



Citomegalovirus y microorganismos periodontopáticos subgingivales en periodontitis crónica y agresiva

Javier Enrique Botero,* Beatriz Parra,§ Adolfo Contreras*

RESUMEN

Objetivo: Algunos herpesvirus y en especial citomegalovirus (HCMV) han sido implicados en la patogénesis de la enfermedad periodontal y sobrecrecimiento bacteriano a nivel subgingival. El objetivo de esta investigación es describir la frecuencia de detección de HCMV y coinfección con bacterias periodontopáticas en sujetos con periodontitis. **Material y métodos:** Parámetros clínicos periodontales y muestras de placa bacteriana subgingival fueron tomados de pacientes con periodontitis crónica (28), periodontitis agresiva (5) y sujetos periodontalmente sanos (24). Para detectar y cuantificar HCMV (copies/ μ L) se utilizó Real Time PCR. La detección de *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *A. actinomycetemcomitans* y bacilos entéricos Gram negativos se realizó por medio de cultivo microbiológico. Diferencias entre grupos fueron establecidas por medio de la prueba t de Student y χ^2 ($P \leq 0.05$). **Resultados:** La frecuencia de detección de HCMV fue de 60% en pacientes con periodontitis en contraste con 4.1% en sujetos periodontalmente sanos ($P < 0.05$). El número promedio de copias de HCMV fue de 635.6 copias/ μ L en periodontitis vs 6.45E-004 copias/mL en sujetos sanos. Los parámetros periodontales (BOP, PD, CAL) estuvieron aumentados en pacientes HCMV (+) así como la infección por *P. gingivalis* y *T. forsythia*. **Conclusiones:** La detección subgingival de HCMV estuvo asociada con parámetros clínicos aumentados y adicionalmente co-infección entre HCMV y *P. gingivalis* y *T. forsythia* puede ser un factor patogénico importante.

Palabras clave: Periodontitis crónica, periodontitis agresiva, HCMV, Real Time PCR, *P. gingivalis*, *T. forsythia*.

Key words: Chronic periodontitis, aggressive periodontitis, HCMV, Real time PCR, *P. gingivalis*, *T. forsythia*.

ABSTRACT

Objective: Some herpesviruses and particularly cytomegalovirus (HCMV) have been implicated in the pathogenesis of periodontal disease as well as in the subgingival bacterial overgrowth. The objective of the study was to determine the frequency detection of HCMV and coinfection with periodontopathic bacteria in subjects with periodontitis. **Materials and methods:** Periodontal clinical parameters and subgingival plaque samples were collected from 28 chronic periodontitis patients, five patients involved with aggressive periodontitis and 24 periodontally healthy subjects. Real time PCR was used to detect and quantify the number of viral copies (copies/ μ L) of HCMV. Bacterial culture was used to detect *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *A. actinomycetemcomitans* and Gram negative enteric rods. Differences between groups were established with the t Student and χ^2 test ($P \leq 0.05$). **Results:** the detection frequency of HCMV was 60% in periodontitis contrasting with 4.1% in the control group ($P < 0.05$). The mean number of viral copies of HCMV was 635.6 copies/ μ L in periodontitis vs 6.45E-004 copies/mL in non periodontitis subjects. Periodontal disease clinical parameters (BOP, CAL, PD) were increased among HCMV+ patients as well as the infection by *P. gingivalis* and *T. forsythia*. **Conclusions:** the subgingival detection of HCMV was associated with increased periodontal disease severity and also co-infection between HCMV and *P. gingivalis* and *T. forsythia* could be an important pathogenic factor.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad periodontal es un proceso inflamatorio iniciado por la presencia de microorganismos en el surco periodontal. El desafío microbiano desencadena una compleja respuesta inmune que eventualmente lleva a la destrucción de los tejidos periodontales de soporte y pérdida dental.^{1,2}

El citomegalovirus (HCMV) pertenece a la familia Herpesviridae y tiene la capacidad de infectar diferentes tipos de células y tejidos.³ En los últimos 10 años, se ha propuesto que HCMV puede ser un participante en la patogénesis de la enfermedad periodontal. Ha sido encontrado como uno de los virus más frecuente-

mente detectados en sujetos con periodontitis en comparación con sujetos sanos.⁴⁻⁹ Adicionalmente, se ha detectado una mayor cantidad de copias de DNA (HCMV) en bolsas profundas en contraste con bolsas poco profundas.¹⁰⁻¹² Esto sugiere que la infección por HCMV en los tejidos periodontales puede agravar los

* Grupo de Medicina Periodontal, Escuela de Odontología, Universidad del Valle, Cali, Colombia.

