

**DETECCIÓN DE VIRUS DE PAPILOMA HUMANO EN FLUIDO CREVICULAR
DE PACIENTES CON PERIODONTITIS**

MARTHA CARMONA LORDUY

Odontóloga, Especialista en Estomatología
Magister en Educación. Docente titular a la Facultad de Odontología, Universidad
de Cartagena

MARTA REBOLLEDO COBOS

Odontóloga, Especialista en Estomatología y Cirugía Oral
Magister en Genética Molecular, Universidad Simón Bolívar
Docente de la Facultad de Odontología, Universidad Metropolitana de Barranquilla

STELLA PUPO MARRUGO

Odontóloga, Universidad de Cartagena
Especialista en Endodoncia, Universidad de Cartagena
Docente de la Facultad de Odontología, Universidad de Cartagena

IVÁN ENRIQUE PORTO PUERTA

Estudiante de Odontología X semestre

TATIANA RUIZ TOBÓN

Estudiante de Odontología X semestre

**UNIVERSIDAD DE CARTAGENA
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
CARTAGENA DE INDIAS D. T. y C.
2019**

TABLA DE CONTENIDO

	pág.
RESUMEN.....	6
ABSTRACT.....	7
INTRODUCCIÓN.....	8
1. MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
2. RESULTADOS.....	14
3. DISCUSIÓN.....	15
REFERENCIAS.....	18

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Distribución de características sociodemográficas Sexo y edad de sujetos de estudio	21
Tabla 2. Distribución de características sociodemográficas ciudad de residencia y nivel educativo	21
Tabla 3. Distribución de datos en relación a diagnóstico de enfermedad periodontal	22

LISTA DE GRÁFICOS

	pág.
Gráfico 1. Distribución de resultados de muestras examinadas en frecuencia absoluta	22
Gráfico 2. Distribución de resultados de genotificación de muestras examinadas en frecuencia absoluta.....	22

LISTA DE IMÁGENES

pág.

Imagen 1. Resultados de muestras examinadas en gel de electroforesis.23

RESUMEN

Objetivo: Identificar y genotipificar la presencia de Virus de Papiloma Humano en fluido crevicular de pacientes con periodontitis. **Métodos:** Se realiza estudio descriptivo de corte transversal, en donde participaron 20 sujetos de estudio con diagnóstico de periodontitis. Se les realizó entrevista y anamnesis para la obtención de datos sociodemográficos y se tomó muestra de fluido crevicular. Se detectó la presencia de VPH con PCR convencional y en tiempo real con método dúplex para genotipificar y buscar la presencia de VPH específica de alto riesgo. Se utilizaron pruebas estadísticas de promedio y rango para describir los resultados. **Resultados:** El sexo femenino y el rango de edad entre 57 y 65 años fueron prevalentes. El diagnóstico de periodontitis estadio II y III fueron los más frecuentes con 8 casos cada uno. De las 20 muestras estudiadas se encontraron 3 muestras VPH positivas, en bolsas con diagnóstico de periodontitis estadio II. Una de las muestras dio positivo para subtipos de alto riesgo (VPH. 51 Y VPH-66). **Conclusión:** Se establece que existe una probabilidad de que la bolsa periodontal pueda ser reservorio para el VPH, debido a las muestras positivas, lo cual afecta el éxito de la terapia periodontal convencional. Se recomienda seguir investigando este campo con un tamaño de muestra mayor. **PALABRAS CLAVES:** Periodontitis, Infecciones por Papillomavirus, Odontología en Salud Pública, Reacción en Cadena de la Polimerasa, Medicina Oral

ABSTRACT

Objective: To identify and genotyp the presence of Human Papillomavirus in crevicular fluid of patients with periodontitis. **Methods:** A descriptive cross-sectional study is carried out, in which 20 study subjects with a diagnosis of periodontitis participated. An interview and anamnesis were performed to obtain sociodemographic data and a sample of crevicular fluid was obtained. Detect the presence of HPV with conventional and real-time PCR with a duplex method to genotype and search for the presence of specific high-risk HPV. Statistical tests of average and range will be used to describe the results. **Results:** Female sex and age range between 57 and 65 years were prevalent. The diagnosis of stage II and III periodontitis were the most frequent with 8 cases each. Of the 20 samples studied, 3 HPV positive samples were found, in bags with a diagnosis of stage II periodontitis. One of the samples tested positive for high-risk subtypes (HPV. 51 and HPV-66). **Conclusion:** It is established that there is a probability that the periodontal pocket may be a reservoir for HPV, due to positive samples, which affects the success of conventional periodontal therapy. It is recommended to continue researching this field with a larger sample size.

