002).

El VIH posee una gran afinidad por los linfocitos T cooperadores que expresan una proteína de superficie denominada CD4, los cuales tienen importancia tanto en la inmunidad celular como humoral. Dentro de sus funciones, las células CD4 + inducen a células efectoras a realizar funciones inmunológicas, como la producción de anticuerpos, ejecutada por

los linfocitos B, y participan en la hipersensibilidad retardada e inmunidad mediada por células, lo que tiene una implicación clínica relevante, incrementando la susceptibilidad a las infecciones oportunistas (Warner,1996).

En experimentos realizados “in vitro” se ha logrado infectar por el VIH a numerosas estirpes celulares sin embargo “in vivo” sus células blanco por excelencia son los linfocitos CD4 y los macrófagos tisulares. Los linfocitos CD4 de sangre periférica se encuentran infectados entre un 1% y un 10%, en contraste con estudios sobre órganos linfoides (ganglios linfáticos) los cuales revelan cargas virales altas (Mellors y col,1996). Estudios realizados en el año 1.993 por Pantaleo y col, encontraron que mediante el estudio del ARN viral de órganos linfoides, se observó que una gran cantidad de viriones estaba presentes en los espacios interdigitantes de las células dendríticas, en contacto estrecho con linfocitos. Aunque las células dendríticas no están infectadas, se encuentran cubiertas por el virus. Del mismo modo, al realizar pruebas de PCR demostraron, que menos del 1% de los linfocitos infectados replican el genoma proviral, el cual se mantiene latente en la gran mayoría de los linfocitos infectados. Finalmente concluyeron que existen dos poblaciones linfocitarias infectadas, un grupo

mayoritario que alberga un genoma proviral latente, en contraste con otro grupo que contiene el virus productivo, siendo estos los responsables de la producción de viriones en el paciente infectado (Pantaleo y col,1993).

El segundo blanco del VIH lo constituyen las células de estirpe macrófaga. Durante algunos años se postuló que los macrófagos tisulares figuraban como el mayor reservorio viral de la replicación. Hoy se conoce, que el porcentaje de macrófagos infectados es muy reducido, es posible que estos actúen en la replicación con una cinética lenta, menos agresiva que la realizada por los CD4, pero que a largo plazo sea importante en la perpetuación de la infección y en la generación de resistencias antivirales (McCune, 1995)

A pesar que el ciclo biológico es esencialmente el mismo para ambos tipos celulares, la replicación del VIH es diferente en los macrófagos ya que se comporta como un lentivirus clásico, manteniendo una replicación constante a bajo nivel, constituyendo reservorios de larga evolución, mientras que en los linfocitos CD4 la cinética de replicación es muy diferente, permitiendo una latencia absoluta y una reactivación explosiva

en los mecanismos de activación inmune con la destrucción de células infectadas.

1 .2 – Ciclo biológico del VIH

La infección por el VIH se produce cuando las partículas virales de la sangre, semen u otro líquido corporal de un individuo se unen a las células de otro individuo. Podemos dividir el ciclo biológico en dos etapas, la fase temprana que finaliza con la integración del ADN proviral en el ADN de la célula infectada, y una fase tardía la cual supone la transcripción del genoma viral y la maduración final de los viriones.

El primer paso de la infección es la unión de alta afinidad de la gp120 a la molécula CD4 de la superficie de las células T. Las partículas del VIH que se unen al CD4 entran en las células mediante fusión directa de la membrana viral con la membrana celular del huésped y este proceso lo facilitan las moléculas gp41 de la membrana viral. La unión de la gp120 al receptor CD4 permite a la molécula gp41 insertar su cabeza amino terminal hidrofóbica en la membrana celular adyacente, iniciando la fusión de la envoltura del virus con la célula. Una vez que el virión del VIH entra en la célula, se activan las enzimas del

complejo nucleoproteico y comienza el ciclo reproductor. El núcleo proteico del virus se rompe, el genoma ARN del VIH se transcribe a ADN de doble cadena por la acción de la transcriptasa reversa viral y el ADN viral entra al núcleo. La integrasa viral entra igualmente al núcleo para catalizar la integración del ADN viral en el genoma de la célula huésped. Al ADN integrado del VIH se le denomina provirus. Una vez integrado el VIH, éste puede permanecer latente o inactivo durante meses o años, replicarse de forma controlada o experimentar una replicación masiva con el consiguiente efecto citopático sobre la célula infectada (Cullen, 1993; Ho y col, 1995).

La transcripción comienza con la síntesis del ARN mensajero del VIH a partir del ADN proviral que se ha integrado en el genoma celular. El paso de inactividad o latencia a la actividad transcripcional no va a depender de las proteínas virales, sino de factores celulares que interactúan con las secuencias repetitivas largas(LTR), las cuales se ubican en los extremos del genoma viral. Para que la transcripción del genoma viral sea completa, se requiere de la proteína viral *Tat* permitiendo la síntesis total del ARN viral. Esto ocurre en cooperación con el NF-KB (factor regulador nuclear). La síntesis

del ARNm del VIH debe ser transportada al citosol y procesado, lo cual es realizado por una proteína viral denominada *Rev*, de localización nuclear. Del mismo modo *Rev* participa en el proceso de ensamblaje de los ARNm acelerando la síntesis de proteínas virales. Una vez que son sintetizadas las proteínas virales, éstas deben ser procesadas antes de ensamblarse y constituir las partículas virales maduras. En éste proceso participan diferentes proteínas virales, como *Vif*, *Vpu* y especialmente la proteasa viral la cual desempeña un papel primordial en la producción de partículas virales. La maduración de los viriones y el ensamblaje correcto de las proteínas virales ocurre al final del ciclo, previamente a la gemación del virus a través de la membrana celular, lo que permite construir finalmente una partícula viral madura (Levy, 1993; Cullen, 1993; Velasco, 2002).

1.3 - Epidemiología del VIH

El incremento en el número de pacientes con SIDA en los Estados Unidos (688.200 hasta diciembre de 1998), y otros países desarrollados, es debido, en parte al aumento de la sobrevivencia de los pacientes infectados, con el advenimiento de los tratamientos antirretrovirales (Buve y Rogers, 1998; Fleming y

col, 1998). La Organización Mundial de la Salud (OMS), estima que cerca de 21 millones de individuos alrededor del mundo están infectados por el VIH, pudiendo incrementarse a 40 millones en el siglo 21(www. who.com).

El VIH afecta a individuos de todas las edades, pero el 90% de los casos ocurre en adultos de 20 a 49 años, la mayoría de los cuales pertenecen al sexo masculino, la conducta sexual en el 54% es homosexual o bisexual, y el 6 % pertenece al grupo de transmisión por uso de drogas inyectables. La mayoría de las mujeres que han resultado contagiadas, ha sido por contacto sexual, bien sea con hombres bisexuales o aquellos que usan drogas inyectables. Solo el 1% de los individuos se ha infectado con productos sanguíneos o transfusiones de sangre. La transmisión de trabajadores de la salud a pacientes, ha sido documentada en raras ocasiones, reportándose seis individuos por un Odontólogo y uno por un cirujano Ortopédico. Se han reportado 94 casos de profesionales de la salud con seroconversión posterior a una injuria ocupacional, con pacientes que tienen cargas virales altas en plasma. La mayoría de estos incidentes ha sido en enfermeras y ninguno en trabajadores de la salud bucal. (CDC, 1995; Ippolito y col,1999; Lot y col,1999).

1.4 - Características clínicas

Debido a la compleja biología del VIH, las manifestaciones clínicas de la infección son muy variadas. Podríamos definir a la infección del VIH como una enfermedad viral que se complica con la aparición de otras infecciones o tumores.

Una vez ocurrida la infección, se disemina invadiendo diversos tejidos y órganos, especialmente el tejido linfoide y los ganglios linfáticos. Entre 20 y 30 días posterior al contagio, en la gran mayoría de los pacientes se puede detectar el antígeno p24 circulante. En el plasma, la carga viral alcanza títulos muy elevados y los CD4+ pueden estar disminuidos, los anticuerpos pueden aparecer los primeros meses coincidiendo con la desaparición del antígeno p24 y un descenso contundente del número de virus circulante. En un 30-70% de los casos, podemos encontrar un cuadro clínico parecido a una mononucleosis, pero puede pasar inadvertido. Esta fase es denominada Síndrome del VIH agudo, Síndrome retroviral agudo o seroconversión. Comúnmente el cuadro clínico es asintomático, pero puede manifestarse con la presencia de fiebre, cefalea, dolor de

garganta, linfadenopatía generalizada y erupción cutánea (Carr y Cooper, 1997; Dover y Allen, 1991; Lim y col, 2001).

Posterior a la fase aguda, puede presentarse lo que se denomina la Enfermedad precoz, la cual puede durar varios años, donde observamos el conteo de células CD4+ por encima de 500mm^3 . Hay una actividad proliferativa viral a bajo nivel, pudiéndose aislar en el plasma. Clínicamente estos individuos están asintomáticos, aunque puede ser posible la aparición de adenopatías y otras manifestaciones como dermatitis seborreica, algunas patologías bucales y trombocitopenias (Saag, 1994; Jost y col, 1988).

La fase intermedia de la enfermedad está caracterizada por presentar niveles de células CD4+ entre 200 a 500 cel por mm^3 , igualmente estos individuos permanecen asintomáticos o escasamente sintomáticos, las manifestaciones cutáneas pueden acentuarse, y pueden aparecer infecciones virales de Herpes simple recidivante, Herpes Zoster, micosis, fiebre, diarreas persistentes y pérdida de peso. Comienza a detectarse el riesgo de sufrir de infecciones bacterianas como la sinusitis o neumonías (Di Alberti, 1997).

Cuando las células CD4+ se encuentran entre 50 y 200mm³, podemos estar frente a la fase tardía de la enfermedad. En esta etapa estos individuos tienen un alto riesgo de presentar infecciones oportunistas y tumores. Dentro de ellas se encuentra la TBC, la neumonía por *Pneumocysti carinii*, encefalitis por *Toxoplasma gondii*, Linfoma no Hodgkin y Sarcoma de Kaposi. Este cuadro clínico constituye el Complejo Relacionado con el SIDA (CRS), el cual viene acompañado de fiebre, sudoración nocturna, pérdida de peso, diarrea, pudiendo aparecer manifestaciones neurológicas severas (Rosen, 1992; CDC, 1993).

La enfermedad avanzada manifiesta procesos asociados a un mayor grado de deterioro inmunitario, el conteo de CD4+ es menor a 50 cel por mm³ y es frecuente la coexistencia de patologías . Los procesos neurológicos son reiterados presentándose una entidad denominada complejo SIDA-demencia (CSD). En esta fase, también podemos encontrar pacientes con Caquexia (pérdida de peso progresiva)(Grunfeld y Schambelam ,1994; Soriano y Valencia ,1997; Moore y Chang, 1995).

1.5 - Manifestaciones bucales

En los individuos infectados por el VIH, frecuentemente pueden aparecer diversas lesiones bucales, que pudieran inclusive representar los primeros síntomas y signos de la infección y además tener un valor pronóstico. Pacientes seropositivos y VIH-SIDA presentan lesiones en la zona de cabeza y cuello de las cuales un 55% se manifiestan en la cavidad bucal (Scully y col,1991; Winkler y Robertson, 1992). Los resultados del estudio de Palmer y col en 1996 demostraron al realizar una evaluación clínica e inmunológica en 456 pacientes VIH+ que el 80% de los pacientes que se encontraban en fase SIDA y 50% VIH+ presentaron lesiones en cavidad bucal. Otros estudios mas recientes, realizados por Chiang y col, 1998; Campisi y col en 2001, demostraron que el 52.2% y el 47% de los pacientes respectivamente, manifestaban algún tipo de patología en la mucosa bucal.

Las lesiones bucales asociadas al VIH, incluyen infecciones bacterianas, micóticas, virales, desórdenes neurológicos, neoplasias y otras de causa desconocida. Entre

ellas encontramos, infecciones recurrentes por el virus del Herpes simple, Herpes Zoster, Leucoplasia vellosa, Papiloma, Candidiasis en sus diferentes presentaciones clínicas, Sarcoma de Kaposi, Linfomas, Estomatitis aftosa, así como la presencia de enfermedades periodontales (Murray, 1994; Brian, 1996; Nittayananta y col, 2002).

Se han propuesto varias clasificaciones de las lesiones bucales relacionadas o asociadas al VIH-SIDA, y de los criterios diagnósticos con el objetivo de incrementar el conocimiento de la amplia patología bucal tan prevalente en estos individuos. Desde el año 1986, se han reunido grupos de investigadores con este fin, y en 1992, los miembros del Centro de Información de la Comunidad Económica Europea (CEE) sobre problemas bucales relacionados con la infección por el VIH se reunieron en Londres con los miembros del Grupo Colaborador de los Estados Unidos sobre el SIDA Oral, para revisar los criterios diagnósticos y las clasificaciones previamente establecidas, con el objetivo de llegar a un consenso, y establecer un esquema que pudiera ser aplicado tanto en Europa como en Norteamérica. Esta clasificación es la que actualmente se admite internacionalmente, ya que ha sido aceptada por la Organización

Mundial de la Salud (OMS) (Melnick y col, 1994; EC-Cleringhouse, 1993).

La clasificación se hace dividiendo las patologías en tres grandes grupos. Un primer grupo conformado por aquellas lesiones fuertemente asociadas al VIH, entre las que se encuentran la candidiasis, la leucoplasia vellosa, el Sarcoma de Kaposi, el Linfoma no Hodgkiniano y las enfermedades periodontales. El segundo grupo, compuesto por lesiones menos frecuentes asociadas a la infección por VIH, representado por infecciones virales no causadas por Epstein-Barr, como el herpes simple, herpes zoster, papiloma humano. Así mismo en este grupo se incluyen, la estomatitis necrotizante, úlceras no específicas y la hiperpigmentaciones melánicas. Por último, el tercer grupo, está comprendido por lesiones observadas en VIH, denominadas anteriormente como “lesiones posiblemente asociadas al VIH”. Dentro de este grupo entran aquellas infecciones por hongos excluyendo candidiasis, las alteraciones neurológicas, y las enfermedades virales asociadas a Citomegalovirus, entre otras(EC-Cleringhouse, 1993).

2 – PERIODONTO Y VIH

Los factores implicados en la etiología y evolución de la patología periodontal han evidenciado, que esta enfermedad responde a un proceso multifactorial en el que participan por un lado la placa dental y los microorganismos que la componen y por el otro, los factores de susceptibilidad del huésped. Es el equilibrio entre ambos factores, lo que determina el grado de salud de un individuo, cuando este equilibrio se rompe, aparece la enfermedad. Además, existen otros factores que si bien no son los responsables directos de la aparición de enfermedad periodontal, pueden modificar la respuesta de los tejidos frente a la presencia de la placa bacteriana.

Los factores sistémicos pueden actuar disminuyendo la capacidad del huésped a defenderse o aumentando la virulencia de las bacterias. Se han considerado dos grupos. Aquellos factores determinantes o de fondo, los cuales son característicos de la idiosincrasia del individuo, los cuales se asocian a patrones destructivos de la enfermedad y que no se pueden modificar, y por otro lado los denominados factores de riesgo, que incluyen todas aquellas exposiciones

medioambientales que aumentan la susceptibilidad a padecer la enfermedad. Dentro de este grupo se han considerado, enfermedades sistémicas como la Diabetes Mellitus, el tabaco, la ingesta de determinados medicamentos, los trastornos psicosomáticos y enfermedades inmunológicas como el VIH/SIDA (Hamada, 1991).

La aparición o no de enfermedad periodontal, se relaciona directamente con el equilibrio existente entre las bacterias de la placa y la respuesta inmunológica del huésped, ambas moduladas por los factores descritos, por lo que resulta razonable considerar que cualquier enfermedad que altere la inmunidad, podría influir en la aparición, gravedad y evolución de la enfermedad periodontal (Genco, 1996; Schenkein, 1999). Numerosos trabajos relacionan la Neutropenia cíclica, el Síndrome de Papillon-Lefevre y otras inmunodeficiencias con diferentes enfermedades periodontales, su carácter mas destructivo y su resistencia al tratamiento. (Schenkein, 1999; Saglam,1995).

En el caso de los individuos infectados por el VIH, se ha considerado la relación existente entre la alteración periodontal y dicha inmunodeficiencia adquirida, considerándose en algunos casos como un factor de riesgo de progresión en la pérdida de inserción y en la aparición de gingivitis (Velasco, 2002).

2.1 – Epidemiología

La primera relación entre SIDA y enfermedad periodontal, fue publicada por Denninson y col, en el año 1985, donde asociaron la aparición de una Gingivitis Ulcerativa Necrotizante con un paciente inmunocomprometido (Denninson y col, 1985). Posteriormente, a partir de 1987 se comenzaron a diferenciar las características clínicas de la enfermedad periodontal convencional y la descrita en pacientes VIH+. Las alteraciones consistían, desde la presencia de lesiones necróticas, con destrucción de tejidos blandos y de hueso alveolar, hasta una banda eritematosa intensa en la encía marginal que podía ser difusa, la cual estaba inversamente relacionada con la cantidad de placa presente, muy diferente a lo descrito en la gingivitis convencional (Reichart y col, 1987; Winkler y Murray, 1987; Winkler y col, 1988; Gornitsky y col, 1991).

Una amplia variedad de términos se ha usado, para definir estas condiciones periodontales en los pacientes VIH+, en primer lugar fueron denominadas como Gingivitis asociada al VIH (VIH-G) y Periodontitis asociada al VIH (VIH-P)(Brian, 1996).

En las últimas décadas, diversas discusiones han alcanzado un consenso en la clasificación y en los criterios diagnósticos de las manifestaciones periodontales en pacientes infectados con el VIH (EEC-Clearinghouse, 1993; Robinson, 1998; AAP, 1999; Narani y Epstein , 2001).

Han existido diferentes criterios diagnósticos cuya heterogeneidad ha influido en la variabilidad de los datos epidemiológicos encontrados en la literatura. Riley y col en 1992 definió a la G-VIH, como la aparición de un margen gingival rojo intenso, sin pérdida de inserción clínica ni sacos. La GUN se caracterizaba por úlceras blanquecinas con pseudomembranas, dolorosas, de aparición súbita y limitadas a la encía sin lesión ósea. La PUN, la describía igual que la GUN pero con alteración ósea y pérdida de inserción clínica. Masouderis y col en el mismo año describieron solo dos entidades clínicas; la G-VIH caracterizada por presentar una hemorragia gingival al sondaje,

el índice gingival mayor de 1 en al menos 1 sitio, al mismo tiempo que un eritema bien difuso o puntiforme en la encía adherida. Para diagnosticar la P-VIH debería haber un sitio con G-VIH y una razón de 1,5 entre la pérdida de inserción y la profundidad al sondaje, acompañado de dolor, exposición del hueso alveolar, necrosis del tejido blando o cráteres en las papilas (Riley y col, 1992; Masouderis, 1992).

Comités de expertos en el tema, intentaron establecer las entidades clínicas asociadas al VIH que aparecían en la cavidad bucal, y así el “USA Oral AIDS Collaborative Group” establecieron 3 entidades: 1) G- VIH, caracterizada por una banda eritematosa en la encía marginal que se podía extender hacia la encía adherida o mucosa alveolar, que no responde a la remoción de placa dental ni cálculo, 2) P-VIH que implicaba una lesión severa y destructiva, que cursa con ulceración y necrosis de los tejidos blandos, con pérdida de inserción clínica y hueso alveolar, acompañada de dolor profundo y sangramiento espontáneo, y 3) la Estomatitis Necrotizante, caracterizada por lesiones dolorosas, ulceronecróticas de la mucosa oral que dejan expuesto el hueso subyacente o se extienden a los tejidos contiguos, de márgenes amplios y difusos (Greenspan y col, 1992).

El comité de expertos de la Comunidad Económica Europea, incluyó las lesiones periodontales en el grupo de las lesiones fuertemente asociadas al VIH, dentro de las que se encuentran: Eritema Gingival Lineal (EGL), Gingivitis necrotizante (GUN), Periodontitis Necrotizante (PUN) y Estomatitis Necrotizante. Los diferentes criterios utilizados en cada clasificación implican que las entidades descritas se puedan asociar o no con la infección por el VIH y que cada una de ellas tiene un valor predictivo en cuanto a la aparición de la infección. (EEC-Clearinghouse, 1993; Robinson, 1998). En conclusión, la clasificación ampliamente aceptada de las patologías periodontales es: Eritema Gingival Lineal (EGL), anteriormente denominada G-VIH, Gingivitis Ulcerativa Necrotizante (GUN), Periodontitis Ulcerativa Necrotizante (PUN), conocida como P-VIH y la Estomatitis Necrotizante, no sin antes mencionar que los pacientes seropositivos pueden igualmente padecer de las enfermedades periodontales convencionales, ampliamente estudiadas (EEC-Clearinghouse, 1993, AAP, 1999).

Se desconoce la prevalencia real de la enfermedad periodontal asociada al VIH, debido a la variabilidad de criterios de diagnóstico y de la metodología utilizada en los estudios.

Además existen otros factores involucrados como los examinadores no entrenados, diferencias geográficas, diferencias de grupo de riesgo, vías de contagio, grupos etarios y la inclusión de pacientes que han recibido medicación sistémica. Es importante evaluarlos igualmente, ya que la infección por VIH se ha llegado a considerar un factor de riesgo para la enfermedad periodontal (Grbic y col, 1995).

Los primeros estudios sobre la prevalencia de las alteraciones periodontales fueron publicados en 1988, realizado en un grupo de pacientes que requerían tratamiento odontológico, encontrando que el 30% de éstos estaban afectados periodontalmente (Winkler y col, 1988).

El EGL en pacientes seropositivos ha mostrado rangos que varían entre 0-50%, la frecuencia para PUN oscila entre 0-7%, similar a la encontrada para la población seronegativa. Un estudio realizado en el año 1993 tenía como objetivo evaluar a los individuos que acudían a la emergencia con dolor en la encía, encontró que 20 pacientes fueron diagnosticados con GUN, y que el 35% de estos (7/20), resultaron infectados con el VIH, de los cuales 3 no estaban enterados de la infección (Rowland y col, 1993).

La relación de las cifras de conteo de CD4+ y la prevalencia de enfermedad periodontal, ha sido estudiada observándose también datos variables. Es así, como existen referencias donde no se observa relación directa entre los niveles de CD4+ y la alteración periodontal, otros encontraron que en los estadios iniciales de la infección VIH, con cifras de CD4+ en el rango normal o moderadamente bajas, la lesión periodontal más frecuente es el EGL, y a medida que las cifras de CD4+ están marcadamente disminuidas aparecen con mayor frecuencia la PUN.

Glick y sus colaboradores en el año 1994, concluyeron que la aparición de Periodontitis Ulcerativa Necrotizante es un indicador de inmunosupresión grave, pues su presencia indica, una probabilidad 20.8 veces mayor de presentar cifras de CD4 por debajo de 200mm^3 , aunque su prevalencia en 700 pacientes solo fue del 6.3% (Glick y col, 1994). Similares resultados son mostrados dos años más tarde, por Begg y colaboradores donde concluyen que EGL, GUN y PUN, están presentes en pacientes VIH+ con grados importantes de inmunosupresión y además vienen acompañadas de otras lesiones bucales como Leucoplasia vellosa y candidiasis bucal, las cuales han sido

igualmente asociadas con inmunodepresión severa (Glick y col, 1994; Begg y col, 1996).