§ Grupo VIREM (Virus Emergentes), Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia.

parámetros clínicos periodontales y resultar en mayor destrucción periodontal.

Teniendo en cuenta que la enfermedad periodontal es principalmente iniciada por microorganismos, la relación entre bacterias, la infección con bacterias periodontopáticas y HCMV son importante objetivo de investigación. Reportes previos implican la presencia simultánea de *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* (anteriormente *Bacteroides forsythus*) *Prevotella intermedia* y *Campylobacter rectus* y Citomegalovirus (HCMV), Epstein-Barr (EBV), Herpes simplex (HSV) tipo 1 y 2 en relación con los efectos adversos sobre los tejidos periodontales.¹³⁻¹⁵ La infección simultánea de microorganismos periodontopáticos y HCMV puede resultar en mayor inflamación y destrucción periodontal.

Basados en la información disponible al momento, existe todavía una limitada evidencia que apoye la asociación entre HCMV y periodontitis. El objetivo de esta investigación es describir la frecuencia de detección de HCMV y coinfección con bacterias periodontopáticas en sujetos con periodontitis.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los pacientes remitidos a las clínicas de periodoncia de la Escuela de Odontología de la Universidad del Valle (Cali, Colombia) fueron invitados a participar en el estudio. El diseño y protocolo de éste fue previamente evaluado y aprobado por el Comité de Ética Humana Institucional. Fueron excluidos sujetos con diabetes, enfermedad cardiovascular, HIV, embarazo, consumo de cigarrillo (> 15 cigarrillos/día), tratamiento periodontal previo (4 meses) y consumo de antibióticos (4 meses); también medicamentos antiinflamatorios (2 semanas) fueron excluidos del estudio. Cada paciente firmó un consentimiento escrito informado antes de ser incluido.

Sujetos y examen clínico

Treinta y tres pacientes con periodontitis (GP, edad 40.1 años) fueron distribuidos en dos grupos: 28 sujetos con periodontitis crónica (PC, edad 43.2 años) y 5 con periodontitis agresiva (PA, edad 24.8 años). Un grupo de 24 sujetos sin periodontitis (GC, edad 30.8 años) fue incluido como grupo control. El diagnóstico periodontal fue realizado de acuerdo a los parámetros de la American Academy of Periodontology (AAP).^{16,17}

Los pacientes con periodontitis presentaron pérdida de inserción (Nivel de inserción, CAL \geq 4 mm), formación de bolsas periodontales (Profundidad al sondaje, PD \geq 4 mm), sangrado al sondaje (BOP) y pérdida

ósea. Para discriminar entre periodontitis crónica y periodontitis agresiva se siguieron los parámetros de la AAP. En el grupo control (GC) estaban sujetos que no presentaban periodontitis. Estos pacientes presentaban inflamación mínima (BOP) en ausencia de pérdida de inserción (CAL \leq 3 mm), bolsas periodontales (PD \leq 3 mm) y pérdida ósea.

Se realizó un examen periodontal completo excluyendo terceros molares, fue realizado en cada paciente mediante el uso de una sonda computarizada (Florida Probe, Florida Probe Corporation, Gainesville, FL USA). Se registraron los siguientes parámetros clínicos: profundidad al sondaje (PD), pérdida de inserción clínica (CAL), sangrado al sondaje (BOP) e índice de placa (PI).¹⁸ La pérdida ósea fue evaluada en radiografías periapicales.