Key words Mesh: Periodontitis, Papillomavirus Infections, Public Health Dentistry, Polymerase Chain Reaction, Oral Medicine

INTRODUCCIÓN

La enfermedad periodontal es considerada una enfermedad infecciosa-inflamatoria, que de acuerdo al grado de compromiso puede llevar a la pérdida total de los tejidos de soporte del diente.^{1,2,3} La Periodontitis es principalmente causada por diferentes agentes bacterianos, que interactúan con factores predisponentes (respuestas celulares y humorales interconectadas, en huéspedes con réplicas inmunes determinadas).⁴ Sin embargo, también se reporta que el Virus del Papiloma Humano (VPH) y otros virus, puedan causar un efecto citopático directo sobre fibroblastos, queratinocitos, células endoteliales, células inflamatorias y posiblemente sobre los osteocitos.^{5,6,7}

Los neutrófilos periodontales, son células de importancia clave en la defensa del periodonto, las cuales se observan significativamente debilitadas en aquellos individuos portadores de VPH en linfocitos y células epiteliales bucales con respecto a otros individuos no portadores del virus.⁸

Los VPH son epiteliotrópicos y tienen selectividad por el bloqueo de mecanismos inmunes e inflamatorios fisiológicos no solo en la mucosa bucal si no en los tejidos periodontales⁹. El virus del papiloma humano (VPH) en la actualidad se ha estudiado basándose en la relación directa que presenta con la aparición de carcinomas epiteliales en cavidad bucal, y otras mucosas¹⁰. El VPH tiene la

¹ LANG, Niklaus, BARTOLD, Mark. Periodontal health. Uettligen: Journal of Clinical Periodontology, 2018. vol. 45, no. 20, p. S9-S16.

² PÁEZ, Yirina, TAMAYO, Baonelys, BATISTA, Arelis, GARCÍA, Yanet, GUERRERO, Ivonne. Factores de riesgo de periodontopatías en pacientes adultos. Holguín: CORREO CIENTÍFICO MÉDICO DE HOLGUÍN, 2015. vol. 19. no. 2, p. 269-281.

³ ZERÓN, Agustín. La nueva clasificación de enfermedades periodontales. México D.F.: Revista ADM, 2018. vol. 75. no. 3. p. 122-124.

⁴ SIGMUND S., SOCRANSKY S, HAFFAJEE A. Ecología microbial periodontal. Periodontology 2000, 2005. vol. 38. p. 135-187.

⁵ MURAKAMI, Shinya, MEALEY, Brian, MARIOTTI, Angelo, CHAPPLE, Iain. Dental plaque induced gingival conditions. Osaka: Journal of Clinical Periodontology, 2018. vol. 45: S17-S27.

⁶ MATESANZ P., MATOS C., BASCONES M. Enfermedades Gingivales: Una revisión de la literatura. Madrid: Av Periodon Implantol. 2008. vol. 20. no. 1. p. 11- 25.

⁷ PEREA, MA, CAMPO, J, CHARLÉN, L, BASCONES, A. Enfermedad periodontal e infección por VIH: estado actual. Av Periodon Implantol. 2006; 18, 3: 135-147

⁸ BOTERO, Javier, BEDOYA, E. Determinants of periodontal diagnosis. Santiago: Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabili. Oral, 2010. vol. 3. no. 2. p. 94-99.

⁹ CHAITANYA, Nallan, ALLAM, Neeharika, GANDHI, D, WAGHRAY, Shefali, BADAM, R., LAVANYA, Reddy. Systematic meta-analysis on association of human papilloma virus and oral cancer. Telangana: J Cancer Res Ther, 2016. vol. 12. no. 2. p. 969-974.

¹⁰ FORMAN, David, MARTEL, Catherine, LACEY, Charles, SOERJOMATARAM, Isabelle, LORTET-TIEULENT, Joannie, BRUNI, Laia, et al. Global Burden of Human Papillomavirus and Related Diseases. Vaccine, 2012. vol. 5. no. 30. p. F12-F23.

capacidad de producir inestabilidad genética, mutar y generar la aparición de lesiones que pueden transformarse en Cáncer Bucal (CB)¹¹.