El uso de nuevas drogas antirretrovirales como los inhibidores de proteasas y de transcriptasa reversa, ha traído como resultado un cambio en la prevalencia de las manifestaciones bucales del VIH/SIDA, debido a que no solo aumentan en número a las células CD4+, sino que hace posible la disminución de las partículas virales en sangre, pudiendo llegar a niveles indetectables. Las más recientes investigaciones, además de incluir los niveles de CD4+, han desviado su atención a los niveles de carga viral presentes, tanto en sangre como en fluido crevicular, con la intención de relacionar las manifestaciones periodontales y como punto de referencia para toma de decisiones al momento de plantear la terapia periodontal requerida en estos pacientes (Maticic y col, 2000; Ceballos-Salobreña y col, 2000; Ryder, 2002).

En relación con la gingivitis crónica y periodontitis crónica (enfermedades periodontales convencionales), los resultados presentan diferencias en cuanto a la aparición, progresión y evolución de las mismas. Por un lado en estadios no sintomáticos o con síntomas leves, no se encuentran cambios en

la frecuencia o evolución de la enfermedad periodontal (Drinkard y col, 1991). En contraste, existen estudios que demuestran una progresión más rápida de la enfermedad periodontal, la cual avanza paralelamente a la inmunosupresión. Así lo demuestra Yeung y col, los cuales valoran clínica y radiográficamente tanto la pérdida de inserción clínica y la pérdida ósea en un estudio longitudinal durante 18 meses, observándose que la progresión de la enfermedad periodontal está más avanzada en los individuos VIH positivos (Yeung y col, 1993). Robinson y col en 1996, realizaron un estudio transversal donde evaluaron el estado periodontal mediante la pérdida de inserción clínica y el sondaje en 312 pacientes VIH+ y 260 VIH- , mostrando mayores pérdidas de inserción clínica y sacos periodontales más profundos en los seropositivos que en los controles (Robinson y col, 1996). Posteriormente, en el año 2000, el mismo investigador publica un estudio en donde concluye, que la proporción de sitios con pérdida de inserción clínica de 1,2 ó 3 mm es similar en pacientes VIH+ que en el grupo control (Robinson y col, 2000). Aunque todos los estudios señalados, presentan diferentes diseños y evalúan poblaciones diferentes nos evidencian que la infección por VIH es un factor de riesgo en la pérdida de inserción clínica de la enfermedad periodontal.

2.2 - Presentación clínica

Eritema gingival lineal

Banda lineal continua de eritema (rojo intenso) en el margen gingival, la cual puede estar afectando, la encía libre o llegar a extenderse hasta la encía adherida y mucosa alveolar. El EGL puede ser generalizado o limitarse a uno o dos dientes. En ocasiones puede ser difusa o evidenciarse puntos eritematosos acentuados de manera generalizada. Ambos signos, banda lineal o eritema difuso, se asocian con frecuencia a sangramiento espontáneo. La intensidad del eritema es desproporcional, a la cantidad de placa presente. No existe ulceración, ni hay evidencias de saco periodontal ni pérdida de inserción. En algunos casos puede existir dolor y sangramiento intenso pudiendo ser la principal molestia durante la masticación y de este modo provocar una disminución en la ingesta de alimentos, alterando la nutrición del individuo. Una de las características que la diferencian de la Gingivitis Crónica (Gingivitis convencional), es que el EGL no responde a la terapia periodontal convencional, de remoción de irritantes locales tipo

placa dental y cálculo (AAP, 1996; Mealey, 1996; Hidalgo, 1999; Carranza, 2002).

Los diagnósticos diferenciales incluyen, la gingivitis crónica, Liquefación plano bucal, Penfigoide cicatrizal y la gingivitis producto de la trombocitopenia (Narani y col, 2001)

Gingivitis ulcerativa necrotizante

La GUN, anteriormente denominada enfermedad de Vincent, podemos definirla como una enfermedad inflamatoria destructiva de la encía, la cual se presenta clínicamente con depresiones crateriformes en las crestas de las papilas interdentes (papilas truncadas), que se pueden extender hacia la encía marginal. La superficie de las papilas se encuentra recubierta de una pseudomembrana de color amarillo-grisáceo, aunque en ocasiones las lesiones carecen de ésta, exponiéndose el margen gingival de color rojo, brillante y hemorrágico. El paciente puede referir un sabor metálico y una cantidad exagerada de saliva espesa. Es un proceso doloroso y puede presentar hemorragia espontánea o al cepillado. Pueden limitarse a un diente, a un grupo de dientes o bien presentarse

en toda la boca, la destrucción tisular está limitada a los tejidos gingivales, por lo que no existe pérdida ósea, ni pérdida de inserción clínica. En los pacientes infectados con el VIH la progresión suele ser más rápida y convertirse en una PUN. La relación existente entre inmunosupresión y GUN no está del todo clara, ya que pacientes con conteo de CD4 inferior o mayor de 400 mm³, pueden presentar igualmente la enfermedad (Holmstrup y Westergaard, 1994; Robinson, 1998; Narani y col, 2001).

Visto al microscopio, las lesiones de GUN exhiben un infiltrado predominantemente neutrófilo polimorfonuclear en las áreas ulceradas y en las zonas más profundas un componente crónico abundante en células plasmáticas y linfocitos, y estudios en microscopía electrónica muestran a microorganismos invadiendo los tejidos (Marsh y Martin, 2000; Carranza, 1998)

Periodontitis ulcerativa necrotizante

Caracterizada por la necrosis del tejido blando, rápida destrucción periodontal y pérdida de hueso a nivel interproximal, presentando cráteres óseos interdentes profundos. Las necrosis se observan en forma de úlceras recubiertas de una pseudomembrana blanco-amarillenta rodeadas de un halo eritematoso, con sangramiento espontáneo, acompañado de un dolor intenso, halitosis y movilidad dentaria, pudiendo llegar a la pérdida de dientes. Es posible encontrar lesiones superficiales y no presentar sacos periodontales, ya que el carácter ulcerativo y necrosante de la lesión gingival destruyen el epitelio de unión, eliminando el mecanismo de profundización del saco. La necrosis puede conducir a la exposición del hueso alveolar con la subsiguiente secuestación ósea. Una de las características para distinguir la PUN, es la destrucción rápida del hueso y de inserción clínica. Su evolución rápida y progresiva puede traer pérdidas mayores del 90% del periodonto de inserción, en un período de 3 a 6 meses. La lesión puede ser localizada, a un grupo de dientes y en casos muy graves generalizarse, del mismo modo en los estados mas avanzados se puede extender a la mucosa alveolar vestibular y mucosa masticatoria palatina

manifestándose entonces como una Estomatitis Necrotizante (Horning y Cohen, 1995; Patton y Mckaig, 1998).

En algunas ocasiones PUN puede estar acompañada de malestar general, linfadenopatía y fiebre. Glick y colaboradores reportaron la incidencia de PUN en pacientes VIH+ en una población de 700 individuos, y sólo el 6,3% la presentaban y su estado inmunológico medido en células T CD4 mostraban cifras menores a 200mm^3 , por lo que sugiere que esta entidad constituye un marcador predictivo de inmunosupresión (Glick y col, 1994).

2.3- MICROBIOLOGÍA Y PATOGÉNESIS DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL ASOCIADA A VIH

Los conocimientos de la microbiología en la etiología, incidencia y progresión de la enfermedad periodontal en individuos infectados con el VIH, en años anteriores se relacionaban con el rol que jugaban las infecciones oportunistas.

Estudios recientes de la flora microbiana en lesiones periodontales de pacientes seropositivos, han confirmado que la prevalencia de las especies periodontopatogénicas más comunes son similares tanto en pacientes VIH+ como en pacientes VIH- , mientras que otros estudios encuentran altos niveles de bacterias periodontopatógenas en contraste con otros reportes de baja incidencia microbiana asociada a enfermedad periodontal en pacientes infectados con el VIH (Moore y col,1993; Tenenbaum y col, 1997; Chattin y col, 1999; Scully y col, 1999; Teanpaisan y col, 2001). No obstante, estudios paralelos encuentran niveles elevados de bacterias oportunistas, hongos y virus asociados con necrosis tisular en la enfermedad periodontal de pacientes VIH/SIDA (Reynolds y col, 1996).

Uno de los agentes infecciosos oportunistas es particularmente *Candida albicans*, la cual se ha encontrado fuertemente asociada a la banda marginal presente en la encía anteriormente descrita como Eritema Gingival Lineal, clasificada recientemente por la Academia Americana de Periodontología como una enfermedad gingival no asociada a placa de origen micótico (Lamster y col, 1997; Lamster y col, 1998; Grbic y col, 1995).

La microflora en el EGL ha sido determinada en algunos estudios, usando cultivos convencionales y técnicas de inmunofluorescencia indirecta, encontrando igualmente periodontopatógenos como *A. actinomycetemcomitans*, *F. nucleatum* y *P. gingivalis* los cuales han sido asociado a gingivitis convencionales. Los resultados del estudio de Velegraki y col en 1999, demostraron mediante cultivos observados al microscopio que, *C. dubliniensis* se encuentra implicada en el EGL de pacientes infectados con el VIH, e inclusive reporta su total remisión cuando se sometieron a terapia antimicótica sistémica (Velegraki y col, 1999).

Las especies de *Candida* pueden no solo estar asociada en el signo clínico del EGL, sino igualmente en la progresión de

otras enfermedades periodontales en pacientes VIH+. Se ha encontrado que invade el tejido blando y de esta manera estar asociada con severidad, reportando su presencia en la placa subgingival (Odden y col, 1994). Estudios recientes han demostrado que especies de *Candida* han sido aisladas de sacos periodontales solamente y no encontrarse en ningún otro lugar de la cavidad bucal (Lamster y col, 1998).

En cuanto a la gingivitis asociada placa y la periodontitis crónica, se ha demostrado que la prevalencia de los mismos periodontopatógenos, son aislados tanto en pacientes VIH- como en individuos seropositivos (Murray, 1994)

La gingivitis ulcerativa necrotizante en pacientes no infectados con el virus, se encuentra asociada con una flora bacteriana diferente a la gingivitis crónica. Los microorganismos pueden observarse invadiendo los tejidos, mostrando un mayor número de espiroquetas (*Treponema* spp.), especies fuso-espiroquetales y un alto número de *P. intermedia*. En los pacientes infectados con el virus vale la pena mencionar, el valor bajo o cambiante de espiroquetas, mostrando la presencia de cocos gram positivos, *C. albicans*, y en algunos casos Citomegalovirus (Narani y Epstein, 2001; Marsh y Martin 2000).

Zambon y col examinaron la microflora subgingival en 50 pacientes seropositivos, con diferentes tipos de enfermedad periodontal (EGL, PUN, GUN, gingivitis y periodontitis) usando cultivos e inmunofluorescencia. Los resultados revelaron el mismo tipo de microorganismos en pacientes seropositivos con enfermedad periodontal que en los no infectados con VIH. Sin embargo, en el grupo VIH+ se aislaron patógenos inusuales como, *Enterococcus avium*, *Enterococcus faecalis*, *Clostridium clostridiiforme*, *Clostridium difficile* y *Klebsiella pneumoniae*, y en el 62% de los pacientes se detectó *C. albicans* (Zambon, 1996)

En la periodontitis asociada a VIH clasificada por la OMS y EEC como PUN, los hallazgos microbiológicos son similares a los encontrados en el EGL. El grupo de periodontopatógenos conformado por *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *F. nucleatum* y *A. actinomycetemcomitans* son igualmente encontrados, pero acompañado de especies de estreptococos como *S. sanguis* y *S. mitis*, aislando *C. albicans* en grandes cantidades, aunque es *P. intermedia* la especie mas prevalente.

III.- OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1- OBJETIVO GENERAL

Determinar en pacientes VIH+ si existe asociación entre la presencia de los microorganismos periodontopatogénicos, *Prevotella intermedia*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, , *Porphyromona gingivalis*, y las patologías periodontales.

2- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 2.1- Evaluar en pacientes VIH+ la presencia de patologías periodontales.
- 2.2- Determinar la presencia de patógenos periodontales específicos, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia* y *Porphyromona gingivalis*, en pacientes VIH+ y el grupo control.

- 2.3- Determinar la asociación de las patologías periodontales y los microorganismos involucrados con el estado inmunológico del paciente VIH+ y grupo control.
- 2.4- Determinar en pacientes VIH+ y grupo control el índice de placa, índice gingival, profundidad de los surcos gingivales y la pérdida de inserción clínica.
- 2.5- Relacionar los parámetros clínicos periodontales en los pacientes VIH+ con o sin tratamiento antirretroviral.

IV - MATERIALES Y MÉTODOS

1 – MATERIAL BIOLÓGICO

- Muestras de placa dental subgingival tomadas en sacos periodontales de pacientes VIH positivos que acudieron al Servicio de Atención a Pacientes con Enfermedades Infectocontagiosas de la Facultad de Odontología de la Universidad Central de Venezuela.
- Muestras de placa subgingival provenientes de sacos periodontales en pacientes VIH negativos diagnosticados con enfermedad periodontal.

2 – SOLUCIONES

- Solución Salina

- Soluciones Buffer o Tampones

Tampón TBE 10X

- Tris Base: 108 grs
- Ácido Bórico: 27.5 grs
- EDTA pH 8.0: 20 ml
- Agua destilada para completar 1 litro

Tampón TBE 1X

- 100ml Buffer TBE 10X
- Agua destilada para completar 1 litro

- **Bromuro de Etidio**

- Bromuro de Etidio: 10 mg
- Agua destilada: 1ml

- **Agarosa al 3%**

- Agarosa 3 grs
- TBE 1X 100ml

3 – EQUIPOS

- Baño María (Thelco 184)
- Microcentrifugador (Eppendorf 5415C)
- Micropipetas de precisión(Gipson)
- Termociclador(MJ Research PTC-150 Minicycler)
- GenCuant Pharmacia
- Transiluminador (LKB 2011)
- Cámara de electroforesis (Mini Sub-Biorad)
- Fuente de poder (Modelo 200 Biorad)
- Campana de flujo laminar (La vasconia)
- Cámara Kodak

4 - Kit para la identificación de microorganismos causantes de periodontitis por identificación genómica múltiple (PHARMA GEN S.A.).

V – METODOLOGÍA

1.- SELECCIÓN DE PACIENTES

Se estudiaron un grupo de individuos (n=48), los cuales fueron divididos en 2 subgrupos. Un primer subgrupo de pacientes VIH positivos con o sin tratamiento antirretroviral (n=32) con enfermedad periodontal, referidos del Servicio de Atención a Pacientes con Enfermedades Infectocontagiosas, (SAPEI) de la Facultad de Odontología de la Universidad Central de Venezuela y un segundo subgrupo de pacientes VIH negativos (n=16) igualmente con enfermedad periodontal.

Los criterios para la selección de pacientes fueron, la presencia de por lo menos 6 sacos periodontales con profundidad de sondaje mínima de 4 mm con sangramiento al mismo. El criterio de exclusión para los pacientes fue padecer de Diabetes, Hemofilia, Enfermedad Renal y Trastornos Neurológicos. Igualmente no tenían antecedentes de transplantes de órganos y en el caso de

mujeres no estar embarazadas. Del mismo modo, no debían haber recibido ni terapia periodontal, ni antibioticoterapia 3 meses antes de la evaluación clínica.

2.- HISTORIA CLÍNICA

En ambos grupos se realizó una Historia Clínica que incluía:

- a) Anamnesis
- b) Examen clínico de los tejidos blandos y duros de la cavidad bucal.
- c) Examen radiográfico periapical completo con la técnica de cono paralelo.
- d) Determinación del índice de placa dental (Silness y Løe, 1964)
- e) Determinación del índice gingival (Løe, 1967)
- f) Determinación de profundidad al sondaje (Ramfjord, 1967)
- g) Determinación de la pérdida de inserción (Ramfjord, 1967)

2.1 - PARÁMETROS CLÍNICOS PERIODONTALES

2.1.1 Índice de placa dental: éste parámetro permite valorar el espesor de la placa dental en el margen gingival. En este índice se examinaron las superficies distovestibular, vestibular, mesiovestibular y linguales o palatinas de todos los dientes con una sonda periodontal calibrada de William (PQ-OW, Hu-fridey Instrumeent Co) y un espejo bucal, luego de secar con aire los dientes. A diferencia de otros índices no excluye dientes con coronas o restauraciones. El puntaje de cada superficie dentaria examinada será adjudicado de la siguiente manera:

- Ausencia de placa dental en la zona gingival **(0)**
- Placa dental adherida al margen gingival y la región vecina al diente, se reconoce la placa dental solo al pasar una sonda periodontal calibrada de William (PQ-OW, Hu-fridey Instrumeent Co) **(1)**
- Acumulación moderada de placa dental que se puede observar a simple vista **(2)**
- Espesor de placa abundante**(3)**

2.1.2 - Determinación del índice gingival: con este índice se determina la severidad de la inflamación gingival, evaluando cambios de coloración y el sangramiento posterior al sondaje y se califica con los siguientes puntajes:

- Encía normal (No se observan signos de inflamación)(**0**)
- Existe inflamación ligera en el margen gingival, leve cambio de color, edema tenue, pero no hay sangramiento después del sondaje(**1**)
- Inflamación moderada, enrojecimiento, edema y sangramiento después del sondaje(**2**)
- Inflamación intensa, enrojecimiento y edema marcado y sangramiento espontáneo(**3**)

2.1.3.- Profundidad al sondaje: es la medición de la profundidad del surco gingival utilizando una sonda periodontal calibrada de William (PQ-OW, Hu-fridey Instrumeent Co) la cual valora la destrucción del periodonto (Ramfjord, 1967). Se obtiene midiendo la distancia existente desde el margen gingival hasta el fondo del surco o saco, realizadas en seis sitios de cada diente sobre todos

los dientes, excluyendo 3ros molares. Los sitios estudiados fueron; mesio-centro y disto vestibular, mesio-centro y disto lingual/palatino.

2.1.4- Pérdida de inserción clínica: la medición de la pérdida de inserción clínica se realiza con el objeto de establecer la extensión y severidad de la enfermedad periodontal (Ramfjord, 1967). Para medir la extensión de la pérdida de inserción se toma en cuenta un punto fijo, (límite cemento esmalte) hasta la base del saco o surco. Las mediciones fueron realizadas en seis sitios de cada diente sobre todos los dientes, excluyendo 3ros molares. Los sitios estudiados fueron; mesio-centro y disto vestibular, mesio-centro y disto lingual/palatino, con una sonda periodontal calibrada de William (PQ-OW, Hu-fridey Instrumeent Co).

3.- TOMA DE MUESTRA

Para la obtención de las muestras de placa subgingival, se seleccionaron 4 dientes (uno por cuadrante), con sacos no menores de 4mm. La primera opción eran los 1ros molares, de no

estar presentes la segunda opción fueron los 2dos molares, premolares, caninos o incisivos.

Una vez seleccionados los dientes, se colocaron conos de papel estéril #35 durante 10 segundos, en las superficies mesio vestibular, disto vestibular, mesio lingual/palatino y disto lingual/palatino. Posteriormente los 4 conos (por diente), fueron colocados en un tubo de Eppendorf de 1.5ml que contenía 250 μ l de solución de transporte. Se agitaron durante 30 segundos para separar las bacterias adheridas al papel. Las muestras fueron inmediatamente trasladadas al laboratorio.

4.- PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

- Extracción del ADN bacteriano

Una vez tomada la muestra se realizó la extracción del ADN bacteriano, para lo cual se procedió a hervir los tubos con las muestras durante 5 minutos. Al retirar los tubos, se dejaron reposar durante 10 minutos para luego tomar 50 μ l de sobrenadante de cada tubo(4 tubos correspondientes a los 4 dientes seleccionados), y hacer un pool de 200 μ l por paciente. Se le realizó la cuantificación

del ADN posteriormente rotulado y congelado a -70° C hasta la realización del análisis por amplificación genómica.

- Análisis por amplificación genómica múltiple

Se utilizó el kit para la identificación de microorganismos periodontopatogénicos por identificación genómica múltiple que contiene:

- Oligonucleótido común: 5' CGT GCC AGC AGC CGC GGT AAT ACG 3'
- Oligonucleótido *A. actinomycetemcomitans* : AA2(5' CTT TGC ACA TCA GCG TCA GTA CAT CCC CAA GG 3')
- Oligonucleótido *P. intermedia* : BINT(5' TCC GCA TAC GTT GCG TGC ACT CAA G 3')
- Oligonucleótido *P. gingivalis*: BGING (5'TAC ATA GAA GCC CCG AAG GAA GAC G 3')

Se añadieron 10 μ l de ADN extraído de la muestra, al tubo de amplificación que contiene: dNTPs, Taq Polimerasa, MgCl₂, los primers y el control positivo.

Se colocó en el termociclador. Se incluyó para cada serie de muestras un control negativo de amplificación. La amplificación se realiza con los siguientes ciclos de temperaturas:

10 min. 94°C	1 ciclo
1 min. 94°C	
1 min. 70°C	30 ciclos
1 min. 72°C	
10 min. 72°C	1 ciclo

Con los productos de amplificación se realiza una corrida electroforética en un gel de agarosa al 3% , para ello se agregaron 3 µl de buffer de carga + 20 µl de la muestra amplificada. Se utilizó como marcador de peso molecular un ladder de 100pb, luego se tiñe con Bromuro de Etidio. La corrida del gel se realizó a 80V por 1 hora. Posteriormente se visualiza el gel en un trasiluminador con UV, donde se procede al registro fotográfico.

5. - INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

En el gel de Agarosa del producto amplificado pueden aparecer 3 bandas de diferentes tamaños, correspondientes a la amplificación específica de cada uno de los microorganismos:

- <i>Prevotella intermedia</i> :	163 pb
- <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	253 pb
- <i>Porphyromonas gingivalis</i>	527 pb

Además de las tres bandas específicas de cada microorganismo, en todas las muestras aparecerá la banda 1432 pb correspondiente al control positivo de amplificación. La aparición de esta banda significa que la reacción de amplificación ha funcionado adecuadamente. Si esta banda no aparece, la reacción de amplificación está inhibida. De este modo se pueden diferenciar los resultados verdaderamente negativos de los falsos negativos obtenidos por inhibición de la amplificación.

Una muestra será positiva: cuando aparezcan las bandas de amplificación de 163,253 y 527 pb correspondientes a *P. intermedia*, *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* respectivamente.

Una muestra será negativa: cuando solamente aparezca la banda 1432 pb correspondiente al control positivo de amplificación.

Una muestra esta inhibida: cuando no aparezca la banda del control positivo de amplificación y ninguna banda de amplificación específica de los tres microorganismos.

6.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para determinar diferencias entre los grupos control y los pacientes VIH positivo se utilizó el análisis de varianza (ANOVA). Cuando los supuestos de este análisis no se cumplían, se procedió a realizar la ANOVA no paramétrica de Kruskal-Wallis.