Muestras clínicas, cultivo microbiológico y detección viral

Se tomaron muestras de placa subgingival en duplicado de los 6 sitios más profundos en pacientes con periodontitis y 6 sitios periodontalmente sanos (ausencia de pérdida de inserción, BOP, pérdida ósea) en los sujetos del grupo control. Después de remover placa bacteriana supragingival con una gasa estéril, el sitio fue aislado con algodones y se procedió a introducir una punta de papel estéril hasta el fondo de la bolsa/surco. Las puntas fueron mantenidas en su lugar por 20 segundos y luego transferidas a un vial único con VMGAIII para análisis por cultivo microbiológico. El mismo procedimiento fue realizado nuevamente pero las puntas esta vez fueron transferidas a un vial de microcentrifuga y congelado a -70°C para análisis viral. Con fines descriptivos, los sitios muestreados son denominados "sitios infectados" en la presentación de resultados.

Las muestras en VMGAIII fueron procesadas por cultivo microbiológico para la detección de bacterias periodontopáticas.¹⁹⁻²³ Las siguientes bacterias fueron identificadas y confirmadas usando pruebas bioquímicas (Rapid ANA II, Remel, Norcross, GA, USA) y moleculares (colony PCR): *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*), *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* (anteriormente, *Bacteroides forsythus*) y bacilos entéricos Gram negativos. Los bacilos entéricos Gram negativos fueron subcultivados en agar MacConkey y Cetrimide e identificados con pruebas bioquímicas (API 20E®, bioMérieux, Inc, Marcy l'Etoile, France). Las colonias fueron enumeradas (total viable counts TVC) y se determinó el porcentaje de la microbiota cultivada en las placas de agar. Los datos son presentados como frecuencia de detección (%).

Para detectar y cuantificar HCMV, se utilizó Real Time PCR. En breve, la extracción de DNA fue realizada de acuerdo a Parra y Slots (1996)⁴ y Contreras y Slots (1996).⁵ En resumen, 500 μ L de buffer TE (10 mM Tris-hydrochloride, 1 mM EDTA, pH 7.5) fue adicionado a los viales de microcentrífuga con las puntas de papel y vibrados en un vortex por 10 minutos. El DNA fue capturado por partículas de sílica en presencia de un buffer de lisis con tiocianato de guanidina (GuSCN). Inmediatamente, el complejo DNA/sílica fue recuperado por centrifugación (12.000 g x 30 segundos), lavado en buffer (GuSCN-Tris-hydrochloride), dos veces en etanol al 70% y una vez con acetona y luego secado en un bloque caliente a 56°C por 10 minutos. El pellet fue luego resuspendido en 100 μ L de buffer TE, incubado a 56°C por 10 minutos y centrifugado (12.000 g x 2 minutos). El sobrenadante que contiene el DNA, fue separado y almacenado a -70°C. La detección de HCMV fue realizada empleando Real Time PCR, utilizando las secuencias de primers, sondas (TaqMan) y condiciones de amplificación de acuerdo a Kubar et al (2005).¹¹ La detección y cuantificación se realizó utilizando DNA de HCMV con una cantidad de copias/ μ L establecida previamente para generar una curva estándar. Este proceso se realizó en un termociclador AB Prism 7500 (Applied Biosystems, CA, USA) y los datos son presentados como frecuencia de detección (%) y copias/ μ L.

Análisis estadístico

Los datos fueron cargados y almacenados en un computador para su análisis. Los datos son presentados como promedio, desviación estándar (SD) y frecuencia de detección (%). Los parámetros clínicos fueron analizados entre grupos con la prueba t de Student. La frecuencia de detección de HCMV y microorganismos periodontopáticos se comparó entre grupos

con la prueba Chi². Se consideraron diferencias estadísticamente significativas cuando $P \leq 0.05$. Todos los datos fueron analizados con el programa estadístico GraphPad (GraphPad Prism versión 4.00 para Windows, San Diego, CA, USA).

RESULTADOS

La descripción demográfica de los sujetos participantes está presentada en el *cuadro I*. No se observaron diferencias importantes entre las variables de los grupos estudiados. Sin embargo, los sujetos del grupo PA fueron relativamente más jóvenes (24.8 años).