A pesar de esto, la presencia del VPH en la periodontitis no queda del todo claro, debido a que también se encuentran en la literatura estudios que niegan la relación de éstos con la enfermedad periodontal, haciendo necesaria la realización de investigaciones para determinar la presencia y el papel de los virus en la periodontitis, con el fin de establecer un protocolo de tratamiento ideal e individual para nuestros pacientes ^{12,13}.

El Virus del papiloma Humano (VPH) participa en la activación y/o desarrollo de la enfermedad periodontal, permitiendo el sobrecrecimiento de bacterias periodontopatógenas, explicando en cierto modo como los tejidos periodontales podrían actuar como reservorio de estos virus. En otras partes del cuerpo, tales como el tracto genital, el VPH infecta exclusivamente las células basales del epitelio vía microlesiones, donde el virus permanece latente. ^{13,14,15,16}.

Existen diversas técnicas usadas para determinar la presencia de VPH y la relación con cánceres de cabeza y cuello, entre estas se encuentra la Reacción en cadena de polimerasa (PCR), la Hibridación in situ (ISH), y la Inmunohistoquímica (IHC) ^{17,18}.

La PCR es altamente sensible, detectando tan poco ADN viral, como 0,001 copia por genoma a partir de muestras tumorales, plasma o colecciones salivales, también

¹¹ CHATURVEDI, Anil, ANDERSON, William, LORTET-TIEULENT, Joannie, CURADO, Maria, FERLAY, Jacques, FRANCESCHI, Silvia. Worldwide trends in incidence rates for oral cavity and oropharyngeal cancers. Rockville: Journal of Clinical Oncology, 2013; vol. 31. no. 36. p. 4550-4559.

¹² TRIBIUS, Silke, HOFFMANN, Markus. Human papilloma virus infection in head and neck cancer. Hamburg: Deutsches Ärzteblatt International, 2013. vol. 110. no. 11. p. 184-190.

¹³ VILLAGOMEZ, Vicente, PAZ, Diana, MARINO, Iván, CESEÑAS, Falcón. Prevalencia de infección por virus del papiloma humano en carcinoma espinocelular de cavidad oral, orofaringe y laringe. Monterrey: Cirugía y Cirujanos, 2016. vol. 84. no. 5. p. 363-368.

¹⁴ RAMSEIER, Christoph, ANERUD, Age, DULAC, Mary, et al. Natural history of periodontitis: Disease progression and tooth loss over 40 years. Zurich: Journal of Clinical Periodontology, 2017. vol. 44. no. 12. p. 1182-1191.

¹⁵ REBOLLEDO, M, ARANGO, H, REBOLLEDO, R, ALONSO, I. Rol del virus del papiloma humano en el desarrollo de carcinoma oral: Una revisión. Barranquilla: Avances en Odontoestomatología, 2016. vol. 32. no. 3. p. 135-144.

¹⁶ HARRIS, Jonathan, REBOLLEDO, Martha, FORTICH, Natalia. Papiloma bucal en pacientes pediátricos: Potencial transmisión materna. Rev Clin Med Fam, 2012. vol. 5. no. 1. p. 46-50.

¹⁷ SHAIKH, Mushfiq, McMILLAN, Nigel, JOHNSON, Newell. HPV-associated head and neck cancers in the Asia Pacific: A critical literatura review & meta-analysis. Cáncer Epidemiol, 2015. vol. 39. no. 6. p. 923-938.

¹⁸ BISHOP, Justin, LEWIS, James, ROCCO, James, FAQUIN, William. HPV-related squamous cell carcinoma of the head and neck: An update on testing in routine pathology practice. Semin Diagn Pathol, 2015. vol. 32. no. 5. p. 344-351.

se puede evaluar la carga viral e identificar el subtipo viral sondeando para la región L1 del genoma del VPH.^{19,20}

La única zona en la mucosa bucal donde las células basales están expuestas al medio ambiente es el saco periodontal. De esta manera se llega claramente a explicar la interrelación del VPH con la periodontitis; es importante mencionar que en la mayoría de los casos en los que se ha aislado el VPH en pacientes con periodontitis, juega un papel importante el estado inmunológico del paciente.^{21,22}

Según los anteriores planteamientos el objetivo de este estudio fue identificar y genotipificar la presencia de Virus de Papiloma Humano en fluido crevicular de pacientes con enfermedad Periodontal y que no responden a la terapia periodontal convencional.

¹⁹ ADERHOLD, C, FABER, A, UMBREIT, C, CHAKRABORTY, A, BOCKMAYER, A, BIRK R, et al. Small molecules alter vegfr and pten expression in HPV-positive and -negative scc: New hope for targeted-therapy. *Anticancer Res*, 2015. vol. 35. no. 3. p. 1389-1399.