Para determinar las relaciones entre las variables se utilizó el índice de similitud de Gower.

Para determinar las diferencias entre los porcentajes se utilizó la prueba de diferencias de proporciones.

Los cálculos de los estadísticos básicos se realizaron con el paquete Excel for Windows XP. Los análisis de varianza (tanto paramétrico como no paramétrico se llevaron a cabo con el paquete estadístico Statistica V 5.5 for Windows, y el cálculo de los índices de Gower se realizó con el paquete MVSP V 3.0 for Windows.

VI – RESULTADOS

Se estudiaron 32 pacientes (n= 32), VIH positivos que presentaban enfermedad periodontal y 16 individuos (n= 16), que constituyeron el grupo control, los cuales eran VIH negativos con evidencia de enfermedad periodontal. El grupo VIH+ estuvo representado por dos grupos; 11 individuos que no recibían tratamiento antirretroviral y 21 pacientes que estaban recibiendo terapia antirretroviral. Se determinaron los parámetros clínicos indicativos de enfermedad periodontal (índice de placa, profundidad de sondaje, índice gingival y pérdida de inserción clínica), y la presencia de los microorganismos *P. gingivalis*, *P. intermedia* y *A. actinomycetemcomitans* en muestras de placa subgingival tomadas tanto del grupo VIH+ como del grupo control.

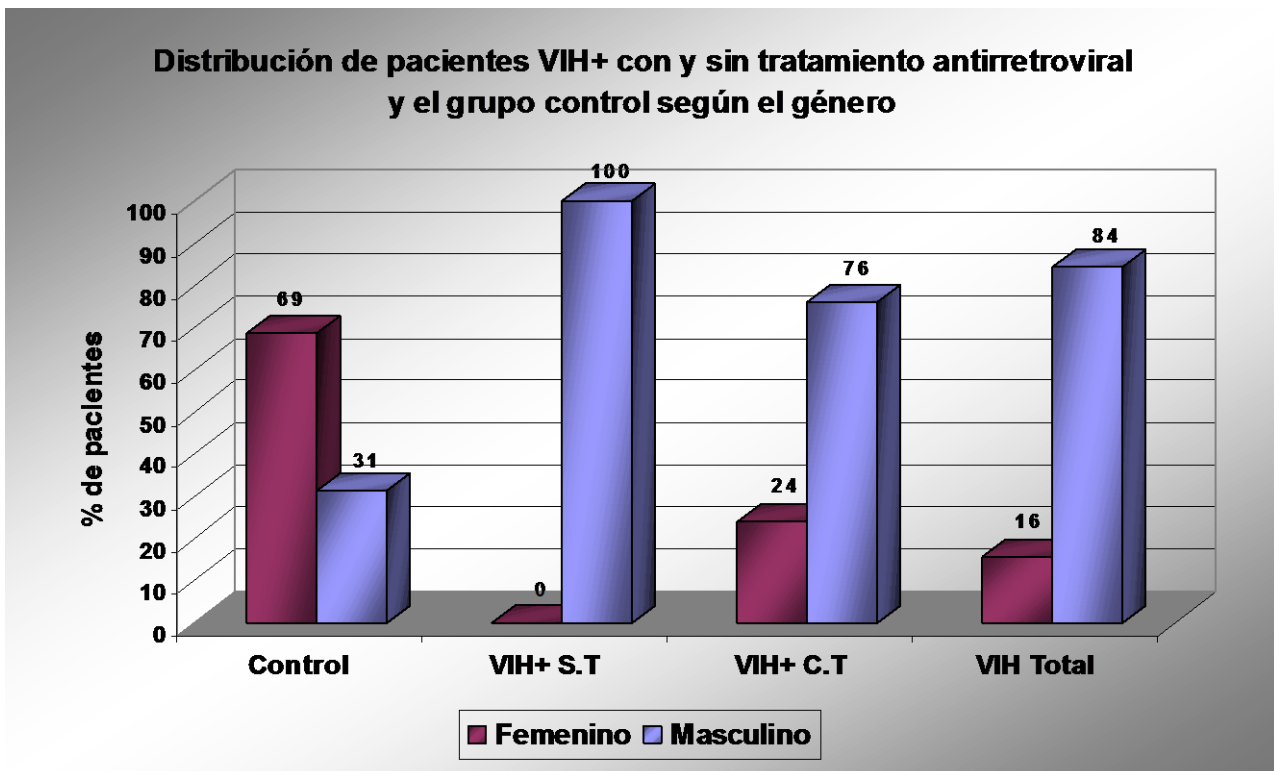
1 – DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES VIH+ CON Y SIN TRATAMIENTO ANTIRETROVIRAL Y GRUPO CONTROL SEGÚN SU GÉNERO:

En el gráfico n° 1 podemos observar que el 84% (27/32) de los pacientes VIH+ que padecían enfermedad periodontal pertenecen al género masculino y el 16% (5/32), al femenino a diferencia del grupo control que presentó un 69% (11/16) de

mujeres con enfermedad periodontal y un 31% (5/16) de hombres.

Al dividir el grupo VIH+ en pacientes que reciben o no drogas antirretrovirales, se observó que de los pacientes en tratamiento el 76% (16 /21) eran masculinos y el 24% (5/21) femeninos. Los pacientes que pertenecían al género masculino y femenino del grupo VIH+ es de 7:1, mientras que en el grupo control es de 1:2.

GRÁFICO N° 1



S.T sin tratamiento
C.T con tratamiento

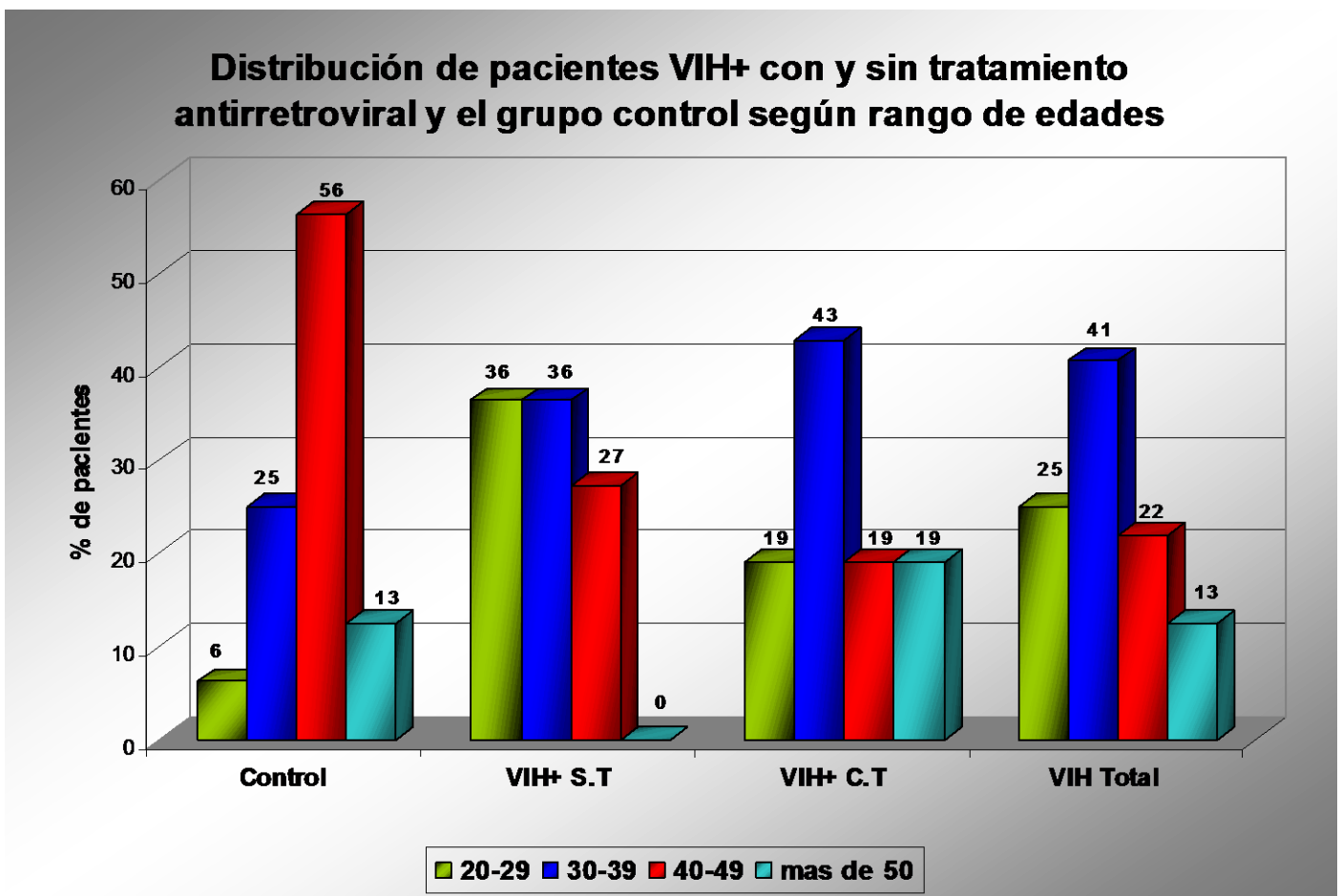
2 - DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES VIH+ CON Y SIN TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL Y EL GRUPO CONTROL SEGÚN RANGO DE EDADES.

Los pacientes VIH+ estudiados presentaron un promedio de edad de 37.09 ± 9.10 años. Al agrupar los individuos por rango de edades, se puede notar que en un mayor número los pacientes VIH+ se ubican en la cuarta década (30-39 años), correspondiendo a 41% (13/32), el 25% (8/32) se encuentran dentro del rango de 20 a 29 años, el 22% (7/32) oscila entre 40 a 49 años, con el menor porcentaje, 13% (4/32) en la sexta década. El grupo control con un promedio de edad de 41.62 ± 8.10 años, incluyó mayor cantidad de pacientes en la quinta década con un 56 % (9/16), seguido de un 25% (4/16), representado por los pacientes que se encuentran en el rango de 30 a 39 años, el 13% (2/16) están agrupados en la sexta década (50-59 años) y el menor porcentaje, 6%(1/16) en la tercera década.

Al analizar los grupos VIH+ con o sin tratamiento antirretroviral por separado, observamos que el mayor número de pacientes, 43% con tratamiento tenían entre 30 y 39 años a diferencia de aquellos que no recibían tratamiento antirretroviral,

que fueron en un 36%, individuos entre la tercera y cuarta década.

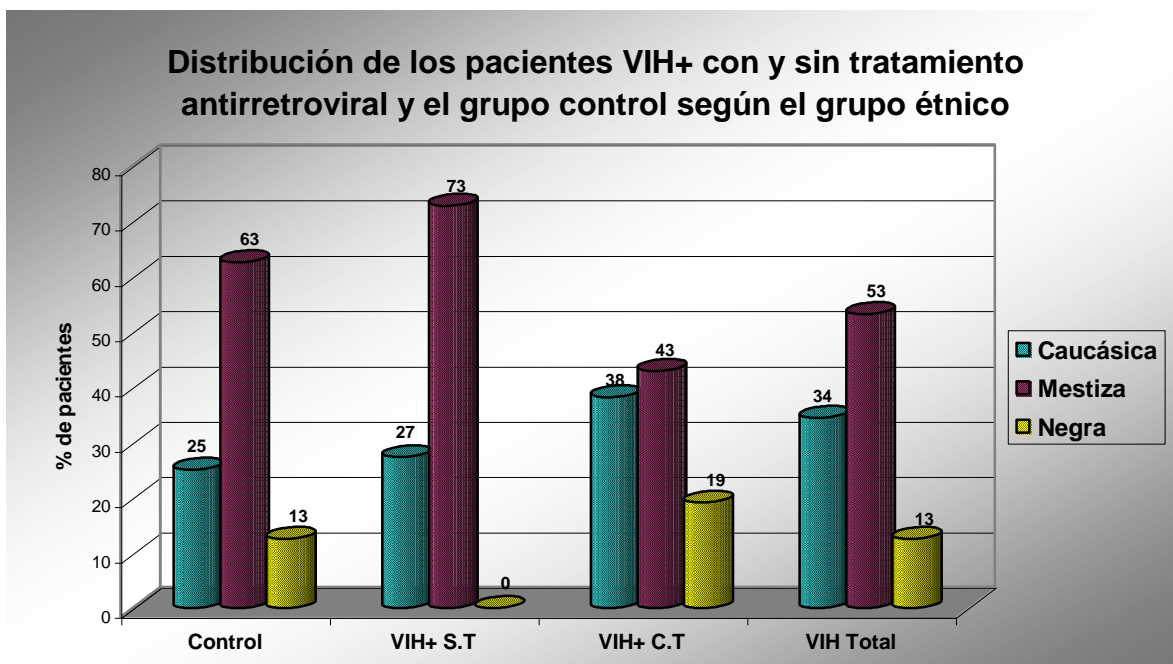
GRAFICO N° 2



3 – DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES VIH+ Y EL GRUPO CONTROL SEGÚN SU GRUPO ÉTNICO.

En cuanto a la afinidad racial, se observó que en todos los individuos estudiados el grupo étnico con mayor prevalencia de la enfermedad fue el mestizo, e incluyó: el grupo VIH+ con un 53%(17/32) seguido de la raza caucásica 34% (11/32), y la negra en un 13% (4/32). Resultados similares se obtuvieron en el grupo control en donde un 63% (9/16) correspondió a los individuos mestizos.

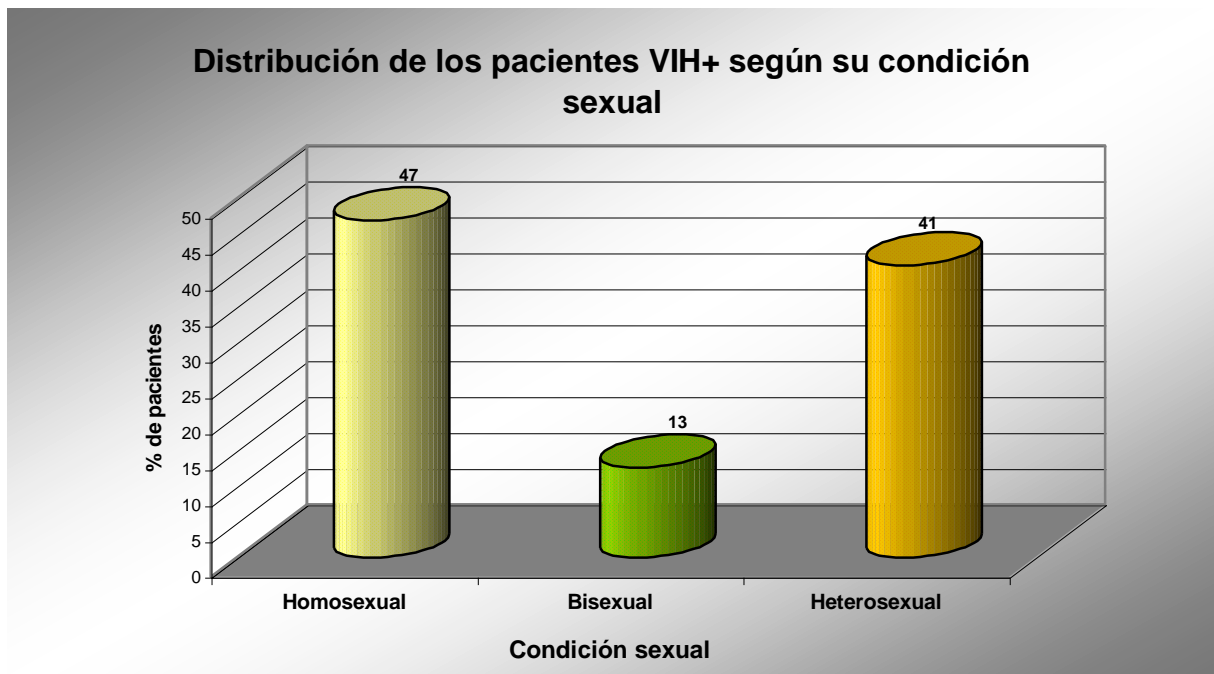
GRÁFICO N° 3



4 - DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES VIH+ SEGÚN SU CONDICIÓN SEXUAL.

Al analizar la condición sexual en los pacientes seropositivos se puede observar, que el 47% (15/32), de los pacientes eran homosexuales y todos pertenecen al sexo masculino; el 41% (13/32), referían ser heterosexuales, correspondiendo 5 al sexo femenino y 8 al sexo masculino y el 13% (4/32) restante pertenecen al grupo de bisexuales, pertenecientes todos al sexo masculino.

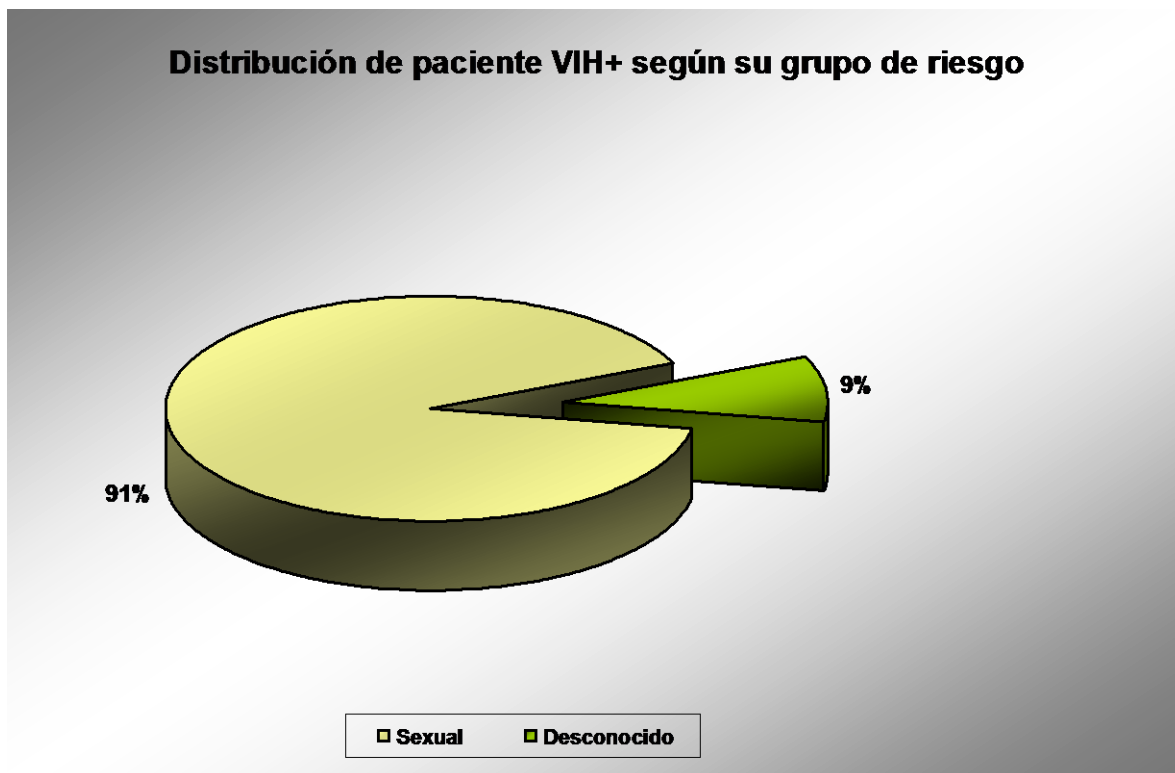
GRÁFICO N° 4



5 – DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES VIH+ SEGÚN GRUPO DE RIESGO

La figura n° 1 muestra que el 91% (29/32) de los pacientes VIH+ adquirieron la infección por vía sexual, en contraste con el 9 % (3/32) de individuos seropositivos que no conoce cual fue su vía de contagio, existiendo una diferencia significativa entre ambos grupos ($p < 0.05$). No se encontró en el grupo de estudio, pacientes infectados mediante el uso de drogas intravenosas, por transfusión sanguínea ni por accidente laboral.

FIGURA N° 1



6 - DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES VIH+ CON Y SIN TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL Y GRUPO CONTROL SEGÚN SU VALOR PROMEDIO DE ÍNDICE DE PLACA DENTAL.

Al evaluar los promedios del índice de placa encontramos que para los pacientes VIH+ con tratamiento antirretroviral, fue de 1.4, el grupo VIH+ sin tratamiento antirretroviral presentó un promedio de 1,5 siendo ligeramente mayor que el observado en el grupo control, en el cual se registró un promedio de índice de placa de 1,2. Se realizó una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis que consiste en comparación de rangos por grupos dando como resultado que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos evaluados.

TABLA N°1

Distribución de pacientes VIH+ con y sin tratamiento antirretroviral y el grupo control según su promedio de índice de placa dental

	n	IP (X±DS)
CONTROL	16	1.2 ± 0.40
VIH+	32	1.4 ± 0.30
VIH+ S.T	11	1.5 ± 0.30
VIH+ C.T	21	1.4 ± 0.40

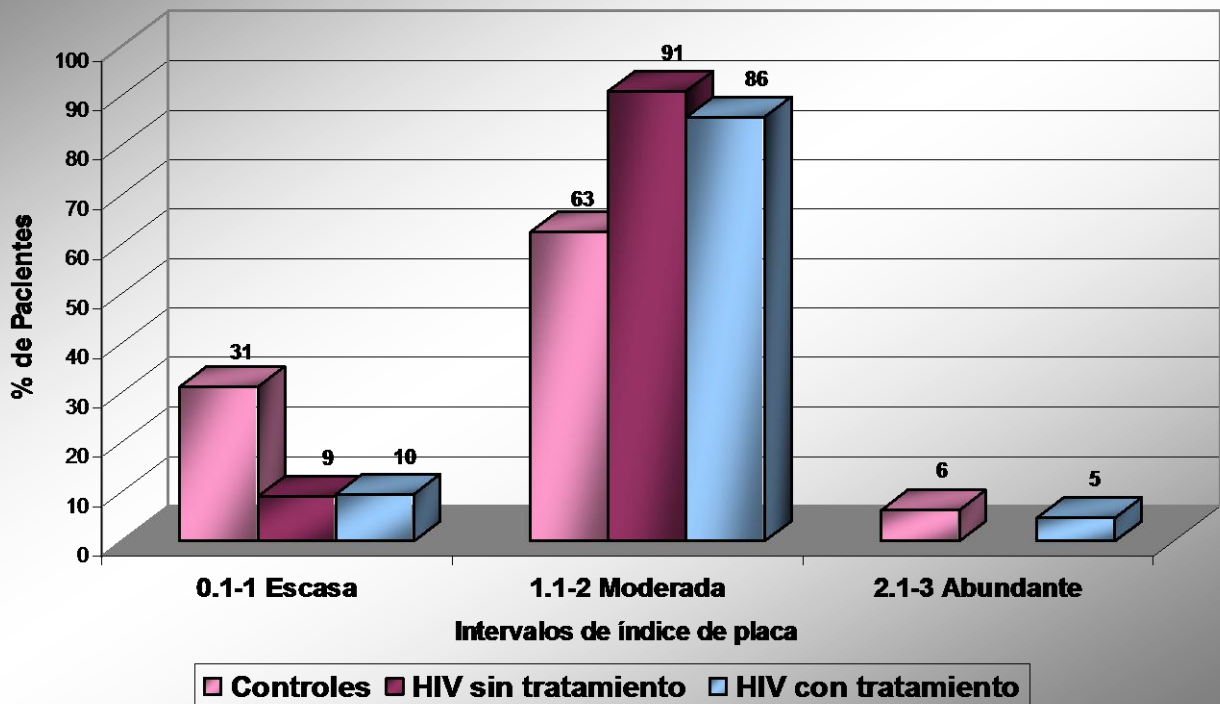
7 - DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES VIH+ CON Y SIN TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL Y GRUPO CONTROL SEGÚN LA PRESENCIA DE PLACA DENTAL.