Los pacientes con periodontitis presentaron parámetros clínicos (IP, BOP, PD y CAL) aumentados en todos los casos en comparación con el grupo GS (*Cuadro II*). El IP y BOP en sujetos con periodontitis crónica fue mayor que el grupo PA y GS. En contraste, los casos de PA presentaron mayor PD (7.1 mm) y CAL (7.5 mm) en los sitios infectados que el grupo PC y GS. Al analizar los parámetros clínicos de acuerdo a la detección de HCMV (*Cuadro III*), se observó que sujetos con periodontitis positivos (+) para HCMV presentan mayor PD y CAL en los sitios infectados. Incluso sujetos periodontalmente sanos (GS) o con inflamación mínima, presentaron una tendencia a mayor PD y CAL en sitios infectados. De igual forma, el BOP fue mayor en pacientes con periodontitis y positivos para HCMV en comparación con sujetos HCMV (-).

Una descripción de la frecuencia de detección (%) de HCMV y microorganismos periodontopáticos se presenta en el *cuadro IV*. La frecuencia de detección de HCMV estuvo alrededor del 60% ($P \leq 0.05$) en pacientes con periodontitis en comparación con sujetos sanos (4.1%). No se observaron diferencias entre los grupos PC y PA. Pacientes con periodontitis y HCMV (+), presentaron mayor cantidad de copias/ μ L (635.6 c/ μ L) que sujetos periodontalmente sanos (6.45E-004 c/ μ L). De forma simi-

Cuadro I. Descripción demográfica de los pacientes con periodontitis crónica, periodontitis agresiva y grupo control.

	GP	PC	PA	GC
Número sujetos	33	28	5	24
Edad (años \pm SD)	40.1 \pm 13.4	43.2 \pm 12.4	24.8 \pm 5.5	30.8 \pm 7.4
Género (F/M)	11 ; 22	10 ; 18	5 ; 0	15 ; 9
Raza				
M	20	18	2	23
N	13	10	3	1
Cigarrillo (n)	0	0	0	4

SD: desviación estándar, Género: F= femenino, M= masculino, Raza: M= mestizaje variado, N= negro, GP: grupo periodontitis, PC: periodontitis crónica, PA: periodontitis agresiva, GC: grupo control.

lar, pacientes con periodontitis agresiva, presentaron menor cantidad de copias/μL (49.6 c/μL) que sujetos con periodontitis crónica pero en mayor cantidad que sujetos sanos. La frecuencia de detección de *P. gingivalis*, *T. forsythia* fue mayor en sujetos HCMV(+) del grupo GP y PC en comparación con sujetos HCMV(-).

DISCUSIÓN

El presente estudio presenta información sobre la detección de HCMV y microorganismos periodontopáticos en pacientes con periodontitis crónica y agresiva. El uso de Real Time PCR permite cuantificar y se pudo

Cuadro II. Parámetros clínicos periodontales en pacientes con periodontitis crónica, periodontitis agresiva y grupo control.

Parámetros	GP	PC	PA	GC
IP(% ± SD)	56.7 ± 19.9	60.4 ± 19.4	36.1 ± 3.6	12.4 ± 12.3
BOP (% ± SD)	57.2 ± 23.5	58.5 ± 24.6	54.3 ± 23.4	10.1 ± 13.5
PD (mm ± SD) sitio infectado	7.0 ± 0.9*	6.9 ± 1.0*	7.1 ± 0.6*	2.2 ± 0.6
CAL (mm ± SD) sitio infectado	7.3 ± 1.3*	7.2 ± 1.4*	7.5 ± 0.7*	1.5 ± 1.1
PD (mm ± SD) sujeto	3.4 ± 1.0	3.3 ± 0.9	4.0 ± 1.3	2.1 ± 0.5
CAL (mm ± SD) sujeto	3.8 ± 1.1	3.8 ± 1.1	3.7 ± 0.8	1.4 ± 1.0

SD: desviación estándar, IP: índice de placa, BOP: sangrado al sondaje, PD: profundidad al sondaje, CAL: nivel de inserción, GP: grupo periodontitis, PC: periodontitis crónica, PA: periodontitis agresiva, GC: grupo control, *P ≤ 0.05 en comparación con grupo GS, t Student.