²⁰ SRITIPPHO, Thanun, CHOTJUMLONG, Pareena, IAMAROON, Anak. Roles of Human Papillomaviruses and p16 in Oral Cancer. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2015. vol. 16. no. 15. p. 6193-6200.

²¹ ALBANDAR, Jasim, SUSIN, Cristiano, HUGHES, Francis. Manifestations of systemic diseases and conditions that affect the periodontal attachment apparatus: Case definitions and diagnostic considerations. *Journal of Clinical Periodontology*, 2018. vol. 89. no. 1. p. S171-S189.

²² CHAPPLE, Iain, MEALEY, Brian, VAN DYKE, Thomas. Consensus report: Periodontal health and gingival diseases/conditions. *Journal of Clinical Periodontology*, 2018. vol. 45. p. S68-S77.

1. MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo transversal en el que se evaluó la presencia de VPH, utilizando la técnica de PCR convencional y en tiempo real con método dúplex fluido crevicular en sujetos diagnosticados con Periodontitis activa según la clasificación de las enfermedades y alteraciones periodontales y periimplantares del año 2017²³ y como característica fundamental debieron ser tratados previamente dentro de las clínicas de la Universidad de Cartagena y Universidad Metropolitana de Barranquilla, periodontalmente de manera convencional con fases higiénicas (raspado y alisado radicular), controles mensuales, en las ciudades de Cartagena y Barranquilla, Colombia.

Fase de reclutamiento: El proceso de reclutamiento se realizó dentro de las clínicas de la Universidad de Cartagena y la Universidad Metropolitana, con una serie de criterios de inclusión, estos fueron: la presencia de periodontitis en cualquiera de sus estadios, que ya hubiesen sido tratados periodontalmente y que no hayan evolucionado de manera satisfactoria a diversos (hasta 3) tratamientos y se seleccionaron de forma no probabilística a conveniencia aquellos sujetos que estuvieran sanos sistémicamente, fueran mayores de 18 años y aceptaran hacer parte de la investigación mediante la firma de un consentimiento informado. Dentro de los criterios de exclusión: no se permitieron sujetos que tuvieran la presencia de otras infecciones virales o la presencia de enfermedades sistémicas asociadas.

La población marco fueron sujetos con diagnosticados con Periodontitis en todos sus estadios, activa que no respondieron a la terapia convencional, de la ciudad de Cartagena de Indias y Barranquilla, Colombia. Se obtuvo una muestra de 20 sujetos que cumplieron con los criterios de inclusión.

A estos sujetos se les realizó ficha clínica periodontal completa, la cual incluyó anamnesis, examen clínico, hábitos y vicios, periodontograma, control de placa y exámenes radiográficos según necesite el paciente (Radiografía panorámica, perioapical, tomografía axial computarizada). Además de esto se realizaron exámenes paraclínicos a los sujetos preseleccionados en los cuales se incluyó hemograma completo, TP, TPT, hemoglobina glicosilada.

Los datos hicieron referencia a variables como: género, edad, nivel socioeconómico, ocupación, hábitos (fumar, consumir alcohol, con qué frecuencias e intensidades), estado civil y tipos de prácticas sexuales. Estas variables se obtuvieron a través de una entrevista, además de ganar la confianza y respeto de los participantes, garantizando la información obtenida. Se resalta que esta investigación según la resolución 8430 de 1993, clasificada como de riesgo mínimo, además fue sometida

²³ HERRERA, David y cols. La nueva clasificación de las enfermedades periodontales y periimplantarias. Revista científica de la Sociedad Española de Periodoncia 2018. no. 11.

al comité de ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Cartagena y de la Universidad Metropolitana.

Toma de muestra: La toma de muestra de fluido gingival, se realizó removiendo suavemente la placa supragingival sin generar sangrado. Previo a esto se le explicó al paciente que no se debía hacer enjuagues bucales, o cepillarse los dientes debido a que contaminaba las muestras con alcohol y químicos que contienen los enjuagues y las cremas dentales.²⁴