En el gráfico n° 5 se observa que el 63%(10/16) del grupo control tenían placa moderada, el 31%(5/16) placa escasa y el 6% (1/16) placa abundante. En el grupo VIH+ sin tratamiento antirretroviral el 91% (10/11) presentó placa moderada, el 9% (1/11) tenía placa escasa, y ninguno presentó placa abundante; mientras que aquellos que recibían tratamiento con drogas antirretrovirales el 86% (18/21) tenían placa moderada, el 10% (2/21) placa escasa, y en el 5% (1/21) de estos, se observó abundante placa. Cuando se compararon los pacientes VIH+ con y sin tratamiento antirretroviral que mostraron placa moderada, 86% y 91% respectivamente, con los individuos que presentaron niveles de placa escasa se observan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

Del mismo modo dentro del grupo VIH+ con tratamiento antirretroviral existen diferencias estadísticamente significativas entre el grupo que presentó placa moderada y el que mostró placa abundante ($p < 0.05$).

GRÁFICO N° 5

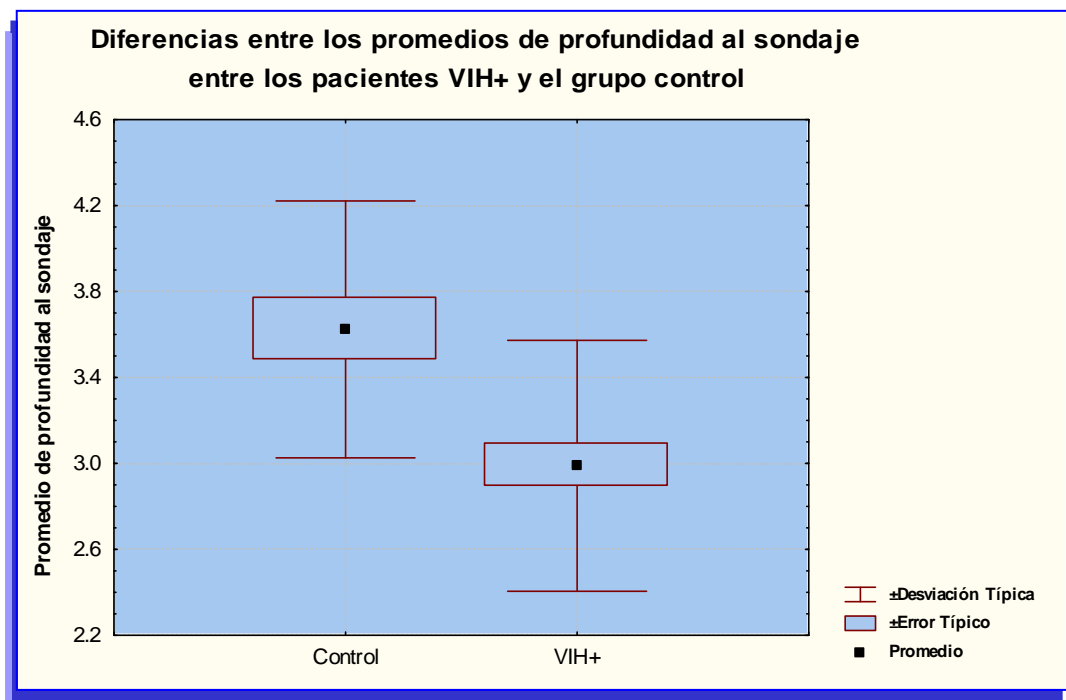
Distribución de pacientes VIH+ con y sin tratamiento antirretroviral y grupo control según la presencia de placa dental



8 – DIFERENCIAS DE LOS PROMEDIOS DE PROFUNDIDAD AL SONDAJE EN LOS PACIENTES VIH+ Y EL GRUPO CONTROL.

En el gráfico n° 6 se puede observar que el mayor promedio de profundidad al sondaje se presentó en los individuos que pertenecen al grupo control (PS= 3,5), en comparación con los pacientes VIH+ , que mostraron un promedio de profundidad al sondaje inferior (PS=3). Se realizó un análisis de varianza no paramétrica de Kruskal Wallis, que mostró diferencias significativas entre el grupo control y el VIH+ ($p < 0.05$).

GRÁFICO N° 6

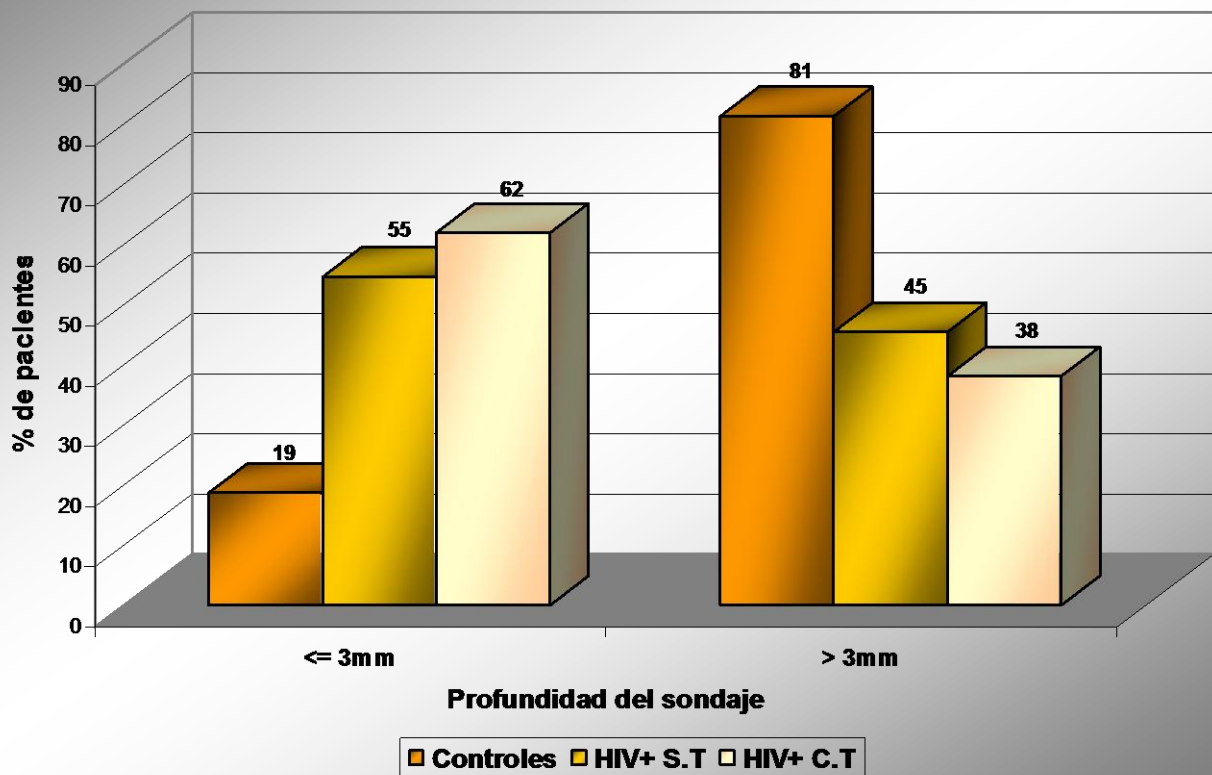


9 - DIFERENCIAS DE LOS PROMEDIOS DE PROFUNDIDAD AL SONDAJE EN LOS PACIENTES VIH+ CON Y SIN TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL Y EL GRUPO CONTROL.

Los resultados de la profundidad al sondaje muestran que el 38% (8/21) de los pacientes VIH+ con tratamiento antirretroviral, tenían un promedio de profundidad al sondaje mayor de 3mm. Los individuos seropositivos sin tratamiento antirretroviral muestran valores >3mm, en un 45% (5/11). El grupo control mostró el mayor porcentaje de pacientes con profundidad al sondaje por encima de 3mm, representando el 81% (13/16), y sólo un 19% de estos mostraron promedios inferiores o igual a 3mm existiendo entre ellos diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Igualmente el porcentaje de pacientes VIH+ que presentaron valores promedios de sondaje menor o igual a 3mm, muestran diferencias estadísticamente significativas con el grupo control ($p < 0.05$).

GRÁFICO N° 7

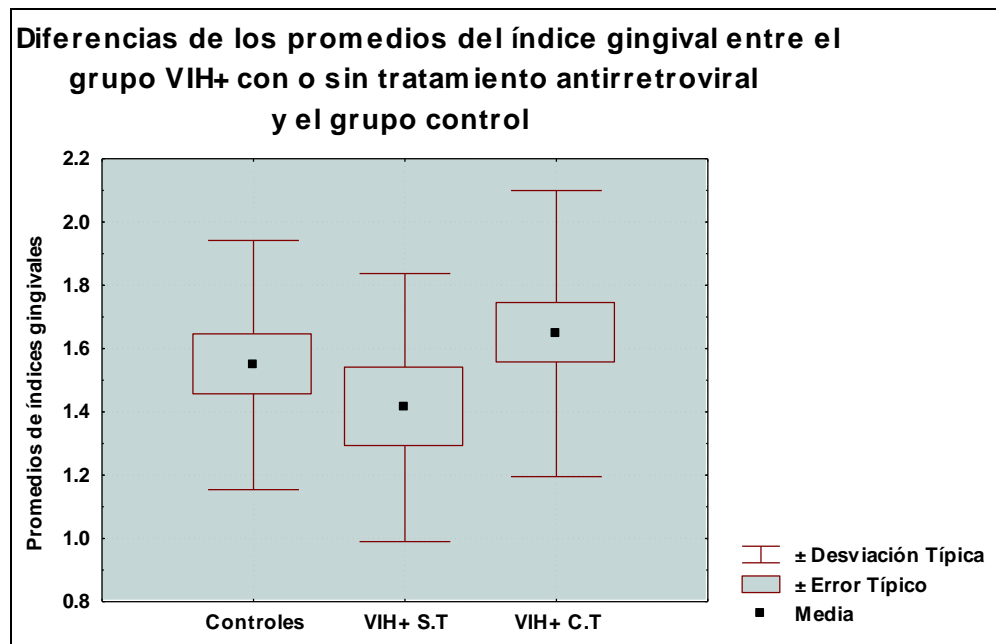
Diferencias de los promedios de profundidad al sondaje en los pacientes VIH+ con y sin tratamiento antirretroviral y el grupo control.



10 - DIFERENCIAS DE LOS PROMEDIOS DEL ÍNDICE GINGIVAL EN LOS PACIENTES VIH+ CON Y SIN TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL Y EL GRUPO CONTROL.

Al evaluar los promedios de los índices gingivales encontramos que el grupo control mostró valores medios de 1.54, el grupo VIH+ sin tratamiento antirretroviral tenía un promedio de 1.45 y en los individuos que estaban bajo terapia antirretroviral fue de 1.64. No se demostraron diferencias estadísticamente significativas en los promedios del índice gingival.

GRÁFICO N°8



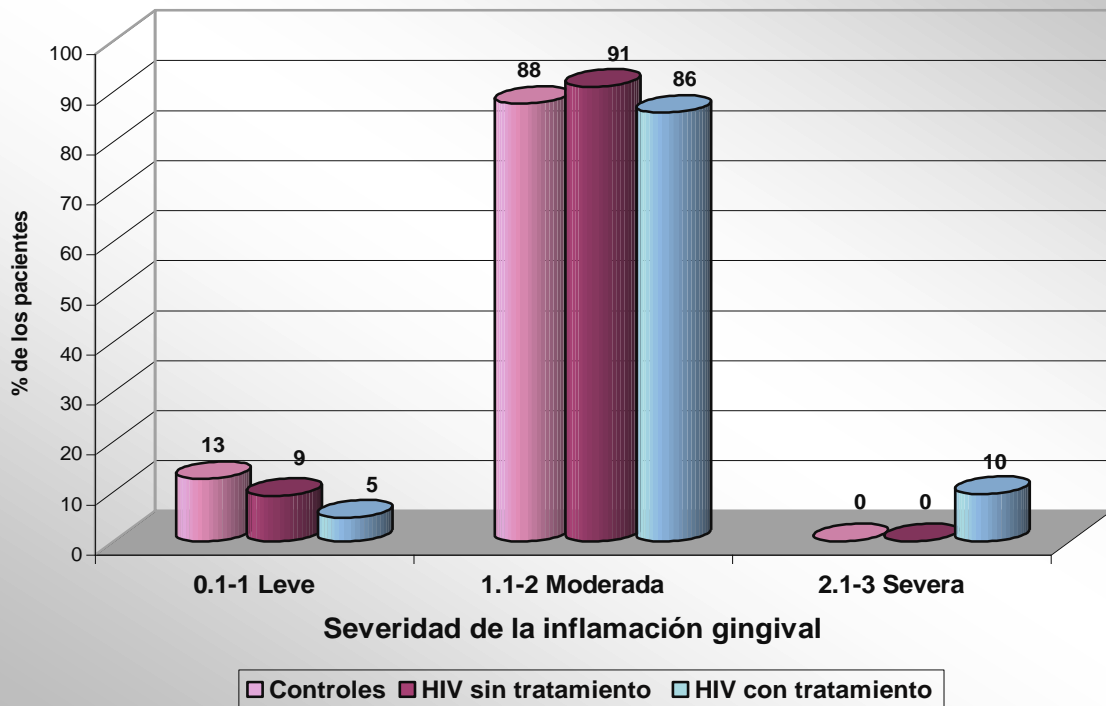
11 – DISTRIBUCIÓN DE LOS PACIENTES VIH+ CON Y SIN TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL Y EL GRUPO CONTROL SEGÚN LA SEVERIDAD DE LA INFLAMACIÓN GINGIVAL.

En el gráfico n° 9 podemos observar que el 88% (14/16) de los individuos del grupo control, el 91% (10/11) de pacientes VIH+ sin tratamiento y el 86% (17/21) VIH+ con tratamiento antirretroviral mostraron inflamación gingival moderada. En el 13% (2/16) del grupo control se evidenció inflamación leve y ausencia de inflamación severa. De los individuos VIH+ que no recibieron terapia antirretroviral sólo el 9% (1/11) presentó inflamación leve, y ninguno manifestó inflamación severa. De los tratados con drogas antirretrovirales el 5%(1/21) presentó inflamación leve y el 10% (2/21) inflamación severa.

Al comparar el total de los pacientes VIH+ y el grupo control con los rangos de severidad de la inflamación gingival, es de notar que su mayoría presentaron inflamación moderada, mostrando diferencias estadísticamente significativas tanto con los que presentaron inflamación leve como con los que manifestaron inflamación severa ($p < 0.05$).

GRÁFICO N° 9

Distribución de los pacientes VIH+ con y sin tratamiento antirretroviral y del grupo control según la severidad de la inflamación gingival



12 – DIFERENCIAS DE LOS PROMEDIOS DE LA PÉRDIDA DE INSERCIÓN CLÍNICA EN LOS PACIENTES VIH+ CON O SIN TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL Y EL GRUPO CONTROL.

En la tabla n° 2 se puede observar que el grupo control presentó promedios de pérdida de inserción clínica ligeramente mayor que el grupo VIH+ con y sin tratamiento antirretroviral. Al realizar una prueba de t de student de dos colas no se observó diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos.

TABLA N°2

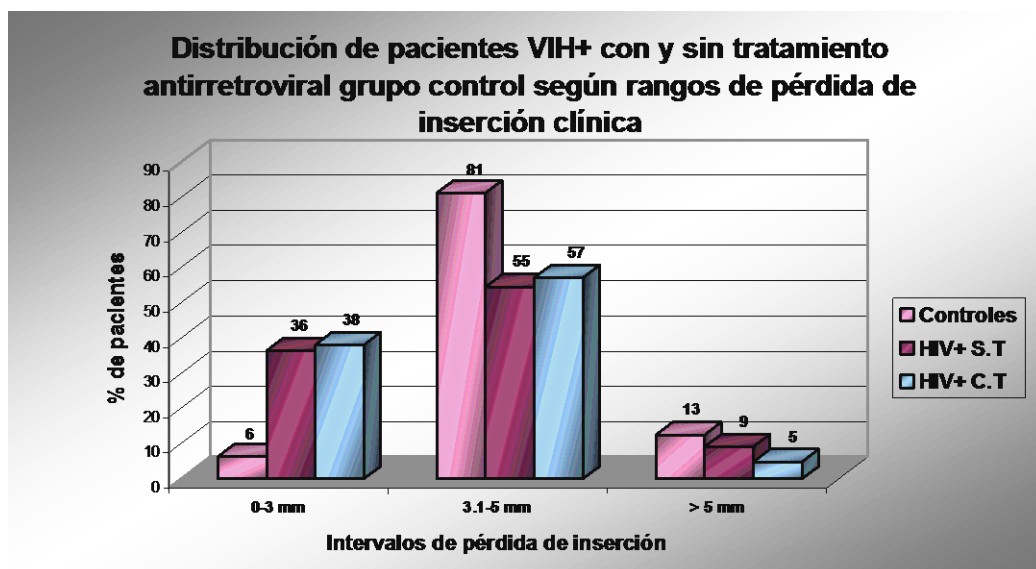
Diferencias entre promedios de la pérdida de inserción clínica en los pacientes VIH+ con y sin tratamiento antirretroviral y el grupo control.

PÉRDIDA DE INSERCIÓN CLÍNICA				
	Controles	HIV+ S.T	HIV+ C.T	HIV TOTAL
Promedio PIC	3.85	3.51	3.31	3.38
Desv. Típica	0.73	2.41	0.68	0.80
n	16	11	21	32

13 - DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES VIH+ CON Y SIN TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL Y GRUPO CONTROL SEGÚN RANGOS DE PÉRDIDA DE INSERCIÓN CLÍNICA.

En relación a los rangos de la pérdida de inserción clínica se demostró que los tres grupos estudiados se encuentran ubicados en mayor porcentaje en el rango de 3.1 a 5 mm, el grupo control incluyó un 81% (13/16), los individuos VIH+ tratados con drogas antirretrovirales el 57% (12/21) y los no tratados el 55% (6/11). A pesar de que no existen diferencias en los rangos presentados por los individuos VIH+ con y sin tratamiento antirretroviral se pudo observar diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y los pacientes VIH+($p < 0.05$).

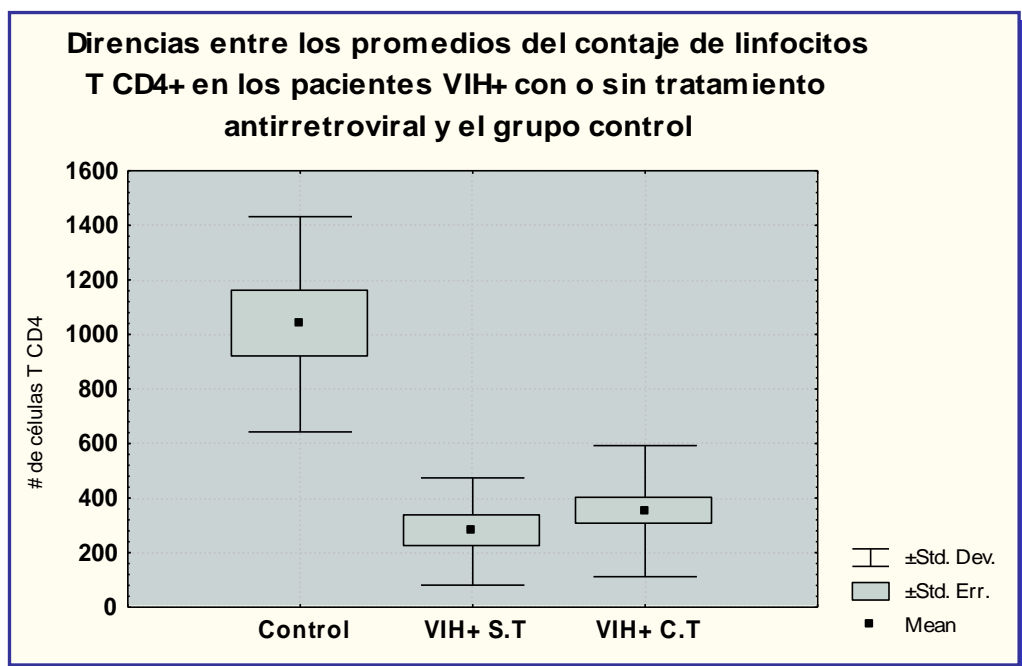
GRÁFICO N° 10



14 – DIFERENCIAS ENTRE LOS PROMEDIOS DEL CONTAJE DE LINFOCITOS T CD4+ EN LOS PACIENTES VIH+ CON O SIN TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL Y EL GRUPO CONTROL.

Al evaluar el número de células T CD4+ ,se puede encontrar que el valor promedio en los pacientes VIH+ sin tratamiento antirretroviral, es de 278 cel/mm³, aquellos individuos VIH+ que se encuentran bajo terapia antirretroviral mostraron un promedio de linfocitos CD4+ de 352 cel/mm³ , en comparación con el grupo control, el cual reflejó índices de CD4+ promedio de 1037 cel/mm³ . Existiendo entre el grupo control y los pacientes VIH+ diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

GRÁFICO N° 11



15 – DISTRIBUCIÓN DE LOS PACIENTES VIH+ CON Y SIN TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL SEGÚN SU CONDICIÓN INMUNOLÓGICA Y SUS ÍNDICES PERIODONTALES.

Al evaluar la subpoblación de células T CD4+ encontramos que el 34% de los pacientes VIH+ se encuentra con valores por debajo de 200 cel/mm³ y con un promedio de 110.63 cel/mm³ el 66% restante con valores por encima de 200 cel/mm³ y un promedio de 436.61 ce/mm³. En el grupo control se observó un promedio de células T CD4+ de 1037 cel/mm³, mostrando una diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$). Al correlacionar la condición inmunológica, con los parámetros clínicos periodontales, observamos que en los pacientes que mostraron valores inferiores a 200 cel/mm³, su promedio de índice de placa (IP) fue de 1.52, el índice gingival (IG) de 1.49, la profundidad al sondaje (PS) 2.70 y la pérdida de inserción clínica (PIC) de 3.23. El grupo seropositivo con CD4+ superior a 200 cel/mm³ presentó un promedio de IP inferior, 1.35 y los valores de IG, PS y PIC ligeramente superior, al igual que el grupo control que presentó un IP de 1.22, siendo menor en comparación con los individuos VIH+ con y sin tratamiento antirretroviral y un IG, PS y PIC superior, sin observarse diferencias estadísticamente significativas.