Cuadro III. Parámetros clínicos periodontales en pacientes con periodontitis crónica, periodontitis agresiva y grupo control de acuerdo a la detección de HCMV.

Parámetros	GP	PC	PA	GC	HCMV (+)	HCMV (-)	HCMV (+)	HCMV (-)
	HCMV (+)	HCMV (-)	HCMV (+)	HCMV (-)				
IP(% ± SD)	56.0±20.8	57.7±19.2	59.5±20.7	61.8±17.9	36.6±1.6	35.3±6.6	33	11.5±11.8
BOP (% ± SD)	58.6±24.8	55.0±22.2	60.2±25.0	57.2±23.4	61.8±29.0	43.2±9.6	17.9	9.7±13.7
PD (mm) sitio infectado	7.2±1.1	6.7±0.4	7.2±1.1	6.6±0.4	7.0±0.8	7.2±0.6	3	2.1±0.5
CAL (mm) sitio infectado	7.4± 1.6	7.1±0.8	7.3±1.7	7.1±0.8	7.8±0.6	7.1±0.8	3.2	1.4±1.0
PD (mm) sujeto	3.2±1.0	3.7±0.9	3.2±1.0	3.5±1.7	3.3±0.9	5.0±1.1	2.35	2.1±0.5
CAL (mm) sujeto	3.7±0.9	3.9±1.3	3.7±1.0	3.9±1.3	3.4±0.4	4.3±41.2	2.35	1.4±1.0

SD: desviación estándar, IP: índice de placa, BOP: sangrado al sondaje, PD: profundidad al sondaje, CAL: nivel de inserción, GP: grupo periodontitis, PC: periodontitis crónica, PA: periodontitis agresiva, GC: grupo control.

Cuadro IV. Frecuencia de detección (%) de HCMV y microorganismos periodontopáticos en pacientes con periodontitis crónica, periodontitis agresiva y grupo control.

Microorganismo	GP		PC		PA		GC	
	HCMV (+)	HCMV (-)	HCMV(+)	HCMV (-)	HCMV (+)	HCMV (-)	HCMV (+)	HCMV (-)
HCMV frecuencia (%)	60.6*	NA	60.71*	NA	60*	NA	4.1	NA
HCMV copias/μL (promedio ± SD)	635.6 ± 1277.9	0	605.31 ± 1365.1	0	49.6 ± 11.9	0	6.45E-004	0
<i>A. actinomycetemcomitans</i> (frecuencia %)	20	38.5	23.5	45.5	0	0	0	8.7
<i>P. gingivalis</i> (frecuencia %)	90	84.6	88.2	81.8	100	100	0	8.7
<i>T. forsythia</i> (frecuencia %)	50	38.5	52.9	36.4	33.3	50	0	4.3
Bacilos entéricos (frecuencia %)	15	7.7	17.6	9.1	0	0	0	13

SD: desviación estándar, GP = grupo periodontitis, PC = periodontitis crónica, PA = periodontitis agresiva, GC = grupo control, NA = no aplica * P ≤ 0.05 en comparación con GS, Chi².