Las muestras subgingivales se consiguieron aislando previamente la zona con rollos de algodón e insertando dentro del surco un cono de papel absorbente estéril calibre 20 utilizados en endodoncia para secar los conductos radiculares en superficies (mesiobucal, distobucal, mesiolingual/palatino y distolingual/palatino) se escogió la superficie que estuviera mayormente afectada por profundidad de surco y pérdida de inserción clínica. A los pacientes que se le generó sangrado no se le tomaron muestras en ese órgano dentario, sino que se buscó otro con similares características o se citó al paciente en otro momento. Luego se colocaron las muestras en buffer de lisis celular en tubo Eppendorf TE con el fin de transportar la muestra y aislar las células con mayor contenido de ADN, se almacenaron a -70 C, posteriormente fueron hervidas durante 5 minutos, la muestra se calentó para separar, o desnaturalizar, las cadenas de ADN, y de ésta forma se liberó el ADN viral. La extracción de ADN se llevó a cabo con minikit QiaAmp DNA DNA (Qiagen). La muestra se disolvió en xileno y posterior a eso fue lisada a 56 C en condiciones desnaturalizantes con proteinasa K (liberado el DNA molecular de las demás proteínas) luego se realizó incubación a 90 C revirtiendo la reticulación de la formalina (fijador), el DNA se unió a las membranas y los contaminantes fluyeron a través de ésta, posterior se realiza el lavado eliminando los contaminantes residuales y se obtuvo el ADN puro y concentrado extrayéndose desde la membrana. La calidad del ADN (260/280nm) y la concentración se determinó en EPECTOFOTOMETRIA (Nanodrop 2000) y electroforesis en geleS de agarosa al 2%.²⁵

Método de análisis: Técnica de Amplificación de ácidos nucleicos por Reacción en Cadena de la Polimerasa; Técnica de detección del ADN por biología molecular, con oligonucleótidos dirigidos hacia la región L1, siendo comunes a todos los Papilomavirus genéricos, y espectofotometria para confirmar la óptima calidad.²⁶

²⁴ ROJAS, Gisella, SILVA, Sandra. Técnica sencilla para determinar la presencia de genotipos virales y bacterianos en pacientes con enfermedad periodontal. Revista Científica Odontológica, 2011. vol. 7. no. 2. p. 75-79.

²⁵ QIAGEN. Manual del kit QIAamp® DSP. DNA FFPE Tissue. Febrero de 2017.

²⁶ ŞAHINER, Fatih, KUBAR, Ayhan, YAPAR, Mehmet, ŞENER, Kenan, DEDE, Murat, GÜMRAL, Ramazan. Detection of major HPVs by a new multiplex real-time PCR assay using type-specific primers. J Microbiol Methods, 2014. vol. 97. p. 44-50.

Se realizó la detección de VPH por PCR convencional en las muestras de los sujetos anteriormente descritos, las cuales se encontraban embebidas en MEDIO DE T.

Previamente se realizó la detección del VPH genérico o universal a las 20 muestras mediante una PCR convencional utilizando las secuencias de los siguientes cebadores: GP5+ (5'-3') TTTGTTACTGTGGTAGATACTAC GP6 + (5'-3') GAAAAATAAACTGTAAAT CATATTC. Las condiciones para la amplificación incluyeron un paso de denaturalización a 94°C por 4', 35 ciclos con desnaturalización a 94°C por 1', anillaje a 40°C por 2', y extensión a 72°C por uno a 30'. Finalmente un pasó de extensión a 72°C por 4'. Solo tres muestras de las 20 analizadas fueron positivas para VPH.

Todas las reacciones de amplificación por PCR incluyeron controles positivos de la línea celular Hela, la cual es positiva para la amplificación de VPH. Todos los productos, ADN y amplicones obtenidos fueron visualizados utilizando electroforesis en gel de agarosa al 1,5%, bajo luz ultravioleta con Syber Safe. Los tamaños esperados para cada tipo de virus fueron 175 pb.

Para las mismas muestras de los casos anteriormente descritos, se organizaron tres ensayos de qPCR dúplex para identificar los genotipos del VPH 18 y 31, 16 y 35, 51 y 66.²⁷

Análisis de datos: Se realizó descripción de los resultados obtenidos del VPH de acuerdo con las variables sociodemográficas. Utilizando promedio y rango.

²⁷ TSAKOIANNIS, Dimitris, PAPACHARALAMPOUS, Michail, TOSKA, E., KYRIAKOPOULOU, Zaharoula, DIMITRIOU TG, Ruether IG, et al. Duplex Real-time PCR assay and SYBR green I melting curve analysis for molecular identification of HPV genotypes 16, 18, 31, 35, 51 and 66. Mol Cell Probes, 2015. vol. 29. no. 1. p. 13-18.