TABLA N° 3

Distribución de los pacientes VIH+ con y sin tratamiento antirretroviral y el grupo control según su condición inmunológica y sus índices periodontales

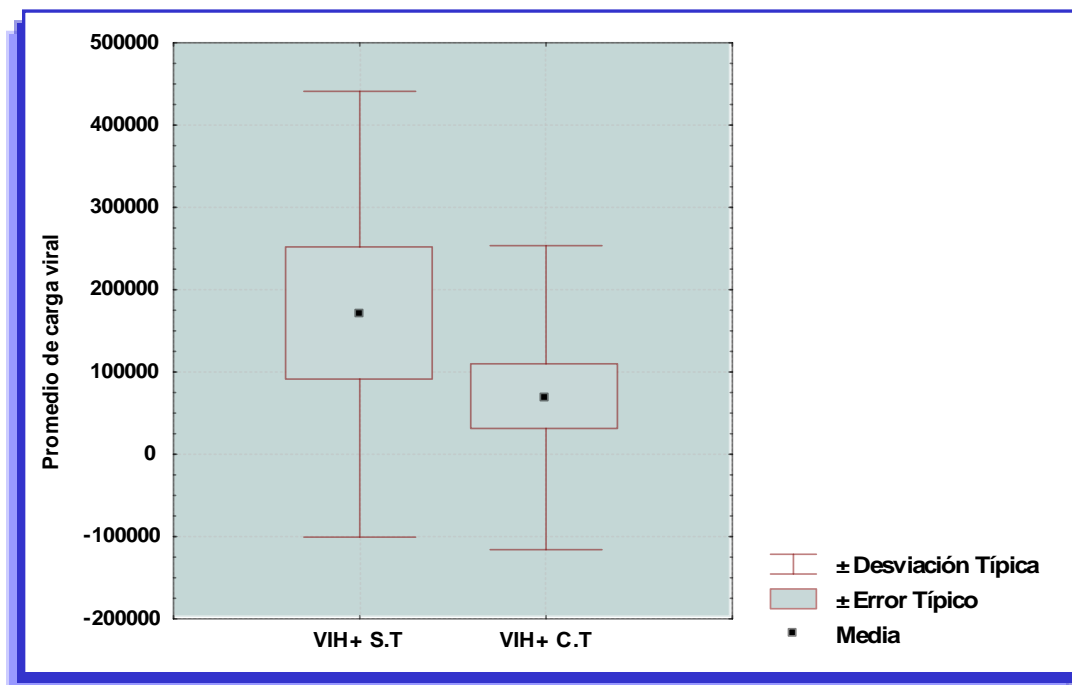
% Pacientes	CD4+ X ± DS	IP	IG	PS	PIC
(34%) <200 CD4+	110.63 ± 58.46	1.52	1.49	2.70	3.23
(66%) >200CD4+	439.61 ± 195.77	1.35	1.61	3.14	3.45
Control 800 – 1200 CD4+	1037 ± 394	1,22	1,55	3,5	3,85

16 - DIFERENCIAS ENTRE LOS PROMEDIOS DE CARGA VIRAL EN LOS PACIENTES VIH+ CON Y SIN TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL

La carga viral en el grupo de pacientes VIH+ sin tratamiento antirretroviral mostró un promedio de 170.190 copias de RNA/mm³ y en los individuos que recibían tratamiento antirretroviral, su promedio de carga viral presentaba valores de 68.850 RNA/mm³ no observándose diferencias estadísticamente significativas entre ambos

GRÁFICO N° 12

Diferencias entre los promedios de carga viral en los pacientes VIH+ con y sin tratamiento antirretroviral

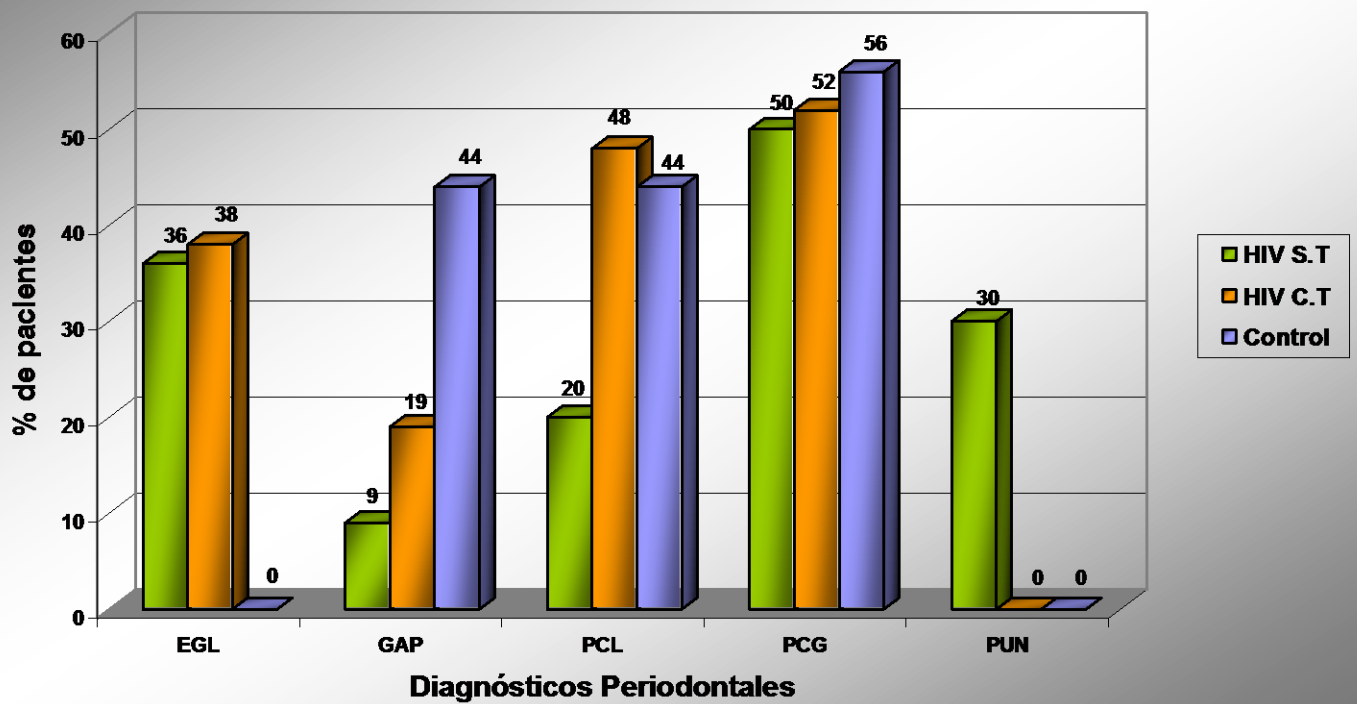


17- DISTRIBUCIÓN DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL EN LOS PACIENTES VIH+ CON Y SIN TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL Y EL GRUPO CONTROL.

Al evaluar la distribución de los diagnósticos periodontales entre los diferentes grupos de estudio, encontramos que en los pacientes VIH+ sin tratamiento antirretroviral, la enfermedad periodontal mas prevalente fue la Periodontitis Crónica Generalizada (PCG) 50%, seguido de Eritema Gingival Lineal (EGL) 36%, Periodontitis Ulcerativa Necrotizante (PUN) 30%, Periodontitis Crónica Localizada (PCL) 20% y por último la Gingivitis Asociada a Placa (GAP) 9%. En los individuos infectados con el VIH tratados con drogas antirretrovirales, la mayor prevalencia fue de PCG (52%) y de PCL (48%), seguida de EGL (38%) y GAP (19%), no presentándose ningún caso de PUN. En el grupo control se observó una mayor prevalencia de PCG (56%), seguido de PCL y GAP, los cuales se presentaron con igual prevalencia (44%). No se observó ningún caso de PUN y EGL en este grupo.

GRÁFICO N° 14.

Distribución de la enfermedad periodontal en los pacientes HIV+ con y sin tratamiento antirretroviral y el grupo control



18 – DIAGNÓSTICOS PERIODONTALES EN PACIENTES VIH+

En la foto n° 1a y 1b se muestran pacientes diagnosticados con Periodontitis Ulcerativa Necrotizante (PUN), observándose cambios de coloración rojo en la encía marginal, recesión generalizada con necrosis de las papila interdental y pérdida de hueso a nivel interproximal, presentando cráteres óseos interdental profundos corroborado por estudio radiográfico. La necrosis se observa en forma de úlceras recubiertas de una pseudomembrana blanco-amarillenta, con sangramiento espontáneo.

La foto n° 2 muestra una vista frontal del sector anterior de un individuo con Eritema gingival lineal el cual se presenta como una banda lineal continua de eritema (rojo intenso) en el margen gingival, la cual afecta, la encía libre y llega a extenderse hasta la encía adherida.

Cabe destacar que los diagnósticos anteriormente señalados solo se presentaron en los pacientes VIH+ y en ninguno de los individuos inmunocompetentes.

DIAGNÓSTICOS PERIODONTALES EN PACIENTES VIH+



Foto n° 1a y 1b Periodontitis Ulcerativa Necrotizante





Foto n° 2 Eritema Gingival Lineal

19 – DIAGNÓSTICOS PERIODONTALES EN LOS PACIENTES DEL GRUPO CONTROL

En la foto n°3, se muestra un paciente que pertenece al grupo control, el cual fue diagnosticado con Periodontitis Crónica. Se observa migración apical de margen gingival, aumento de tamaño y cambio de coloración de la encía marginal y papilar. Este diagnóstico fue corroborado con disminución de la altura ósea observada radiográficamente.

Gingivitis Asociada a Placa en un sujeto del grupo control se muestra en la foto n°4, observándose un cambio de coloración y aumento de tamaño en la encía marginal y papilar.

Es importante señalar que estas patologías periodontales fueron diagnosticadas tanto en los pacientes inmunocompetentes como en los individuos infectados con el VIH.



Foto n° 3. Periodontitis Crónica

Foto n° 4. Gingivitis Asociada a Placa.



20 - RELACIÓN DEL ESTADO INMUNOLÓGICO CON EL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL EN LOS PACIENTES VIH+ DIAGNOSTICADOS CON PERIODONTITIS ULCERATIVA NECROTIZANTE

En la tabla n° 4 se muestra que 1/3 pacientes que fueron diagnosticados con PUN presentó contaje de células CD4+ <200cel/mm³ y 2/3 tenían la subpoblación >200cel/mm³ . Es de hacer notar que ningún paciente estaba bajo terapia antirretroviral. El paciente 1 el cual se encontraba en fase SIDA fue diagnosticado con VIH en el año 1994 (hace 7 años) y en los dos pacientes seropositivos que mostraron niveles de CD4+ >200cel/mm³, el diagnóstico de VIH se realizó recientemente, y fue la Periodontitis ulcerativa necrotizante la primera manifestación sugestiva de la infección por VIH . Al evaluar las copias de carga viral encontramos que 2/3 pacientes tienen una carga alta y 1/3 la presenta indetectable.

TABLA N°4

Relación del estado inmunológico con el tratamiento antirretroviral en los pacientes VIH+ diagnosticados con Periodontitis Ulcerativa Necrotizante

PUN (N=3)	CD4+ cel/mm³	Tratamiento antirretroviral	Carga viral	Fecha de diagnóstico
P 1	25cel/mm³	No	591.000 RNA	1994
P 2	388cel/mm³	No	<400 RNA	2001
P 3	400cel/mm³	No	452.000 RNA	2001

CARGA VIRAL

Indetectable: < 400 copias RNA

Media: 5000 a 10.000

Alta: > 10.000

21 - RELACIÓN DEL ESTADO INMUNOLÓGICO CON EL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL EN LOS PACIENTES VIH+ DIAGNOSTICADOS CON ERITEMA GINGIVAL LINEAL

Al evaluar los pacientes VIH+ diagnosticados con EGL se encontró que 3/12 individuos tenían el conteaje de células T CD4+ < 200 cel/mm³ (SIDA) y 9/12 >200cel/mm³ . Al dividir el grupo en tratados y no tratados con drogas antirretrovirales los pacientes SIDA(1/3) se encuentra bajo terapia y 2/3 no reciben tratamiento. Los sujetos seropositivos 7/9 reciben tratamiento y 2/9 no están bajo ningún protocolo terapéutico.

TABLA N°5

Relación del estado inmunológico con el tratamiento antirretroviral en los pacientes VIH+ diagnosticados con Eritema Gingival Lineal

	N=12	Tratados	No tratados
CD4+ <200cel/mm³	3	1/3	2/3
CD4+ >200cel/mm³	9	7/9	2/9

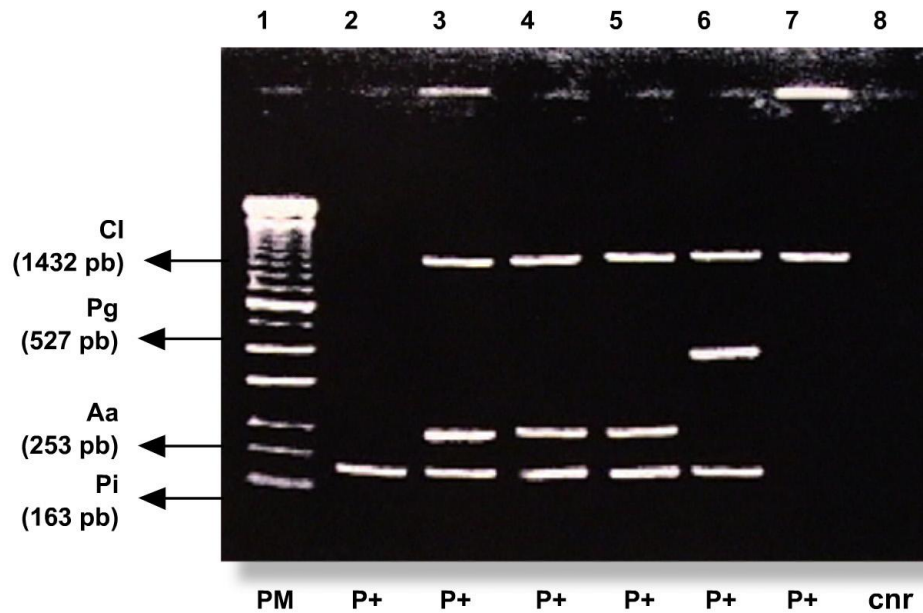
22 – ANÁLISIS MOLECULAR DE LOS MICROORGANISMOS ASOCIADOS A ENFERMEDAD PERIODONTAL MEDIANTE LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR) EN PACIENTES VIH+

En la figura n° 2 se presenta el análisis de las muestras provenientes de pacientes que resultaron positivos para la presencia de microorganismos en donde se detectaron bandas de ADN características de la amplificación de las regiones específicas correspondientes a cada bacteria, si es positiva para *Prevotella intermedia* se marcará la banda de 163 pb, para *Actinobacillus actinomycetemcomitans* la 253 pb y para *Porphyromonas gingivalis* se marcaría la banda 527 pb.

En el carril n° 1 se encuentra el marcador de peso molecular (PM). En el carril n° 2 se puede observar una banda de 163 pb de un paciente positivo para *P. intermedia*; en el n° 3,4 y 5 a pacientes positivos simultáneamente para *A. actinomycetemcomitans* 253 pb y *P. intermedia* 163pb ; y en el carril n° 6 un paciente con coinfección para *P. intermedia* y *P.gingivalis* , mientras que en el carril 7 hay ausencia de ADN asociado a bacterias. En todos los carriles se detectó una banda de 1432 pb correspondiente al control interno de la reacción, la misma no se presentó en el control negativo.

FIGURA N°2

Análisis molecular de los microorganismos asociados a enfermedad periodontal mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en pacientes VIH+



Carril n° 1: Peso Molecular λ ladder (100pb)

“ n° 2: Paciente + para *P. intermedia*

“ n° 3,4y5: Paciente + *A. actinomycetemcomitans* y *P. intermedia*

“ n° 6: Paciente + *P. gingivalis* y *P. intermedia*

“ n° 7: Paciente – ausencia de ADN asociado a bacterias relacionadas con enfermedad periodontal

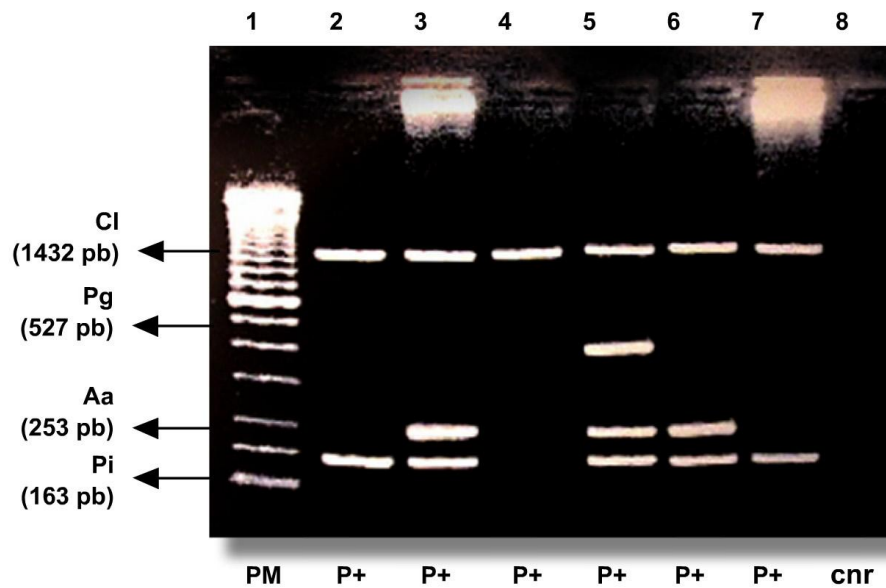
“ n° 8 : cnr (control negativo de reactivos)

23 - ANÁLISIS MOLECULAR DE LOS MICROORGANISMOS ASOCIADOS A ENFERMEDAD PERIODONTAL MEDIANTE LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR) EN EL GRUPO CONTROL

En cuanto a la detección de microorganismos asociados a la enfermedad periodontal mediante PCR en los individuos inmunocompetentes del grupo control se obtuvieron los siguientes resultados; en la figura n°3 se presenta en el carril n°1 el marcador de peso molecular; en los carriles 2 y 7 se observa la banda de 163 pb correspondiente a *P. intermedia*. En los pacientes de los carriles 3 y 6 se detectaron *P. intermedia* 163pb y *A. actinomycetemcomitans* 253pb y en el 5 un paciente con infección mixta (coinfeción) con *P. intermedia*, *A. actinomycetemcomitans* y *P. gingivalis*, mientras que en el carril 4 se presenta un ADN no relacionado para la presencia de bacterias.

FIGURA N° 3

Análisis molecular de los microorganismos asociados a enfermedad periodontal mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en el grupo control



Carril n° 1: Peso Molecular λ ladder (100pb)

“ **n° 2 y 7:** Paciente + *P. intermedia*

“ **n° 3, y 6 :** Paciente + *A. actinomycetemcomitans* y *P. intermedia*

“ **n° 4:** ADN no relacionado, - para la presencia de bacteria

“ **n° 5:** Paciente + *P. gingivalis* , *P. intermedia* y
A actinomycetemcomitans

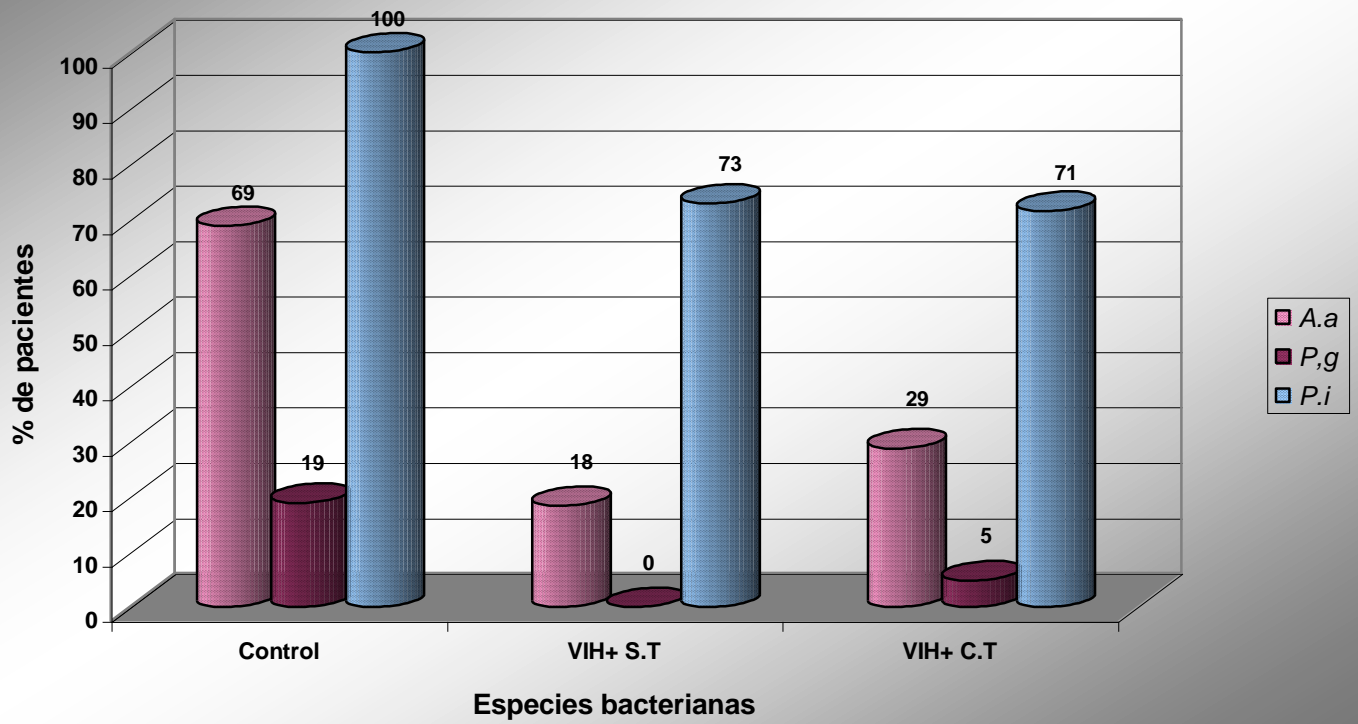
“ **n° 8 :** cnr (control negativo de reactivos)

24 – DISTRIBUCIÓN DE LAS ESPECIES BACTERIANAS EN PACIENTES VIH+ CON O SIN TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL Y EL GRUPO CONTROL.

La detección de bacterias periodontopatogénicas mediante PCR, demostró una mayor prevalencia de *P. intermedia* en los tres grupos, encontrándose en un 71% en los pacientes VIH+ con tratamiento antirretroviral, en un 73% en los individuos VIH+ que no recibían terapia y en un 100% del grupo control. El segundo microorganismo mas prevalente fue *A. actinomycetemcomitans*, el cual se presentó en el 69% de los pacientes del grupo control, el 29% de los VIH+ con tratamiento antirretroviral y en el 18% de aquellos seropositivos que no recibían tratamiento antirretroviral. La bacteria que mostró menor prevalencia fue *P. gingivalis*, la cual se presentó en un 19% de los pacientes del grupo control y en el 5% de aquellos pacientes VIH+ que recibían tratamiento antirretroviral. *P. gingivalis* no se presentó en ningún paciente del grupo VIH+ sin tratamiento antirretroviral.