establecer que los pacientes HCMV(+) con periodontitis, presentan mayor cantidad de copias/ μ L (635.6 c/ μ L) que sujetos periodontalmente sanos o con un grado de inflamación mínima. De igual forma, la frecuencia de detección de HCMV (> 60%) fue mayor que en sujetos con periodontitis. Más aún, parámetros clínicos periodontales como profundidad al sondaje (PD) y nivel de inserción (CAL) fueron mayores en sujetos con periodontitis cuando se detectó HCMV. Aunque la relación entre la presencia de HCMV a nivel subgingival no se entiende muy bien, se propone que mecanismos de replicación del virus, acción proinflamatoria y coinfección con microorganismos periodontopáticos pueden explicar la severidad de la enfermedad.^{6,14,15} Esto está de acuerdo con reportes previos donde la frecuencia y la severidad de la periodontitis son mayores cuando HCMV es detectable.^{11,12} Sin embargo, no se ha establecido la relación directa entre mayor cantidad de virus y mayor severidad de la pérdida de inserción. Generalmente, lo que se observa es que los conteos de copias virales varían ampliamente entre sujetos. Nuestros resultados mostraron que los sitios infectados por HCMV presentaban mayor destrucción periodontal (> PD, > CAL). Este hallazgo sugiere que la infección por HCMV puede estar relacionada con la severidad de la enfermedad periodontal, pero se desconoce el mecanismo patogénico preciso. Un aspecto importante de la detección de HCMV y para poder establecer su relación en enfermedad periodontal, sería demostrar su actividad replicativa en los tejidos periodontales, y los estudios realizados empleando Real time PCR han fallado al tratar de demostrar esto.¹⁰⁻¹² Más aún, para poder explicar su actividad replicativa habría que evaluar si la cantidad de copias virales aumenta progresivamente en un periodo de tiempo determinado.

Se podría agregar que la coinfección junto con microorganismos periodontopáticos pueda ayudar a explicar aún más la severidad de la destrucción. Es así como la frecuencia de detección de *P. gingivalis*, *T. forsythia* y microorganismos superinfectantes como bacilos entéricos gram (-) fue mayor en sujetos con periodontitis crónica HCMV(+). No obstante, la misma afirmación no se pudo realizar en pacientes con periodontitis agresiva debido a la baja frecuencia de la enfermedad. Incluso *A. actinomycetemcomitans*, un patógeno periodontal importante fue detectado en baja frecuencia en este estudio. La sinergia de mecanismos de virulencia de HCMV, *P. gingivalis* y *T. forsythia* pueden ser la explicación en este momento. La sinergia HCMV-bacteria ya ha sido observada en animales y humanos.²⁴⁻²⁶ Adicionalmente, es importante resaltar que la enfermedad periodontal es una infección de múltiples agentes infecciosos y ninguno de forma individual expli-

ca de forma definitiva el desarrollo y progresión de la enfermedad. El papel de los bacilos entéricos gram (-) en enfermedad periodontal todavía se desconoce.

Dentro de los alcances del presente estudio, se puede concluir que la infección por HCMV y coinfección con *P. gingivalis* y *T. forsythia* fue mayor en pacientes con periodontitis. Así mismo, la destrucción periodontal fue mayor cuando se detectó HCMV y esto sugiere una asociación con periodontitis.

Este estudio fue realizado con financiamiento del Instituto Colombiano para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología Francisco José de Caldas (COLCIENCIAS) y la Universidad del Valle (312-2004, 1106-05-16316). Javier Botero tiene una beca de estudios de COLCIENCIAS.