2. RESULTADOS

De acuerdo al análisis de los datos obtenidos, la distribución de los datos del sexo y edad de los sujetos de estudio se encuentra descritos en la (Tabla 1)

En relación a la procedencia un 65% de los sujetos son de Barranquilla y el 35% restante son de Cartagena de Indias. El 70% de los sujetos han cursado estudios universitarios, el 20% han culminado bachillerato y solo el 10% cursó hasta primaria. (Tabla 2)

En relación a los hábitos, el 10% de los sujetos reportan practicar el tabaquismo y el 50% reporta consumir alcohol frecuentemente. Por otro lado el 20% de los sujetos afirma practicar sexo oral.

En los sujetos estudiados se diagnosticó la periodontitis estadio II y estadio III en 40% cada una, y la periodontitis estadio I en un 20%. (Tabla 3)

Los resultados de PCR reportan la presencia de virus de papiloma humano en un 15% de las 20 muestras estudiadas (3 sujetos). Gráfico 1 y Gráfico 2. Dentro de las cuales 1 de las muestras dio positivo para genotipos de alto riesgo (VPH-51 y VPH-66) las cuales fueron visualizadas utilizando electroforesis en gel de agarosa al 1,5%, bajo luz ultravioleta con Syber Safe. El 100% de las muestras positivas para VPH fueron tomadas de bolsas con periodontitis estadio II, pertenecían al sexo femenino y afirmaron practicar sexo oral.

3. DISCUSIÓN

La presente investigación se realizó a través de un estudio descriptivo transversal debido a que se buscaba evaluar la presencia del VPH en un grupo de variables específicos, que eran sujetos que tuvieran como diagnóstico clínico periodontitis activa en cualquier estadio y que no habían respondido a la terapia convencional, teniendo en cuenta que este tipo de estudios descriptivos no pueden garantizar unas conclusiones que permitan determinar la asociación directa de este virus con la refractariedad de la enfermedad periodontal, sin embargo este estudio puede darnos una aproximación de si la enfermedad periodontal, específicamente la bolsa periodontal puede servir de reservorio para el VPH, que no le permita mejorar cuando se realiza terapia convencional.

Se pudo evidenciar la presencia del VPH en el fluido crevicular por medio de la técnica de PCR, la cual se encontró presente que en el 15% de los sujetos, los cuales estaban clasificados en el estadio II, de ese 15% 1 de los sujetos que es el 33% dio positivo para un genotipo de alto riesgo, eso nos puede dar una idea de que puede existir una posibilidad de que la enfermedad periodontal sí sirva como reservorio y que pueden generar la terapia convencional no genere cambios en la progresión de ésta.

La presencia e interacción del virus del papiloma humano con el periodonto ha sido reportado en la literatura reciente. Múltiples estudios^{28,29,30,31} relacionan su presencia en el periodonto a un alterado sistema inmunológico como es el caso de pacientes VIH positivo, sin embargo también ha sido reportado su prevalencia en

²⁸ GAMONAL, Jorge, BASCONES, Antonio, JORGE, O., SILVA, Alonso. Chemokine RANTES in gingival crevicular fluid of adult patients with periodontitis. *J Clin Periodontol*, 2000. vol. 27. p. 675-681.

²⁹ SROUSSI HY, EPSTEIN JB. Changes in the pattern of oral lesions associated with HIV infection: implications for dentists. *JCDA*. 2008; 73 (10):949-952.

³⁰ CAMERON J, MERCANTE D, O'BRIEN M, GAFFGA A, LEIGH J, FIDEL P JR, HAGENSEE M. The impact of highly active antiretroviral therapy and immunodeficiency on human papillomavirus infection of the oral cavity of human immunodeficiency virus-seropositive adults. *Sex Transm Dis.*, 2005. vol. 32. p. 703-709.

³¹ ESCALONA, Laura, CORRENTI, María, VEITÍA, Dayahindia, PERRONE, Marianella. Detección de Virus Papiloma Humano en el fluido gingival de pacientes con inmunodeficiencia humana y enfermedad periodontal. *Invest. Clín*, 2011. vol. 52. no. 3. p. 207-215.

pacientes VIH negativo o sanos^{32,33,34}. Investigaciones anteriores han reportado la presencia de este virus en las bolsas periodontal a partir de toma de muestras salivales, tal es el caso de Hormia et al en el 2005³⁵ quienes ejecutaron un estudio para detectar ADN de VPH utilizando la técnica de hibridación in situ, el resultado arrojó que el 26%^{36,37} de las muestras presentaron el genoma de VPH, siendo el ADN localizado en la parte coronal del epitelio de unión en el surco gingival.