GRÁFICO N° 13.

Distribución de las especies bacterianas en pacientes VIH+ con o sin tratamiento antirretroviral y grupo control



25- RELACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS PERIODONTOPATOGÉNICOS EN PACIENTES VIH+ Y EL GRUPO CONTROL.

En la presente investigación se demostró una mayor prevalencia de *P. intermedia* en el grupo control (100%), en comparación con los pacientes VIH+ (72%), siendo las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) con un riesgo relativo (RR) de 0.71. Así mismo se observó que en el grupo control existe un mayor porcentaje de pacientes con *A. actinomycetemcomitans* (69%) a diferencia del grupo VIH+ (25%); las diferencias entre los grupos son estadísticamente significativas ($p < 0.05$) (RR=0.36).

No se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos en cuanto a la prevalencia de *P. gingivalis*.

En los individuos VIH+ el microorganismo con mayor prevalencia fue *P. intermedia* (72%) siendo las diferencias estadísticamente significativas entre la prevalencia de *A. actinomycetemcomitans* (25%) ($p < 0.01$) y la de *P. gingivalis* (3%) ($p < 0.01$)

En el grupo control, el microorganismo con mayor prevalencia fue *P. intermedia* (100%) siendo las diferencias estadísticamente con respecto a *A. actinomycetemcomitans* (69%) ($p < 0.05$) y con *P. gingivalis* (19%) ($p < 0.01$).

TABLA N° 6

Prevalencia de bacterias periodontopatogénicas en pacientes VIH+ y el grupo control.

	VIH+ (n=32)			Control (n=16)		
Bacterias	<i>A.a</i> 25% (8/32)	<i>P.g</i> 3% (1/32)	<i>P.i</i> 72% (23/32)	<i>A.a</i> 69% (11/16)	<i>P.g</i> 19% (3/16)	<i>P.i</i> 100% (16/16)

26 - RELACIÓN DE LAS ESPECIES BACTERIANAS CON LA SEVERIDAD DE LA INFLAMACIÓN GINGIVAL Y EL ÍNDICE DE PLACA

En la tabla n°7 es posible observar que *A.a* se identificó en 2 pacientes con placa dental escasa y 4 con placa dental moderada en los VIH+, mientras que el grupo control se encontró en 3 individuos con placa escasa y 7 en placa moderada. *P.g* se identificó en 3 pacientes inmunocompetentes igualmente con placa moderada. El microorganismo mas prevalente en todos los grupos fue *P.i*, encontrándose en 20 pacientes VIH+ y en 10 pacientes del grupo control con placa moderada.

En cuanto a la relación con la severidad de la inflamación gingival todos los microorganismos se encontraron mayormente relacionados con la inflamación moderada y ligeramente con inflamación severa en los pacientes VIH+, a diferencia del grupo control, que aunque se presentaron en su mayoría con inflamación moderada, ninguno se presentó en pacientes con inflamación severa. Estas diferencias no son estadísticamente significativas.

TABLA N° 7

Relación de las especies bacterianas con la severidad de la inflamación gingival y el índice de placa

Bacterias	VIH + (n=32)						Grupo control (n=16)					
	Indice de Placa			Indice Gingival			Indice de Placa			Indice Gingival		
	Esc	Mod	Abund	Leve	Mod	Sev	Esc	Mod	Abund	Leve	Mod	Sev
A.a	2	6	0	0	7	1	3	7	1	1	10	0
P.g	0	0	0	0	1	0	0	3	0	0	3	0
P.i	2	20	1	0	21	2	5	10	1	2	14	0

27 – PRESENCIA DE *A.a*, *P.g* Y *P.i* EN PACIENTES VIH+ Y EL GRUPO CONTROL Y SU RELACIÓN CON LA PROFUNDIDAD AL SONDAJE Y LA PÉRDIDA DE INSERCIÓN CLÍNICA.

En la tabla n° 8 se muestra la relación entre el grupo de bacterias estudiadas y los índices periodontales PS y PIC.

P. intermedia pudo observarse con una prevalencia ligeramente mayor en los individuos con promedios de profundidad al sondaje de ≤ 3 mm tanto en el grupo VIH+ como en el grupo control. En relación a la PIC esta bacteria se encontró con mayor prevalencia en el rango de 3.1-5mm. En la combinación *A.a* + *P.i* el comportamiento fue diferente ya que fue con mayor prevalencia en sondajes > 3 mm y PIC entre 3.1-5mm, en ambos grupos. Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los individuos VIH+ que mostraron PIC 3.1-5mm y 0-3mm ($p < 0.05$)

TABLA N° 8

Presencia de *A.a*, *P.g* y *P.i* en pacientes VIH+ y el grupo control y su relación con la PS y PCI

Bacterias	VIH+ (n=32)					Grupocontrol (n=16)				
	Profundidad al sondaje		Pérdida de inserción clínica			Profundidad al sondaje		Pérdida de inserción clínica		
	≤ 3 mm	> 3 mm	0-3 mm	3.1-5 mm	> 5 mm	≤ 3 mm	> 3 mm	0-3 mm	3.1-5 mm	> 5 mm
P. i	7/15	6/15	5/15	6/15	2/15	3/5	1/5	0	4/5	1/5
A.a + P.i	3/7	6/7	1/7	6/7	0	2/8	7/8	1/8	5/8	1/8
P.g + P.i	0	1/1	0	1/1	0	0	0	0	0	0
A.a + P.i + P.g	0	0	0	0	0	0	3/3	0	3/3	0

28 - RELACIÓN ENTRE LAS ESPECIES BACTERIANAS Y LOS DIAGNÓSTICOS PERIODONTALES EN LOS PACIENTES VIH+ Y EL GRUPO CONTROL.

Al evaluar la relación existente entre los diferentes diagnósticos periodontales en los pacientes VIH+, el grupo control y las diferentes especies bacterianas, es posible observar que *P.i* se presentó solo en 11/29 (38%) de los individuos seropositivos con periodontitis crónica (PC) y en 2/3 (66%) de los pacientes diagnosticados con PUN, y en el grupo control 5/16 (31%) con PC. En los casos de coinfección *A.a* y *P.i*, se encontraron en 5/29 (18%) pacientes con PC y en un solo paciente con PUN en los individuos seropositivos y en el grupo control 7/16 (48%). La asociación *P.g* y *P.i* solo se observó en 1/16 con PC del grupo VIH+ y la coinfección de *P.g*, *P.i* y *A.a* únicamente ocurrió en sujetos con PC del grupo control. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en ningunas de las especies bacterianas asociadas a diagnósticos periodontales.

TABLA N° 9

Relación entre las especies bacterianas y los diagnósticos periodontales en los pacientes VIH+ y el grupo control.

VIH n= 32	Pi	Ac+Pi	Pg+Pi	Ac+Pi+Pg
PC 29	(38%)	(18%)	(3%)	0
PUN 3	(66%)	(33%)	0	0
Control n=16	Pi	Ac+Pi	Pg+Pi	Ac+Pi+Pg
PC 16	(31%)	(48%)	0	(19%)
PUN 0	0	0	0	0

VII – DISCUSIÓN

La presencia de lesiones bucales y peribucales es común en los individuos infectados con el VIH. Más del 95% de los pacientes con SIDA presentan lesiones en la zona de cabeza y cuello, de los cuales un 55% se manifiestan en la cavidad bucal, encontrándose lesiones como el Sarcoma de Kaposi, candidiasis, infecciones recurrentes por el virus del Herpes, leucoplasia vellosa e infecciones por el virus del papiloma humano, así como la presencia de enfermedades periodontales inusuales (Murray, 1994).

Las alteraciones periodontales con frecuencia, preceden a los síntomas clínicos de SIDA y su incidencia, tiene un elevado valor predictivo, que refleja la condición inmunológica del paciente soportada por el recuento de linfocitos CD4+ (Glick y col, 1994). Estas lesiones periodontales varían desde la presencia de un eritema lineal en el margen gingival, hasta formas severas de gingivitis ulcero necrosantes. Afecciones periodontales que se presentan de manera localizada en sujetos sanos, en pacientes VIH+ pueden observarse en formas más agudas y destructivas que se diseminan rápidamente a los tejidos adyacentes y pueden invadir hasta el hueso (Winkler y

col, 1992). Debido al carácter no invasivo del examen periodontal, su papel en la valoración clínica no debe ser desestimado.

La prevalencia de las lesiones periodontales asociadas al VIH ha sido controversial, ya que los datos reportados en la literatura varían dependiendo del diseño de cada uno de los estudios. Los primeros resultados fueron obtenidos de pacientes que acudían a los centros de atención odontológica en búsqueda de tratamiento, razón por la cual estos datos sobrestimaban la prevalencia (Winkler y col, 1988). Para otras investigaciones los criterios diagnósticos no estaban bien definidos y factores como la edad, estado inmunológico, el uso de terapia antirretroviral, antimicóticos y antibióticos no fueron claramente establecidos (Murray,1994). Adicionalmente, aspectos como la relación existente entre enfermedad periodontal y conteo de células T CD4+ y CD8+, aún no están bien esclarecidas, aunque varios investigadores coinciden, en que existe una asociación significativa entre las alteraciones periodontales y la inmunodeficiencia por VIH (Melnik y col,1989; Rowland y col 1993). Sin embargo, otros refieren que existe poca o ninguna diferencia en la prevalencia de la enfermedad periodontal en esta

población seropositiva cuyo sistema de defensa se encuentra inmunocomprometido (Phelan y col, 1987; Riley y col, 1992).

La microbiología asociada a la enfermedad periodontal en los individuos infectados con el VIH, ha evidenciado la existencia de especies ya descritas para la periodontitis crónica en pacientes no infectados con el virus. Sin embargo, es posible establecer algunas diferencias sugeridas por los investigadores en cuanto a la actividad de la microbiota en la enfermedad periodontal presente en estos individuos. *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *E. nucleatum*, *E. corrodens*, *A. actinomycetemcomitans* y Espiroquetas, así como especies de *Cándida* y otros microorganismos oportunistas, se han relacionado con estas patologías y han tratado de explicar el comportamiento clínico de las mismas.

Diferentes técnicas para la detección de microorganismos periodontopatogénicos incluidos el microscopio directo, cultivos, pruebas enzimáticas y de ADN, inmunofluorescencia indirecta y PCR entre otras, se han empleado para determinar la presencia de los mismos en placa dental.

Los patógenos periodontales son en su mayoría bacterias anaerobias y resulta difícil poder cultivarlas por métodos microbiológicos tradicionales sin contar que los métodos de cultivo son lentos y costosos. Durante los últimos años, con el avance de la Biología Molecular se ha desarrollado también un sistema de detección basado en la técnica de hibridación molecular con sondas de ADN, el cual resulta más rápido que el cultivo, pero puede presentar problemas de especificidad, dando falsos positivos por reacción cruzada con bacterias estrechamente relacionadas con los patógenos periodontales.

Recientemente se ha diseñado un sistema de detección mas rápido, sensible y específico que los mencionados anteriormente, el cual se basa en la técnica de Biología Molecular conocida como amplificación génica por PCR, la cual permite detectar y amplificar una zona específica del ADN de cada una de las bacterias, visualizándose el resultado de manera simple y rápida, considerándose muy sensible y altamente específica (Eick y col, 2002; García y col, 1998).

Esta investigación permitió la aplicación de técnicas de avanzada para la detección de bacterias periodontopatogénicas como *P. gingivalis* (*P.g*), *A.*

actinomycescomitans (A.a), *P. intermedia* (P.i), utilizando la prueba de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), en pacientes VIH+ y un grupo control negativo al VIH, ambos con enfermedad periodontal. Además de evaluar los parámetros clínicos periodontales, como índice de placa(IP), índice gingival (IG), profundidad al sondaje(PS) y pérdida de inserción clínica (PIC) que conllevan al diagnóstico de las diversas enfermedades periodontales, que presentaron los pacientes infectados con el VIH, y aquellos individuos inmunocompetentes pertenecientes al grupo control.

Con respecto al género de los individuos estudiados se observó que el 84% de los pacientes VIH+ pertenecían al sexo masculino en una proporción de 7:1 con respecto al femenino; resultados opuestos se observaron en el grupo control en donde el 31% correspondían al género masculino, con una proporción de 1:2. Estos datos concuerdan con los reportados por Myint y col en 1999, en donde el 90% de los pacientes VIH+ pertenecían al sexo masculino y el 10% al femenino. Sin embargo, cuando analizaron el grupo control observaron 66% de hombres y un 44% de mujeres, resultados que difieren de los obtenidos en este trabajo aunque el grupo control evaluado por estos autores fueron igualmente pacientes VIH negativos con enfermedad

periodontal. La diferencia de la distribución del género en los individuos del grupo control en este estudio posiblemente se deba a que la población femenina en nuestro país acude con mayor regularidad a la consulta odontológica y pareciera tener un mayor cuidado de su salud bucal.

En cuanto a la condición etaria el grupo VIH+ estuvo conformado por pacientes desde los 21 a 53 años de edad con un promedio de 37.09 ± 9.10 ; y un promedio de edad de 41.62 ± 8.10 en los pacientes del grupo control, con un rango que va desde los 23 a los 54 años de edad. Los resultados coinciden con el trabajo realizado por Persson y col en 1998, en donde el promedio de edad mostrado en los pacientes infectados con el VIH es de 37.1 ± 7.6 y su grupo control de 39.9 ± 5.4 . En este estudio se establecieron los grupos etarios, mostrando que el mayor porcentaje de individuos infectados se encontró en la cuarta década con un 41%, hallazgo similar al obtenido por varios investigadores al reportar que los pacientes VIH+ con enfermedad periodontal se ubican preferentemente entre los 30 y 39 años de edad. (Klein y col, 1991; Hofer y col, 2002). Mientras que al evaluar los grupos etarios en individuos seronegativos, la mayoría se ubicó en la quinta y sexta década, concordando con los resultados reportados por Tanaka y col

2002, quienes encontraron que la prevalencia de enfermedad periodontal era mayor entre la quinta y sexta década. Se ha comprobado que los individuos con enfermedad periodontal se encuentran mayormente entre la quinta y la sexta década de la vida, pero los sujetos infectados por el VIH se ubican en un grupo etario menor, lo que sugiere que posiblemente acuden a consulta odontológica con mas frecuencia que los individuos inmunocompetentes, lo que hace posible un diagnóstico mas temprano.

En los individuos estudiados, el grupo étnico predominante fue el mestizo, tanto para el grupo control como para los pacientes seropositivos en un 63% y 53% respectivamente, seguido de la caucásica y la negra, coincidiendo con el trabajo realizado por Klein y col en 1991 en USA, donde el 72% de los pacientes VIH+ se agrupaban en la etnia mestiza y diferente al de otro grupo de investigadores igualmente realizado en USA (Patton y col, 2000), donde el 42% pertenecían a la raza negra. Cabe destacar que los resultados similares al primer grupo de científicos, puede deberse a que fue realizado en un hospital de Nueva York donde es bien conocido que los habitantes hispanos, integran a un número importante de la población en esa ciudad. La diferencia con el segundo grupo de investigadores pudiera

deberse al criterio utilizado para selección de pacientes, en los cuales no incluyeron sujetos Hispánicos.

La prevalencia y severidad de la enfermedad periodontal que se manifiesta en los pacientes VIH+, ha sido asociada con diferentes variables y una de ellas es el grupo de riesgo y la condición sexual. En este estudio los pacientes que se evaluaron en su mayoría (47%) eran homosexuales, seguido de un 41% de heterosexuales y 13% de bisexuales, mostrando una población donde la vía de transmisión del virus en un 91% fue por contagio sexual mientras que el 9% restante desconoce como fue su vía de contagio. Estudios recientes presentan datos similares en donde la población y grupo de riesgo está principalmente representada por homosexuales (43%) seguida de heterosexuales (31%) siendo la vía de contagio sexual, la más preponderante (Ramírez-Amador y col, 2003; Tsang y col, 1999; Friedman y col, 1991)).

La comparación del estudio, con otras investigaciones resulta difícil, ya que aquellos sujetos que pertenecen al grupo de riesgo de transmisión por inyección de drogas intravenosas, parecieran dar a la enfermedad periodontal en los pacientes seropositivos, una característica diferente en cuanto a la

extensión y severidad de la enfermedad periodontal (Glick y col, 1994). Cabe destacar que la población estudiada no presentó individuos pertenecientes a ese grupo de riesgo.

En cuanto a la medida de la carga vírica en los pacientes infectados con el VIH+, ésta ha demostrado ser una herramienta de gran valor pronóstico en la progresión a SIDA y ha sido utilizado como un marcador en el seguimiento de la terapia antirretroviral. En el presente estudio se realizaron las pruebas para la determinación de las copias de carga viral, observándose valores promedios de 170.190 copias de RNA/mm³ en el grupo VIH+ sin tratamiento antirretroviral y de 68.850 RNA/mm³, en aquellos que recibían terapia antiviral. Estos resultados confirman la relación directa entre el uso de tratamiento antirretroviral y la disminución en circulación de la carga viral, lo cual se demuestra al analizar los datos, donde el grupo VIH+ con tratamiento muestra valores inferiores al grupo sin tratamiento siendo esta diferencia considerable desde el punto de vista clínico.

La característica más representativa en la infección producida por el Virus de Inmunodeficiencia Humana es la gran afinidad que posee por la célula diana que expresa en su

superficie la molécula CD4+. La condición inmunológica del paciente se ve entonces reflejada en una disminución del conteo de linfocitos CD4+, al realizar la cuantificación en sangre periférica. Por ello es importante realizar la prueba de citometría de flujo para determinar el número de células presentes en circulación.

Una disminución en el conteo de células T CD4+ se ha relacionado al grupo de patologías bucales fuertemente asociadas al VIH+, entre las que se encuentran algunas enfermedades periodontales. El valor promedio de células T CD4+ que presentó el grupo control inmunocompetente fue de 1037 cel/mm³, a diferencia de los pacientes VIH+ que estaban bajo terapia antirretroviral que fue de 352 cel/mm³ y de 278 cel/mm³, en aquellos igualmente seropositivos que no recibían tratamiento antirretroviral.

La diferencia tan estrecha entre el grupo tratado y no tratado, pudiera deberse al lapso de tiempo transcurrido desde la inclusión en el protocolo de tratamiento de los individuos que recibían terapia, ya que en este grupo se observan valores muy heterogéneos con cifras altas y muy bajas de conteo de células T CD4+. Resultados similares son reportados en el estudio

realizado recientemente por Myint y col en 1999, quienes señalan que el promedio de células T CD4+ en el grupo VIH+ fue de 305 cel/mm³ . Estos investigadores no realizaron la prueba para el grupo control por considerarla de poca importancia para su estudio.

El examen de los tejidos periodontales resulta indispensable para evaluar la prevalencia, frecuencia y severidad de la enfermedad periodontal en los pacientes estudiados.

El índice de placa dental (IP), nos permite conocer la cantidad de placa presente en la superficie dentaria a nivel del margen gingival. Los individuos VIH+ evaluados presentaron promedios de IP de 1.4 y el grupo control 1.2, observándose una pequeña diferencia entre ambos valores la cual no es estadísticamente significativo, aunque siendo ligeramente mayor el que se observó en el grupo VIH+. Este hallazgo es similar al presentado por Myint y col en el 2000, cuya población estudiada presentó un IP superior en los individuos VIH+ (1.9), que en el grupo control (0.94).

Al dividir el grupo VIH+ en pacientes tratados y no tratados con terapia antirretroviral, los primeros presentaron un IP similar

(1.5) que los no tratados (1.4), no existiendo diferencias entre ambos grupos. Datos semejantes fueron reportados por Yeung y col en 1993 quienes estudiaron a una población VIH+ la cual fue dividida en dos grupos, uno tratado con AZT y otra a la cual se le administró un placebo, no existiendo diferencias en los promedios de IP entre ambos.

Al agrupar a los pacientes en rangos según la presencia de placa dental en escasa, moderada y abundante, se observó un comportamiento similar en los tres grupos estudiados. De esta forma el 91% de los pacientes sin tratamiento, el 86% de los tratados y el 63% del grupo control, presentaron niveles de placa moderada. Sin embargo, Rams y col en 1991 reportaron diferencias importantes entre los IP de pacientes VIH+ y su grupo control, lo cual difiere de la presente investigación, probablemente debido a que su criterio para la selección del grupo control, fue el de incluir una población periodontalmente sana.

Otro de los parámetros clínicos evaluados en este estudio fue la Profundidad al Sondaje (PS), la cual mide la profundidad del surco o saco en mm, y permite valorar la destrucción del periodonto. La población analizada presentó promedios de PS

diferentes, las cuales fueron mayores en el grupo que corresponde a los pacientes inmunocompetentes (3.5mm) en comparación con los individuos inmunosuprimidos (3mm). Esta diferencia fue similar a la reportada por otros investigadores, en donde del mismo modo los promedios de PS para el grupo VIH+ fueron inferiores al control representado por pacientes igualmente inmunocompetentes (Myint y col, 2000; Tenenbaum y col, 1997).

La diferencia con otros estudios se documenta con el reporte publicado por Lamster y col en 1997, quienes encontraron que los promedios de PS para los pacientes VIH positivos eran superiores a los VIH negativos. Sin embargo, también son interesantes los resultados de Gornitsky y col en 1991 en cuyo estudio muestran, que el promedio de PS en pacientes VIH+ se ubicó por debajo de los registrados en el grupo control, aunque las diferencias no fueron significativas; al agrupar a los pacientes por rangos de PS, $>3\text{mm}$ y $\leq 3\text{mm}$ estos mismos autores encontraron que el grupo VIH+ con respecto a este parámetro, concentró el mayor número de pacientes con profundidad de sondaje por encima de 3mm mientras que el grupo control se ubicó mayormente en valores de sacos $\leq 3\text{mm}$, diferente a los resultados evidenciados en el presente estudio,

en donde el comportamiento de la población VIH+ con respecto a este parámetro siempre se mantuvo con valores por debajo del grupo control, tanto en el promedio de PS como cuando se agruparon por rangos.

Esta diferencia entre ambos trabajos puede deberse a que la comparación de los PS en este estudio, es entre pacientes VIH-positivos con periodontitis crónica y PUN y los individuos VIH-negativos con periodontitis crónica, mientras que el estudio de Gornitsky y sus colaboradores, compara pacientes inmunocompetentes con periodontitis crónica e individuos VIH+ con PUN, ya que es lógico pensar que la PUN por ser una entidad mas agresiva que la periodontitis crónica, vamos a obtener valores de PS superiores.

La destrucción del periodonto medida por la pérdida de inserción clínica (PIC), ha sido asociada a la infección por VIH+. Sin embargo, existen controversias entre los diferentes trabajos. Este estudio no encontró diferencias entre los promedios de PIC en los grupos VIH+ con y sin tratamiento antirretroviral y el control, siendo este último el que muestra valores ligeramente superiores, semejantes a los mostrados por Robinson y col en el 2000.