REFERENCIAS

1. Kinane DF, Lappin DF. Immune processes in periodontal disease: a review. *Annals Periodontology* 2002; 7: 62-71.
2. Madianos PN, Bobetsis YA, Kinane DF. Generation of inflammatory stimuli: how bacteria set up inflammatory responses in the gingiva. *Journal of Clinical Periodontology* 2005; 32 (Suppl 6): 57-71
3. Stinski MF. *Cytomegalovirus and its replication*. En: Fields BN, Knipe DM et al. *Virology*. New York. Raven Press 1990; 69: 1959-1980.
4. Parra B, Slots J. Detection of human viruses in human periodontal pockets using polymerase chain reaction. *Oral Microbiology and Immunology* 1996; 5: 289-293.
5. Contreras A, Slots J. Mammalian viruses in human periodontitis. *Oral Microbiology and Immunology* 1996; 11: 381-386.
6. Contreras A, Slots J. Active cytomegalovirus infection in human periodontitis. *Oral Microbiology and Immunology* 1998; 13: 225-230.
7. Contreras A, Zadeh HH, Nowzari H, Slots J. Herpesvirus infection of inflammatory cells in human periodontitis. *Oral Microbiology and Immunology* 1999; 14: 206-212.
8. Contreras A, Nowzari H, Slots J. Herpesviruses in periodontal pocket and gingival tissue specimens. *Oral Microbiology and Immunology* 2000; 15: 15-18.
9. Contreras A, Mardirossian A, Slots J. Herpesviruses in HIV-periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 2001; 28: 96-102.
10. Kubar A, Saygun I, Yapar M, Ozdemir A, Slots J. Real-time PCR quantification of cytomegalovirus in aggressive periodontitis lesions using TaqMan technology. *Journal of Periodontal Research* 2004; 39: 81-86.
11. Kubar A, Saygun I, Ozdemir A, Yapar M, Slots J. Real-time polymerase chain reaction quantification of human cytomegalovirus and Epstein-Barr virus in periodontal pockets and the adjacent gingiva of periodontitis lesions. *Journal of Periodontal Research* 2005; 40: 97-104.
12. Saygun I, Kubar A, Ozdemir A, Yapar M, Slots J. Herpesviral-bacterial interrelationships in aggressive periodontitis. *Journal of Periodontal Research* 2004; 39: 207-212.
13. Kamma JJ, Slots J. Herpesviral-bacterial interactions in aggressive periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 2003; 30: 420-426.
14. Slots J, Kamma JJ, Sugar C. The herpesvirus-Porphyromonas gingivalis-periodontitis axis. *Journal of Periodontal Research* 2003; 38: 318-323.

15. Contreras A, Umeda M, Chen C, Bakker I, Morrison JL, Slots J. Relationship between herpesviruses and adult periodontitis and periodontopathic bacteria. *Journal of Periodontology* 1999; 70: 478-484.
16. Lindhe J, Ranney R, Lamster I, Charles A, Chung CP, Fleming T et al. Consensus Report: Chronic Periodontitis. *Annals Periodontology* 1999; 4: 38.
17. Lang N, Bartold M, Cullinan M, Jeffcoat M, Mombelli A, Murakami S et al. Consensus Report: Aggressive periodontitis. *Annals Periodontology* 1999; 4: 53.
18. O'Leary TJ, Drake RB, Naylor JE. The plaque control record. *Journal of Periodontology* 1972; 43: 38.
19. Slots J, Reynolds HS. Long-wave UV light fluorescence for identification of black-pigmented Bacteroides spp. *Journal of Clinical Microbiology* 1982; 16: 1148-1151.
20. Slots J. Rapid identification of important periodontal microorganisms by cultivation. *Oral Microbiology and Immunology* 1986; 1: 48-57.
21. Slots J, Rams TE, Listgarten MA. Yeasts, enteric rods and pseudomonas in the subgingival flora of severe adult periodontitis. *Oral Microbiology and Immunology* 1988; 3: 47-52.
22. Contreras A, Doan N, Chen C, Rusitanonta T, Flynn MJ, Slots J. Importance of Dialister pneumosintes in human periodontitis. *Oral Microbiology and Immunology* 2000; 15: 269-272.
23. Ashimoto A, Chen C, Bakker I, Slots J. Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. *Oral Microbiology and Immunology* 1996; 11: 266-273.
24. Hamilton JR, Overall JC Jr, Glasgow LA. Synergistic infection with murine cytomegalovirus and *Candida albicans* in mice. *Journal of Infectious Diseases* 1977; 135: 918-924.
25. Grundy JE. Virologic and pathogenetic aspects of cytomegalovirus infection. *Reviews of Infectious Diseases* 1990; 12 (Suppl 7): 711-719.
26. Mackowiak PA, Goggans M, Torres W, Dal Nogare A, Luby JP, Helderman H. Relationship between cytomegalovirus and colonization of the oropharynx by gram-negative bacilli following renal transplantation. *Epidemiology and Infection* 1991; 107: 411-420.

Correspondencia:

Javier Enrique Botero.

drjava@yahoo.com

Calle 3 Núm. 36-00 San Fernando,
Escuela de Odontología, Universidad del Valle,
Cali, Colombia