Cameron et al en el 2005³⁸ también determinaron la prevalencia y el genotipo de VPH en muestras de saliva, reportando que en el 35% de los sujetos se reportó VPH. El conteo de células CD4 y la carga viral no se relacionó con el incremento del riesgo para la infección por VPH.

Por otro lado en la literatura reciente se encuentran investigaciones las cuales aplican una toma de muestra y detección de VPH similar a la reportada en este estudio; Entre estos estudios se encuentra a Escalona et al en el 2011³⁹ quienes reportan la presencia del virus del papiloma humano en un 46% en pacientes VIH positivo y en un 0% en pacientes sanos. Los subtipos encontrados son el 6 y 11, los cuales se encuentran en un 66% en coinfección.

Dayakar et al en el 2016⁴⁰ realizan toma de fluido crevicular de 8 pacientes con el fin de detectar la presencia o ausencia de E6, el ARNm de E7. Los autores reportan una frecuencia del 50% del total de las muestras tomadas, utilizando hibridación in situ. Parra et al⁴¹ reportan la presencia de VPH en fluido crevicular en un 17% de sujetos sanos, se resalta además que se presentó en coinfección con otros virus humanos en un 40%.

Aunque las diferencias no son amplias, la baja frecuencia de VPH en bolsas periodontales de esta investigación comparada con el resto de estudio puede deberse al tamaño de muestra.

³² CAMERON, Jennifer, SNOWHITE, Isaac, CHATURVEDI, Anil, HAGENSEE, Michael. Human Papillomavirus-specific antibody status in oral fluids modestly reflects serum status in human immunodeficiency virus-positive individuals. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2003. vol. 10. no. 3. p. 431-438.

³³ HORMIA, Marketta, WILLBERG, Jaana, RUOKONEN, Hellevi, SYRJÄNEN, Stina. Marginal periodontium as a potential reservoir of human papillomavirus in oral mucosa. *J Periodontol*, 2005. vol. 76. p. 358-363.

³⁴ DAYAKAR, M, SHIPILOVA, A, GUPTA, D. Bolsillo periodontal como posible reservorio del virus del papiloma humano de alto riesgo: un estudio piloto. *J Indian Soc Periodontol*, 2016. vol. 20. no. 2. p. 136-140.

³⁵ HORMIA, Marketta, WILLBERG, Jaana, RUOKONEN, Hellevi, SYRJÄNEN, Stina, Op Cit.

³⁶ BOTERO, Javier, BEDOYA, E. Op. Cit.

³⁷ ESCALONA, Laura, CORRENTI, María, VEITÍA, Dayahindia, PERRONE, Marianella. Op. Cit.

³⁸ CAMERON, Jennifer, SNOWHITE, Isaac, CHATURVEDI, Anil, HAGENSEE, Michael. Op. Cit.

³⁹ ESCALONA, Laura, CORRENTI, María, VEITÍA, Dayahindia, PERRONE, Marianella. Op. Cit.

⁴⁰ DAYAKAR, M, SHIPILOVA, A, GUPTA, D., Op Cit.

⁴¹ PARRA, B, SLOTS, J. Detección de virus humanos en bolsas periodontales mediante reacción en cadena de la polimerasa. *Oral Microbiol Immunol*, 1996. vol. 11. p. 289-293.

Existe la posibilidad de que la bolsa periodontal puede ser un reservorio para el Virus del Papiloma Humano, este factor podría favorecer la aparición de la patología o incluso agravarla, es por eso que la terapia periodontal en estos casos debe estar encaminada a combatir o controlar el VPH.

Debido a la frecuencia encontrada de Virus de Papiloma Humano en bolsas periodontales se considera necesaria la ampliación del tamaño de muestra y mayor seguimiento de los sujetos de estudio.