Otros estudios demuestran, que si existe una diferencia entre el comportamiento de la PIC a través del tiempo y que es mayor en los pacientes VIH (Barr y col, 1992; Yeung y col, 1993). Investigadores como Robinson y col en 1996, consideran que tanto el cigarrillo como una higiene bucal deficiente pueden ser un factor de riesgo tan significativo en la PIC, como lo es la inmunosupresión ocurrida en los individuos VIH+. Resulta difícil comparar este trabajo con aquellos donde, los factores de riesgo como el hábito tabáquico, fueron considerados e igualmente realizan un seguimiento de la PIC en el tiempo, lo cual resulta un reto para continuar con el estudio en relación a este parámetro clínico tan importante.

El índice gingival (IG), se utiliza para valorar la prevalencia y gravedad de la inflamación gingival. Para este estudio se tomaron en cuenta tanto los valores promedios de IG, como también los niveles de severidad para lo cual se ubicaron a los individuos en los rangos de inflamación leve moderada y severa dependiendo de su promedio de IG. Los valores obtenidos indican que los tres grupos (VIH+ ST, VIH+ CT y control) mostraron el mismo comportamiento, presentando niveles moderados de inflamación.

En cuanto a los promedios de IG, los pacientes VIH+ que recibían tratamiento antirretroviral presentaron promedios mas elevados(1.64), seguidos del grupo control con promedios ligeramente inferiores (1.54). Pero lo interesante de los resultados obtenidos, radica en que el grupo de pacientes VIH+ sin tratamiento, fue el que obtuvo valores inferiores a los dos grupos anteriores, lo que pareciera sugerir que el grupo VIH+ con tratamiento y el grupo control, presentan un comportamiento parecido en cuanto a la inflamación gingival medida en su promedio y diferentes al VIH+ sin tratamiento, aunque estas diferencias no sean significativas desde el punto de vista estadístico. Los datos anteriores permiten inferir que el tratamiento antirretroviral pudiera influir en el comportamiento de la respuesta inflamatoria de los individuos VIH+, probablemente debido a que el paciente tratado comienza a recuperar progresivamente su condición inmunológica.

Diferentes resultados fueron obtenidos por Yeung en su trabajo realizado en 1993, donde la comparación de los grupos VIH+ y control no mostró diferencias, inclusive cuando compararon los individuos tratados y no tratados. La razón de esta diferencia pudiera ser debida a que los pacientes que participaron en este estudio recibían un esquema terapéutico de

biterapia y triterapia antirretroviral, mientras que en el otro estudio reportado por Yeung y col (1993), los individuos estaban bajo terapia únicamente con AZT.

La inmunosupresión característica de los pacientes VIH+, se refleja en la disminución de la subpoblación de linfocitos T CD4+, lo cual ha sido tema de discusión en el comportamiento de la enfermedad periodontal. La condición inmunológica en la población evaluada, mostró bajo porcentaje de pacientes en fase SIDA(34%) y el comportamiento de los índices periodontales no fue estadísticamente significativo al compararlo con los individuos seropositivos que presentaron el IP ligeramente mas bajo (1.35) con respecto a los pacientes SIDA(1,52). Además los índices (IG, PS y PIC) también fueron mayores que en los sujetos con SIDA.

Aunque los pacientes con contaje de células T CD4+ ≤ 200 cel/mm³ presentaron mas placa dental que los pacientes con contaje CD4+ > 200 cel/mm³, mostraron menor IG, PS y PIC, contrariamente a los pacientes seropositivos, los cuales presentaron menos placa dental y valores de IG, PS y PIC mayor que los pacientes con SIDA. La relación del IP con el resto de los parámetros clínicos periodontales en los pacientes SIDA,

pareciera ser menor que en los pacientes seropositivos. Este hallazgo es similar al reportado por Friedman y col en 1991 quienes refieren que no existen diferencias significativas entre los diferentes parámetros clínicos de los pacientes SIDA y no-SIDA. Mientras que si comparamos los índices por separado, solamente el IG se presenta igual a este estudio mientras que el PS y PIC se mostraron diferentes. En ambos trabajos la inflamación gingival se presentó con valores superiores en los pacientes con $CD4+ > 200 \text{ cel/mm}^3$ (no-SIDA), mientras que en los que tienen mayor inmunosupresión, la inflamación es menor.

Esto nos permite inferir que a menor número de células $CD4+$, la respuesta inflamatoria es menor, siendo esta célula quien tiene la facultad de desencadenar y orquestar la respuesta inmunológica, posterior a la respuesta celular, la cual es desempeñada principalmente por Polimorfonucleares neutrófilos y por los macrófagos.

Al examinar la prevalencia de la enfermedad periodontal en individuos VIH+, la literatura reporta que la infección por el virus resulta un factor de riesgo.

Las enfermedades periodontales asociadas al VIH (EGL, PUN y GUN) se encuentran en la clasificación de la OMS dentro del grupo de Lesiones Fuertemente Asociadas al VIH, aunque la periodontitis crónica y la gingivitis asociada a placa dental pueden del mismo modo presentarse en estos pacientes. Ramírez Amado y col en el 2003, reportan que la prevalencia de la enfermedad periodontal asociada al VIH en una población de 1000 individuos fue de 1.7% correspondiendo 0.9% al EGL, 0.4% a GUN y 0.4% a PUN. Estas cifras podrían explicarse por el hecho de que en estos pacientes, no se evaluó la presencia de algunos de los tipos de enfermedad periodontal y por lo tanto no se determinó la prevalencia de periodontitis crónica ni de gingivitis asociada a placa dental.

Otros estudios evaluando exclusivamente la presencia de estas enfermedades periodontales asociadas a VIH, muestran de forma similar una baja prevalencia; entre estos encontramos el realizado por Patton y col en el 2000 quienes reportaron un 4.8% de GUN y PUN; Palmer en 1996, con 8% de GUN y PUN; Margiotta en 1999 con el 2.9% de EGL, GUN y PUN y Campisi en el 2001 un 4.4% de EGL, GUN y PUN.

En el presente estudio se encontró que las enfermedades periodontales convencionales fueron mas prevalentes que las asociadas a VIH+, es decir, que tanto los pacientes VIH+ con o sin tratamiento antirretroviral como el grupo control presentó un mayor porcentaje de Periodontitis crónica y Gingivitis asociada a placa, aunque también se registró la presencia de enfermedades periodontales fuertemente asociada al VIH+. Es así como, el EGL se presentó en el 38% de los pacientes VIH+ tratados y en el 36% en los no tratados, además el 30% de los pacientes VIH+ sin tratamiento fueron diagnosticados con PUN. No se observó ningún paciente con GUN, y es importante señalar que los pacientes del grupo control no presentaron EGL, GUN o PUN, lo cual es consistente con la aseveración de otros estudios que asociaron estas entidades con el VIH (Zambon y col,1990; Bendick y col 2002) .

Cuando se comparan estos datos con los obtenidos en otras investigaciones, donde los individuos estudiados presentaban algún tipo de enfermedad periodontal, asociada o no al VIH se observaron resultados similares. Holer y col en el 2002 encontraron que entre la prevalencia de las patologías periodontales fuertemente asociadas al VIH el 45% correspondió al EGL y PUN se presentó en un 22%. Al evaluar el grupo control

al igual que en este trabajo, no se encontró pacientes con EGL, PUN y GUN. Martínez-Canut y col en 1996 reportan que el 24% de los pacientes presentó PC, el 21% GAP, 18% EGL y 4.9% PUN, y ninguno diagnosticado con GUN, ligeramente parecido a este estudio.

La diferencia entre los diseños o protocolos de las investigaciones para determinar la prevalencia de la enfermedad periodontal convencional y la asociada a VIH, es lo que dificulta la comparación de los diversos reportes, para definir claramente el comportamiento de esta patología en los individuos infectados con el virus. Lo concluyente en todos los estudios señalados y los resultados obtenidos, hace inferir que existe una estrecha relación entre la presencia de GUN, PUN y EGL y la infección por VIH, ya que independientemente de la prevalencia, lo interesante es que aparecen como manifestaciones bucales de pacientes seropositivos.

Las enfermedades periodontales fuertemente asociadas a VIH se han considerado un marcador predictivo del estado inmunológico de los individuos infectados por el virus. Este trabajo muestra que de los 3 pacientes que presentaron PUN solo 1 de ellos estaba en fase SIDA, por el contrario los dos

restantes tenían su conteaje de células CD4+ por encima de 200cel/mm³ y ninguno de ellos estaba bajo terapia antirretroviral. Lo cual resulta diferente al trabajo publicado por Glick y col en 1994 donde la mayor población de pacientes con CD4+ inferior a 200cel/mm³ presentaron PUN. Sin embargo, una de las conclusiones importantes a la que los autores llegaron, es que el cigarrillo resultó un factor de riesgo a considerar en esta patología. Contrariamente Swango y col (1996), no encuentra relación con el grado de inmunosupresión y la aparición de PUN, lo que concuerda con lo obtenido en este trabajo. Cabe destacar que al evaluar la relación de PUN con la terapia antirretroviral, se pudiera sugerir que aquellos pacientes que no son tratados tuvieran mas posibilidades de padecer esta patología, la cual está fuertemente asociada al VIH. Además si se evalúan la cantidad de copias de virus en sangre, igualmente se puede sugerir que aquellos individuos con cargas virales altas, tienden a padecer de PUN. El EGL del mismo modo que PUN, posiblemente no tiene relación con el estado inmunológico. Cuando analizamos los niveles de CD4+ se comportó de igual manera, e inclusive tampoco pareciera tener relación con el tratamiento antirretroviral.

Los microorganismos como agentes etiológicos asociados a la enfermedad periodontal han sido ampliamente estudiados empleando las diferentes técnicas de identificación, entre las que se encuentra la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Esta metodología usada en la presente investigación, nos permite detectar la presencia de las especies bacterianas estudiadas, por ser una prueba específica y altamente sensible.

La diferencia que existe entre la microflora asociada al VIH e individuos inmunocompetentes pareciera no estar completamente dilucidado.

En esta investigación se encontró que *P.i*, *A.a* y *P.g*, se presentan tanto en la periodontitis crónica como en la periodontitis ulcerativa necrotizante, así como también en los pacientes VIH+ y en el grupo control. El microorganismo más prevalente para todos los grupos estudiados fue *P.i* (100% y 72%) seguida de *A.a* (69% y 25%) y *P.g* (19% y 3%); mostrándose valores superiores en el grupo control que en los individuos VIH+ con tratamiento antirretroviral y no tratados. Este hallazgo es similar al mostrado por Zambon y col en 1990, quienes al evaluar una población VIH+ de 32 pacientes con periodontitis crónica,

reportan que el microorganismo mas prevalente fue *P.i* (63%), seguido de *A.a* (34%) y *P.g* (25%). Resulta complejo comparar el comportamiento del grupo control ya que en su evaluación los investigadores utilizaron pacientes diagnosticados con gingivitis y en este estudio el grupo control estaba integrado por individuos con periodontitis crónica.

La prevalencia de *P.i* ha sido estudiada por diversos investigadores, y ha sido asociada a sitios con eritemas, dolor y exudado purulento (Mombelli y col, 1990), con sitios de pérdida ósea (Weeler y col, 1994) y a temperaturas subgingivales altas (Haffajee y Socransky, 1992).

En el estudio realizado se demostró que la presencia de *P.i*, no se relacionó con promedios de PS menores o iguales a 3mm y mayores de 3mm, aunque se observó una ligera prevalencia en sacos menos profundos, tanto en los individuos VIH+ como en el grupo control. Al analizar la asociación de *P.i* con la severidad de la inflamación gingival y el IP, se encontró una relación directa con la presencia de placa dental e inflamación gingival moderada, tanto en pacientes VIH+ como en el grupo control, lo que sugiere que su presencia está vinculada a la cantidad de placa y al grado de inflamación gingival.

Eick y col en el 2002 afirman que *P.i* es mas prevalente en sacos mas profundos, resultados estos diferentes a los obtenido en el presente trabajo, probablemente debido a la diferencia de la técnica empleada para la detección de las bacterias, ya que al utilizar métodos de cultivo, no se puede diferenciar a *P. intermedia* con *P. nigrescens*, obteniéndose una prevalencia superior a la que verdaderamente tiene. En este trabajo, al utilizar el método de PCR para la identificación bacteriana permitió mostrar la prevalencia exacta para *P. intermedia*, ya que este método tiene la capacidad de ser específico para el microorganismo estudiado.

En cuanto a la prevalencia de *A.a*, se pudo encontrar en este trabajo que después de *P.i*, fue la bacteria más prevalente tanto en los individuos VIH+ como en el grupo control, resultados que concuerdan con los publicados por Zambon y col en 1990 pero diferentes a los reportados por Hamlet y col en 2001, quienes señalan que *A.a* fue la más prevalente de las bacterias estudiadas en un grupo de pacientes inmunocompetentes.

La técnica utilizada para la detección *A.a* en estas investigaciones fue diferente, usando inmunofluorescencia y anticuerpos monoclonales respectivamente.

Esta investigación demuestra que *A.a* tiene un comportamiento similar a *P.i*. A pesar de presentarse en un número menor de pacientes, siempre se asoció a un IP moderado y a pacientes con inflamación moderada en los sujetos VIH+ y el grupo control. Tenenbaum y col en 1997, difieren de estos resultados al reportar una mayor prevalencia de *A.a* en los individuos seropositivos y con promedios de sacos inferiores al mostrado en este trabajo.

Las investigaciones acerca de *P.g* han sido muy controversiales, conjuntamente con *B.forsytus* se han asociado a pérdida severa de hueso alveolar con mayor pérdida de inserción clínica (Grossi y col, 1995). Contrariamente se ha aislado en sitios sanos de pacientes VIH-negativos e igualmente en sitios con periodontitis de sujetos VIH-positivos (Gornitsky y col, 1991). El trabajo publicado por Rams y col en 1991, demostró la ausencia de *P.g* en todos los pacientes VIH+. Resultados similares fueron obtenidos en este trabajo, donde se demostró una prevalencia de 3% en los individuos VIH+ y de 19% en el

grupo control. *P.g* se presentó en pacientes con inflamación moderada, PIC > 3.1mm y promedios de PS >3mm. El único paciente VIH+ que presentó *P.g* fue diagnosticado con PUN y mostró un promedio de PS>3mm y PIC>3.1mm.

La coinfección bacteriana que se encontró en esta investigación fue variada. *A.a* se acompañó principalmente con *P.i*, en pacientes con PS> 3mm y con PIC>3.1mm tanto en individuos VIH+ como en el grupo control, destacando que a diferencia de *P.i*, la misma nunca se presentó sola. *P.g* se asoció en coinfección con *P.i* únicamente en un paciente el cual pertenecía al grupo VIH+ sin tratamiento antirretroviral diagnosticado con PUN. La combinación de *P.g*, *A.a* y *P.i* solamente fue detectable en tres pacientes del grupo control con promedios de PS>3mm y una PIC entre 3.1-5mm. No se encontró la coinfección de los tres microorganismos estudiados en los sujetos seropositivos. El trabajo publicado por Hamlet y col en 2001, muestra ligeras concordancias con este estudio, ya que igualmente trata de relacionar las mismas bacterias en coinfección, resultando que el 15% de los sujetos muestran infección con dos bacterias y el 1.5% con las tres bacterias. Solamente se combinaron *P.g* con *P.i* y *A.a* con *P.i*, resultados similares a los encontrados en este estudio, aunque la

evaluación realizada por ellos fue únicamente entre pacientes VIH-negativos.

La relación de las diferentes especies bacterianas evaluadas en esta investigación con los diagnósticos periodontales reportados, demuestra que el 38% de los pacientes VIH+ con PC presentó *P.i* únicamente sin asociación con *A.a* y *P.g*, a diferencia del grupo control donde se observó en un 31% de los casos. Pero al evaluar la presencia de *A.a* con *P.i*, se encontró que el grupo control muestra mayor porcentaje de asociación entre estos dos microorganismos en comparación con los pacientes VIH+.

La coinfección de *P.g* con *P.i* no se encontró en ningún paciente del grupo control con PC y sólo en el 3% de los VIH+ y la detección de las tres especies bacterianas se observó en los pacientes con PC del grupo control en un 18% de los casos.

Es importante destacar que no hubo asociación entre PUN y *P.g*, ya que solo se detectó en sujetos con PC, lo cual se asemeja al trabajo publicado por Griffen y col en 1998, donde la

mayor prevalencia de *P.g* fue en pacientes con periodontitis, seguida de sujetos sanos, y no mostraron ningún caso con PUN.

La presencia de *P.i*, *A.a* y *P.g* tanto en pacientes VIH+ como en los pacientes del grupo control, se registró tanto en pacientes con periodontitis crónica como con PUN., demostrando con ello lo publicado en trabajos desde décadas pasadas, donde concluyen que no existe diferencia entre los microorganismos presentes en pacientes VIH-positivos y sujetos VIH-negativos.

Este estudio permitió conocer el comportamiento de la enfermedad periodontal en la población VIH+ atendida en nuestro Servicio de Atención a pacientes con enfermedades infectocontagiosas de nuestra Facultad. Se pudo establecer cual es la prevalencia de la gingivitis y periodontitis, así como de las patologías periodontales fuertemente asociadas al VIH, tanto en una población que presenta inmunosupresión como en individuos inmunocompetentes.

La infección por VIH hace suponer que al estar frente a una población cuyo sistema de defensa está inmunosuprimido se

puede encontrar una enfermedad periodontal mas agresiva, y severa y un número mayor de bacterias periodontopatógenas asociadas. Al realizar esta investigación se pudo conocer que no había mayor presencia de *A.a*, *P.i* y *P.g* en estos individuos, además que se observó una enfermedad periodontal menos severa en comparación con los sujetos inmunocompetentes, lo que permite sugerir que existen otros factores que pueden influenciar el comportamiento de la enfermedad periodontal en esta población inmunosuprimida.

El análisis de los niveles de CD4 reveló que no existe relación con la prevalencia de PUN y EGL, sin embargo cabe destacar que los individuos que tenían la subpoblación CD4+ por debajo de 200cel/mm³ , aunque tuvieran un IP superior, la inflamación gingival fue menor.

Los resultados obtenidos permiten plantear que la disminución importante de células T CD4+ en los pacientes VIH+ conlleva a una respuesta inflamatoria disminuida debido a que juegan un papel primordial en el desarrollo y regulación de la respuesta inmunológica ante la agresión bacteriana.

Esto pudiera explicar porque la destrucción tisular derivada de la respuesta inmunológica no ocurre de la misma manera en los pacientes VIH+.

En cuanto a la presencia de bacterias periodontopatógenas en los individuos infectados por el VIH, se ha reportado que además de las asociadas a enfermedad periodontal (A.a, P.i, y P.g), existen otros microorganismos que pueden estar presentes en el surco gingival originando competencia en el microambiente local, pudiendo disminuir el número de microorganismos asociados a enfermedad periodontal en estos pacientes como ocurrió en la población estudiada.

Esta investigación realizada en nuestra Facultad por ser pionera en esta área, permite sentar las bases para futuros estudios de la enfermedad periodontal, ya que al evaluar tanto los parámetros clínicos periodontales como la presencia de A.a, P.i y P.g mediante una metodología de avanzada como lo es la prueba de PCR, la estandarización de una técnica de detección de periodontopatógenos altamente específica que permite discriminar entre especies de un mismo género.

Los datos clínicos y microbiológicos obtenidos orientan hacia el establecimiento de una terapia periodontal individualizada en los sujetos VIH+, siendo un aporte importante en beneficio de la salud bucal de estos pacientes tan necesitados de ayuda odontológica general y periodontal. Del mismo modo corrobora la importancia del manejo multidisciplinario de estos pacientes tanto por los Estomatólogos como por los periodoncistas y demás profesionales de la salud bucal y general.

VIII.- CONCLUSIONES

- Los resultados obtenidos en este estudio indican que el comportamiento de los índices periodontales (IG, IP y PIC) entre los pacientes inmunocomprometidos y los pacientes inmunocompetentes son similares, mientras que existen diferencias en cuanto a la profundidad, el cual fue superior en el grupo control.

- En los pacientes VIH, la severidad de la inflamación gingival y el sangramiento al sondaje se relacionaron con la medicación de Terapia Antirretroviral, siendo la respuesta inflamatoria menor en los pacientes sin tratamiento.

- El IG en los pacientes seropositivos y que en los individuos inmunocompetentes. Esto nos permite inferir que a menor número de células CD4+, la respuesta inflamatoria es menor.

- Los microorganismos evaluados (*A.a*, *P.i* y *P.g*) fueron detectados tanto en pacientes infectados por VIH como en los pacientes inmunocompetentes.

- *P.i* se presentó en forma aislada tanto en los pacientes VIH+ como en el grupo control, mostrando mayor prevalencia en los sujetos seropositivos.

- La coinfección *A.a* + *P.i*, se encontró con mayor prevalencia en el grupo control.

- La infección concomitante de *P.g* + *P.i* solo se observó en los pacientes inmunocomprometidos.

- Se observó una ligera prevalencia de *P.i* en profundidades periodontales menores de 3 mm, tanto en los individuos VIH+ como en el grupo control.

- *A.a*, *P.g* y *P.i* se detectó solo en el grupo control.

- Las coinfecciones se ubicaron en los sitios con PIC de 3.1 a 5mm

- La utilización del método de PCR en el presente trabajo permitió distinguir entre las especies *P. intermedia* y *P. nigrescens*, lo cual no se puede realizar con las técnicas convencionales de cultivos.

- Los resultados obtenidos en esta investigación demuestran que la enfermedad periodontal convencional es la forma más prevalente de los grupos estudiados. Se observó una asociación de EGL y PUN, en los pacientes infectados por el VIH, ya que estas patologías periodontales no se presentaron en los individuos inmunocompetentes seleccionados para este estudio.

IX.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- American Academy of Periodontology. Position Paper . Epidemiology of periodontal diseases. J Periodontol 1996; 67: 935-945.
- Ainamo J. Sinificance of epidemiologic research in the understanding of periodontal disease. Scand J Dent Res 1992;100:39-47.
- Armitage GC. Development of classification system for periodontal diseases and conditions. Ann Periodontol 1999;4:1-6.
- Begg MD, Panageas KS, Mitchell-Lewis D, Bucklan RS, Phelan JA, Lamster IB. Oral lesions as markers of severe immunosuppression in HIV-infected homosexual men and injection drugs users. Oral Surg Oral Med Oral Path Oral Radiol End 1996; 82: 276-283.
- Belting CM. A review of the epidemiology of periodontal diseases. J Periodontol 1957;28:37-46.
- Bhat M. Periodontal health of 14 –17 years-old US schoolchildren. J Public Health Dent 1991; 51: 5-11.
- Brian M. Periodontal Implications: Medically Compromised Patients. Ann Periodontol 1996; 1: 256-321.
- Brostrom L, Linder LE, Bergström J. Smoking and crevicular fluid levels of IL-6 and TNF- α in periodontal disease .J Clin Periodontol 1999; 26:352-357
- Burt B. Epidemiology of Periodontal Diseases .J Periodontol 1996;67;935-945.
- Buve A, Rogers MF. Epidemiology. AIDS 1998; 12(Suppl A): S53.
- Campisi G, Pizzo G, Mancuso S, Margiotta V. Gender differences in human immunodeficiency virus-related oral lesions: An Italian study. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2001; 91: 546-551.
- Carr AD, Cooper DA. Primary HIV infection. En: Sande MA, VolverdingPA. The medical manegement of AIDS. WB Saunders Company, Philadelphia, 1997;89 –106.
- Carranza F, Newman M. Periodontología Clínica. Octava edición. México: Mc Graw-Hill Interamericana Editores,SA.1998.

- Caton J, Quiñones C. Etiology of periodontal disease. *Periodontology Current opinion in Dentistry* 1991; 1:17-28.
- CDC. 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adult . *MMWR*1993; 41: 1 – 19.
- CDC. 1995 Case-control study of HIV seroconversion in health-care workers after percutaneous exposure to HIV-infected blood. *MMWR* 1995; 44: 929-933.
- Ceballos-Salobreña A, Gaitán-Cepeda LA, Ceballos-García L, Lezama-del Valle D. Oral lesions in HIV/SIDA patients undergoing highly active antirretroviral treatment including protease inhibitors: A new face of oral AIDS?. *AIDS Patients Care Stds* 2000;14: 627-635.
- Chattin BR, Ishihara K, Okuda K, Hirai Y, Ishikawa T. Specific microbial colonizations in the periodontal sites of HIV-infected subjects. *Microbiol Immunol* 1999;43: 847-852.
- Chiang CP, Chueh LH, Lin SK, Chen MY. Oral manifestations of Human Immunodeficiency Virus-infected patients in Taiwan. *J Formos Med Assoc* 1998; 97(9): 600-605.
- Cullen BR. Does HIV-1 Induce a Change in viral Inicition Rights? *Cell* 1993; 73: 417-420.
- Curtis MA, Kuramitsu HK, Lantz M. Molecular genetics and nomenclature of proteases of *Porphyromonas gingivalis*. *J Periodontol Res* 1999; 34: 464.
- Denninson DK, Smith B, Newland JR. Inmune responsivemess and Guna. *J Dent Res* 1985; 64, Spec Issue: Abstract 204.
- Di Alberti L, Ngui SL, Porter SR, Speight PM, Scully CM, Zakrewska JM, Williams IG, Artese L, Piattelli A, Teo CG. Presence of Human Herpesvirus 8 Variants in the oral tissues of Human Immunodeficiency Virus-Infected Persons. *J Infec Dis* 1997; 175: 703-707.
- Dover JS, Johnson RA. Cutaneous manifestation of human immunodeficiency virus infection. *Arch Dermatol* 1991; 127:1549-1558.
- Drinkard CR, Decher L, Litle JW. Periodontal status of individuals in early stages of human immunodeficiency virus infection. *Community Dent Oral Epidemiol* 1991; 19: 281-285.

- Ec-Clearinghouse on oral problems related to HIV infections and WHO Collaborating Centre on Oral Manifestation of the Immunodeficiency Virus: Classification and diagnostic criteria for oral lesions in HIV infection. J Oral Pathol Med 1993; 22: 289-291.
- Eick S, Pfister W. Comparison of microbial cultivation and a commercial PCR based method for detection of periodontopathogenic species in subgingival plaque samples. J Clin Periodontol 2002; 29:638-644.
- Emingil G, Sukran D, Keskinoglu A, Kütükcüler N, Atilla G. Localized Aggressive Periodontitis in a patient with Type 1 Diabetes Mellitus: A case report. J Periodontol 2001; 72:1265-1270.
- Fleming PL, Ward JW, Karon JM. Declines in AIDS incidence and deaths in the USA: a signal change in the epidemic. AIDS 1998; 12 (suppl): S55.
- García L, Tercero J, Legido B, Ramos J, Alemany J, Sanz M. Rapid detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia* and *Porphyromona gingivalis* by multiplex PCR. J Periodontol Res 1998;33:59-64.
- Genco RJ. Current view of risk factors for periodontal diseases. J Periodontol 1996; 67: 1041-1047.
- Glick M, Muzyka B, Salkin L, Lurie D. Necrotizing Ulcerative Periodontitis: A Marker for Immune Deterioration and predictor for the Diagnosis of AIDS. J Periodontol 1994; 65: 393-397.
- Gornitsky M, Clark C, Siboo R, Amsel R, Iugovaz I, Wooley C, Iuliani N, Chan E. Clinical Documentation and Occurrence of Putative Periodontopathic Bacteria in Human Immunodeficiency Virus-Associated Periodontal Disease. J Periodontol 1991; 62 :576 – 585.
- Gharbia S, Haapasalo M, Shah H, Kotiranta A, Lounatmaa K, Pearce M, Devine, D. Characterization of *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens* Isolates From Periodontic and Endodontic Infections. J Periodontol 1994; 65:56 – 61.
- Grbic JT, Mitchell-Lewis DA, Fine JB. The relationship of candidiasis to linear gingival erythema in HIV-infected homosexual men and parenteral drugs users. J Periodontol 1995;66:30-37.
- Greenspan, JS, Barr CE, Sciubba JJ. Oral manifestations of HIV-infection. Definitions, diagnostic criteria and principles of therapy. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1992; 73:142-144.

- Greenstein G, Hart T. A Critical Assessment of Interleukin-1 Genotyping When Used in a Genetic Susceptibility Test for Severe Chronic Periodontitis. *J Periodontol* 2002;73:231-247.
- Griffen A, Becker M, Lyons S, Moeschberger M y Leys E. Prevalence of *Porphyromonas gingivalis* and periodontal health status. *J Clin Microbiol*, 1998; 36: 3239-3242.
- Grossi S, Genco E, Machtei A, Ho A, Koch G, Dunford R, Zambon J, Hausman. Assessment of Risk for periodontal disease. II. Risk indicator for Alveolar Bone Loss. *Periodontol* 1995;66:23-29.
- Grunfeld C, Schambelam M. The wasting syndrome: pathophysiology and treatment. En: Broder S, Merigan TC, Bolognesi G eds. Text – book AIDS medicine. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994; 637-649.
- Hamada S, Holt SC, Mcghee jr. Periodontal disease: pathogens and host immune responses. Quintessence Publishing Co, 1991.
- Haraszthy V, Hairahan G, Tinoco E, Cortelli J , Lally E, Davis E, Kinane DF, Marshall GJ. Periodontal manifestations of systemic disease. *Aust Dent J* 2001; 46: 2-12.
- Hidalgo R. Enfermedad Periodontal asociada a infección por VIH. Mayo 1999. www.dentalnetmundo.com/foro.
- Ho DD, Neumann AU, Perelson AS, Chen W, Leonard JM, Markowitz M. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* 1995; 373: 123-126.
- Hofer D, Hämmerle G, Lang N. Long-term results of supportive periodontal therapy (SPT) in HIV-seropositive and HIV-seronegative patients. *J Clin Periodontol* 2002; 29: 630-637.
- Holmstrup P, Westergaard J. Periodontal diseases in HIV-infected patients. *J Clin Periodontol* 1994; 21:270-280.
- Horning GM, Cohen ME. Necrotizing ulcerative gingivitis, periodontitis and stomatitis: clinical staging and predisposing factors. *J Periodontol* 1995; 66:990-998.
- Imamura T, Potempa J, Travis. Comparison of pathogenic properties between two types of arginine-specific cysteine proteinases (gingipain-R) from *Porphyromonas gingivalis*. *Microb Pathog* 2000; 29: 155.

- Ippolito G, Puro V, Heptonstall J. Occupational human immunodeficiency virus infection in health care workers: worldwide cases through September 1997. *Clin Infect Dis* 1999; 28: 365-368.
- Jost J, Tauber MG, Luthy R, Siegenthaler W. HIV associated thrombocytopenia. *Schweiz Med Wochenschr* 1988; 118: 206-212.
- Klein R, M Quarta, Butkus C. Periodontal disease in Heterosexuals with Acquired Immunodeficiency Syndrome. *J Periodontol* 1991;62:535-540.
- Kornman K, Loesche W. The subgingival microflora during pregnancy. *J Periodontol Res* 1980; 5: 111-122.
- Lally ET, Keiba IR, Sato A. Rtx toxins recognize a beta2 integrin on the surface of human target cells. *J Biol Chem* 1997;272: 30463.
- Lamster IB, Grbic JT, Bucklan RS, Mitchell-Lewis D, Reynolds HS, Zambon JJ. Epidemiology and diagnosis of HIV-associated periodontal diseases. *Oral Dis* 1997; 3: 141-148.
- Lamster IB, Grbic JT, Mitchell-Lewis DA, Begg MD, Mitchell A. New concepts regarding the pathogenesis of periodontal disease in HIV infection. *Ann Periodontol* 1998; 3: 62-75.
- Levy JA. Pathogenesis of Human Immunodeficiency Virus Infection. *Microbiological Rev* 1993; 57: 183-289.
- Lim AA, Leo YS, Lee CC, Robinson AN. Oral manifestations of human immunodeficiency virus(HIV)-infected patients in Singapore. *Ann Acad Med Singapore* 2001; 30(6) : 600-606.
- Lindhe J. *Periodontología Clínica e Implantología Odontológica*. Tercera edición. Madrid: Editorial Médica Panamericana S.A. 2000.
- Listgarten M . Microbiological Testing in the Diagnosis of Periodontal Disease. *J Periodontol*1992; 63: 332-337.
- Leknes KN. The Influence of Anatomic and Iatrogenic Root Surface Characteristics on Bacterial Colonization and Periodontal Destruction: A review. *J Periodontol* 1997;68:507-516.
- Loe H. The Gingival Index, the Plaque Index and the Retention Index systems. *J periodontol* 1967; 38: 610-615.
- Loesche W, Syed SA, Schmidt E, Morrison EC. Bacterial Profiles of Subgingival Plaques in Periodontitis *J Periodontol* 1985;Aug:447-456.

- Lot F, Segulier J-C, Fegueux S. Probable transmission of HIV from an orthopedic surgeon to a patient in France. *Ann Intern Med* 1999; 130: 1-4.
- Marsh P, Martin M. *Oral Microbiology*. Fourth Edition Great Britain Planta tree, 2000.
- Masouredis CM, Katz MH, Greenspan D. Prevalence of HIV-associated periodontitis and gingivitis in HIV-infected patients attending an AIDS clinic. *J Acquir Defic Syndr* 1992; 5: 479-483.
- Maticic m, Poljak m, Kramar B. Proviral HIV-1 DNA in gingival crevicular fluid of HIV-1-Infected patients in various stage of HIV disease. *J Dental res* 2000;79:1496-1501.
- Mccune JM. Viral latency in HIV disease. *Cell* 1995; 82: 183-188.
- Mealey BL. Periodontal implications: medically compromised patients. *Ann Periodontol* 1996; 1: 256-321.
- Mellors JW, Rinaldo CR, Gupta P. Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma. *Science* 1996; 272:1167,1170.
- Melnik SL, Engel D, Truelove E et al. Oral mucosal lesions: association with the presence of antibodies to the human immunodeficiency virus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1989; 68:37-43.
- Melnick SL, Nowjack-Raymer R, Kleinman DV, Swango PA. Manual para los estudios epidemiológicos sobre las manifestaciones orales de la infección por el VIH. Ginebra: Organización Mundial de la Salud.1994.
- Minami I, Susoki A, Kawabata K, Nagashima S, Morisaki I, Ooshima T. Alveolar Bone Loss in Rats infected with a Strain of *P. intermedia* and *F. nucleatum* Isolated From a Child with Prepuberal Periodontitis. *J Periodontol* 1997; 68: 12-17.
- Moore PS, Chang Y. Detection of herpesvirus-like DNA sequences in Kaposi's sarcoma in patients with and those without HIV infection. *N Engl J Med* 1995; 332: 1181-1185.
- Moore LV, Moore WE, Riley C, Brooks CN, Burmeister JA, Smibert RM. Periodontal microflora of HIV-positive subjects with gingivitis or adult periodontitis. *J Periodontol* 1993; 64: 48-56.

- Muller HP, Heinecke A, Fuhrmann A, Eger T, Zoller L. Intraoral distribution of *A. actinomycetemcomitans* in young adults with minimal periodontal disease. *J Periodontol Res* 2001; 36: 114-123.
- Murray PA. Periodontal diseases in patients infected by human immunodeficiency virus. *Periodontol* 2000 1994;6:50-67.
- Myint M, Odden K, Schreurs O, Halstensen T, Schenk K. The gingival plasma cell infiltrate in HIV-positive patients with periodontitis is disorganized. *J Clin Periodontol* 1999;26:358-365.
- Narani N, Epstein JB. Classification of oral lesions in HIV infection. *J Clin Periodontol* 2001; 28:137-145.
- Newman M , Takei H, Carranza F,. *Clinical Periodontology*. Ninth edition. USA W.B. Saunders Company 2002.
- Nittayananta W, Chanowanna N, Winn T, Silpapojakul K, Rodklai A, Jaruratanasirikul S, Liewchanpatana K. Co-existence between oral lesions and opportunistic systemic diseases among HIV-infected subjects in Thailand. *J Oral Pathol Med* 2002; 31(3): 163-168.
- Odden K, Shenck K , Koppang H, Hurlen B. Candidal infection of the gingiva in HIV-infected persons. *J Oral Pathol Med* 1994;23:178-183.
- Oliver R, Brown J, Loe H. Periodontal diseases in the United States population. *J Periodontol* 1998;69:269-278.
- Palmer GD, Robinson PG, Challacombe SI, Birnbaum W, Croser D, Erridge PI, Hodgson T, Lewis D, McLaren A, Zakrzewska JM. Aetiological factor for oral manifestations of HIV. *Oral Dis* 1996;2(3): 193-197.
- Pantaleo G, Fauci AS. New concepts in the immunopathogenesis of HIV infection. *Ann Rev Immunol* 1995; 13: 487-512.
- Pantaleo G, Graziosi C, Fauci AS. The immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection . *New Eng J Med* 1993; 328: 327-335.
- Pantaleo G, Graziosi C, Demarest JF, Butini L, Montroni M, Fox CH. HIV infection is active and progressive in lymphoid tissue during the clinical latent stage of disease. *Nature* 1993; 362: 359-362.
- Pantaleo G . Lymphoid organs function as a major reservoir for human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis*.1993; 13 25-29.

- Papapanou P. Periodontal Disease: Epidemiology Annals of Periodontol 1996: 14-36.
- Patton L, Mckaig R. Rapid progression of bone loss in HIV-Associated Necrotizing Ulcerative Stomatitis. J Periodontol 1998; 69: 710-716.
- Persson R, Hollender L, Persson R. Alveolar bone levels in AIDS and HIV seropositive patients and in control subjects. J Periodontol 1998;69:1056-1061.
- Phelan JA, Saltzman BR, Friedland GH et al. Oral finding in patients with acquired deficiency syndrome. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1987; 64:50-56.
- Quirynen M, Papaioannou W, Steenberg T, Dierickx K, Cassiman J, Stenberghe D. Adhesion of *Porphyromonas gingivalis* Strain to Cultured Epithelial Cells From Patients With a History of Chronic Adult Periodontitis or From Patients Less Susceptible to Periodontitis. J Periodontol 2001;72:626-633.
- Ramírez-Amador V, Esquivel-Pedraza L, Sierra-Madero J, Anaya-Saavedra, González-Ramírez I, Ponce S. The changing clinical Spectrum of Human Immunodeficiency Virus related oral lesions in 1000 consecutive patients a 12-years study in a referral center in Mexico. Medicine 2003;82:39-50.
- Ramfjord SP. The Periodontal Disease Index (PDI). J Periodontol 1967; 38 602-610.
- Rams T, Andriolo M JR, Feik D, Abel S, Mc Givern T, Slots J. Microbiological Study of HIV-Related Periodontitis J Periodontol 1991; 62:74-81.
- Reichart PA, Gelderblom HR, Becker J, Kuntz A. The HIV infection: Virology, etiology, origin immunology, precautions and clinical observations in 110 patients . Inter J Oral Maxillo Surg 1987;16: 129-153.
- Reynolds HS, Haraszthy VI Zambonij Novel subgingival clostridial species associated with injecting drugs users. J dent Res 1996; 75: 207(Abstr.1520).
- Riley C, London JP, Burnmeister JA. Periodontal Health in 200 HIV-positive patients. J Oral Pathol Med 1992;21: 124-127.
- Robinson PG. Which periodontal changes are associated with HIV infection? J Clin Periodontol 1998; 25: 278-285.

- Robinson PG, Sheiham A, Challacombe SJ, Zakzewska JM. The periodontal health of homosexual men with HIV infection. A controlled study. *Oral Dis* 1996; 2: 45-52.
- Robinson PG, Boulter A, Birnbaum W, Johnson NW. A controlled study of relative periodontal attachment loss in people with HIV infection. *J Clin Periodontol* 2000; 27: 273-276.
- Rosen FS. Primary immunodeficiency diseases: report of a WHO scientific group. *Immunodeficiency reviews* 1992; 3: 195-236.
- Rosenberg ZF y Fauci AS. Immunology of HIV infection. In: *Fundamental Immunology*. Third edition. Edited by William PE. Raven Press. Ltd. New York 1993; 1375-1397.
- Rowland RW, Escobar MR, Friedman RB. Painful gingivitis may be an early sign of infection with the human immunodeficiency virus. *Clin Inf Dis* 1993;16: 233-236.
- Russell AL. Epidemiology of periodontal disease. *Int Dent J* 1967;17:282-296.
- Ryder M. An Update on HIV and Periodontal Disease. *J Periodontol* 2002; 73: 1071-1078.
- Saag MS. Natural history of HIV-1 disease. En: Broder S, Merigan TC, Bolognesi G eds. *Text – book AIDS medicine*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994; 45-53.
- Saarela M, Dogan B, Alaluusua S, Asikainen S. Persistence of Oral Colonization by the Same *Actinobacillus actinomycetemcomitans* Strain(s). *J Periodontol* 1999; 70: 594-509.
- Saglam F, Atamer T, Onan U. Infantile genetic agranulocytosis. A case report. *J Periodontol* 1995; 66: 808-810.
- Saygun I, Sahin S, Ozdemir A, Kurtis B, Yapar M, Kubar A. Detection of human viruses in patients with Chronic Periodontitis and relationship between viruses and clinical parameters. *J Periodontol* 2002; 73: 1437-1443.
- Schenkein H. Academy Report. AAP. Information paper. Pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontol* 1999;70:457-470.
- Scully C, Laskaris G, Pindborg J, Porter S, Reichart P. Oral manifestations of HIV infection and their management. More common lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Path* 1991; 71: 158-166.

- Scully C, Porter SR, Mutlu S, Epstein JB, Glover S, Kumar N. Periodontopathic bacteria in English HIV-seropositive persons. *AIDS Patient Care Stds* 1999; 13: 369-374.
- Shah H, Gharbia S. Biochemical and chemical studies on strains designated *Prevotella intermedia* and proposal of new pigmented species, *Prevotella nigrescens* sp. *Int J Syst Bacteriol* 1992; 42:542.
- Schenkein H, Cochran D, Van Dyke T, Chair V, Blieden T, Cohen R, Hallmon W, Hinrichs J, Mariotti A, Raulin L, Somerman M, Genco R. The Pathogenesis of Periodontal diseases. Academy Report *J Periodontol* 1999; 70:457-470.
- Silness J, Loe H. Periodontal disease in pregnancy. *Acta Odontol Scand* 1964; 22: 112-135.
- Silverstein LH, Shuster GS, Garnick JJ, Singh B. Bacterial penetration og gingiva in the adult beagle dog with periodontitis. *J Periodontol* 1990; 61: 35-41.
- Sirinian G, Shimizu T, Sugar C, Slots J, Chen C. Periodontopathic Bacteria in Young Health Subjects of Different Ethnic Backgrounds in Los Angeles. *J Periodontol* 2002;73:283-288.
- Slots J, Listgarten MA. *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides intermedius* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1988;15:85.
- Socransky SS, Haffajee AD. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: Curren concepts. *J Periodontol* 1992; 63:322.
- Socransky SS, Haffajee AD, Smith GLF, Dzink JL. Difficulties encountered in the search for the etiologic agents of destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1987; 14:588-593.
- Soriano V, Valencia ME. Manifestaciones clínicas por el propio VI. , En: González-Lahoz J, Soriano eds. *Manual del SIDA*. Madrid 1997; 270-280.
- Takada K, Hirasawa M, Ikeda T. Isolation and Purification of Bacteriocin From *Prevotella intermedia* (*Bacteroides intermedius*). *J Periodontol* 1991;62 : 439-444.

- Teanpaisan R, Douglas CW, Nittayananta W. Isolations and genotyping of black-pigmented anaerobes from periodontal sites of HIV-positive and non-infected subjects in Thailand. *J Clin Periodontol* 2001;28:311-318.
- Tenenbaum H, Elkaim R, Cuisinier F, Daham M, Zamanian P, Lang JM. Prevalence of six periodontal pathogens detected by DNA probe methods in HIV vs non-HIV periodontitis. *Oral Disease* 1997 ; 3 suppl S153-S155.
- Theilade E. The non-specific theory in microbial etiology of inflammatory periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1986; 13: 905-911.
- Tokuda M, Karunakaran T, Duncan M. Role of Arg-gingipain A in virulence of *P. gingivalis*. *Infect Immun* 1998; 66: 1159.
- Velegriaki A, Nicolatou O, Theodoridou M. Paediatric AIDS-related linear gingival erythema ; a form of erythema tons candidiasis? *J Oral Pathol Med* 1999; 28: 178-185.
- Velasco E. *Odontología y SIDA. Un enfoque multidisciplinario.* Barcelona. Expans S.A. Publicaciones Médicas 2002.
- Virelizier JL. Cellular activation and HIV infection. *Curr Opin Immunol* 1990; 2: 409-413.
- Warner NA. Clinical detection and diagnosis of human immunodeficiency virus infection in practice: *Microbiology.* 1996;9(5):276-281.
- Weiss RA. How does HIV cause AIDS?. *Science* 1993; 260: 1273-1279.
- Weiss RA. HIV receptors and the pathogenesis of AIDS. *Science* 1996; 272: 1885-1886.
- Winkler IR, Grassi M, Murray PA. Clinical description and etiology of HIV-associated periodontal disease. *AIDS* 1988; 48-70.
- Winkler JR Murray PA. Periodontal disease – a potential intraoral expression of AIDS may be a rapidly progressive periodontitis. *J Cal Dent Assoc* 1987; 15:20-24.
- Winkler JR, Robertson PB. Periodontal diseases associated with HIV infection *Oral Surg Oral Med Oral Path* 1992; 73: 145-150.
- Yeung SCH, Steward GJ, Cooper DA. Progression of periodontal disease in HIV seropositive patients. *J Periodontol* 1993; 64: 651-657.

- Zambon J. Periodontal disease: Microbial factors. J Periodontal 1996 Ann 1: 879-925.
- Zambon J. Evidence for the Role of Highly Leucotoxic *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in the Pathogenesis of Localized Juvenile and other Forms of Early –Onset Periodontitis. J Periodontol 2000; 71: 912-922.