REFERENCIAS

- ADERHOLD, C, FABER, A, UMBREIT, C, CHAKRABORTY, A, BOCKMAYER, A, BIRK R, et al. Small molecules alter vegfr and pten expression in HPV-positive and -negative scc: New hope for targeted-therapy. *Anticancer Res*, 2015. vol. 35. no. 3. p. 1389-1399.
- ALBANDAR, Jasim, SUSIN, Cristiano, HUGHES, Francis. Manifestations of systemic diseases and conditions that affect the periodontal attachment apparatus: Case definitions and diagnostic considerations. *Journal of Clinical Periodontology*, 2018. vol. 89. no. 1. p. S171-S189.
- BISHOP, Justin, LEWIS, James, ROCCO, James, FAQUIN, William. HPV-related squamous cell carcinoma of the head and neck: An update on testing in routine pathology practice. *Semin Diagn Pathol*, 2015. vol. 32. no. 5. p. 344-351.
- BOTERO, Javier, BEDOYA, E. Determinants of periodontal diagnosis. *Santiago: Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabili. Oral*, 2010. vol. 3. no. 2. p. 94-99.
- CAMERON J, MERCANTE D, O`BRIEN M, GAFFGA A, LEIGH J, FIDEL P JR, HAGENSEE M. The impact of highly active antirretroviral therapy and immunodeficiency on human papillomavirus infection of the oral cavity of human immunodeficiency virus-seropositive adults. *Sex Transm Dis.*, 2005. vol. 32. p. 703-709.
- CAMERON, Jennifer, SNOWHITE, Isaac, CHATURVEDI, Anil, HAGENSEE, Michael. Human Papillomavirus-specific antibody status in oral fluids modestly reflects serum status in human immunodeficiency virus-positive individuals. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2003. vol. 10. no. 3. p. 431-438.
- CHAITANYA, Nallan, ALLAM, Neeharika, GANDHI, D, WAGHRAY, Shefali, BADAM, R., LAVANYA, Reddy. Systematic meta-analysis on association of human papilloma virus and oral cancer. *Telangana: J Cancer Res Ther*, 2016. vol. 12. no. 2. p. 969-974.
- CHAPPLE, Iain, MEALEY, Brian, VAN DYKE, Thomas. Consensus report: Periodontal health and gingival diseases/conditions. *Journal of Clinical Periodontology*, 2018. vol. 45. p. S68-S77.
- CHATURVEDI, Anil, ANDERSON, William, LORTET-TIEULENT, Joannie, CURADO, Maria, FERLAY, Jacques, FRANCESCHI, Silvia. Worldwide trends in incidence rates for oral cavity and oropharyngeal cancers. *Rockville: Journal of Clinical Oncology*, 2013; vol. 31. no, 36. p. 4550-4559.
- HERRERA, David y cols. La nueva clasificación de las enfermedades periodontales y periimplantarias. *Revista Científica de la Sociedad Española de Periodoncia*, 2018. no. 11

- DAYAKAR, M, SHIPILOVA, A, GUPTA, D. Bolsillo periodontal como posible reservorio del virus del papiloma humano de alto riesgo: un estudio piloto. *J Indian Soc Periodontol*, 2016. vol. 20. no. 2. p. 136–140.
- ESCALONA, Laura, CORRENTI, María, VEITÍA, Dayahindia, PERRONE, Marianella. Detección de Virus Papiloma Humano en el fluido gingival de pacientes con inmunodeficiencia humana y enfermedad periodontal. *Invest. Clín*, 2011. vol. 52. no. 3. p. 207-215.
- FORMAN, David, MARTEL, Catherine, LACEY, Charles, SOERJOMATARAM, Isabelle, LORTET-TIEULENT, Joannie, BRUNI, Laia, et al. Global Burden of Human Papillomavirus and Related Diseases. *Vaccine*, 2012. vol. 5. no. 30. p. F12-F23.
- GAMONAL, Jorge, BASCONES, Antonio, JORGE, O., SILVA, Alonso. Chemokine RANTES in gingival crevicular fluid of adult patients with periodontitis. *J Clin Periodontol*, 2000. vol. 27. p. 675-681.
- HARRIS, Jonathan, REBOLLEDO, Martha, FORTICH, Natalia. Papiloma bucal en pacientes pediátricos: Potencial transmisión materna. *Rev Clin Med Fam*, 2012. vol. 5. no. 1. p. 46-50.
- HORMIA, Marketta, WILLBERG, Jaana, RUOKONEN, Hellevi, SYRJÄNEN, Stina. Marginal periodontium as a potential reservoir of human papillomavirus in oral mucosa. *J Periodontol*, 2005. vol. 76. p. 358-363.
- LANG, Niklaus, BARTOLD, Mark. Periodontal health. *Uetligen: Journal of Clinical Periodontology*, 2018. vol. 45, no. 20, p. S9-S16.
- MATESANZ P., MATOS C., BASCONES M. Enfermedades Gingivales: Una revisión de la literatura. Madrid: *Av Periodon Implantol*. 2008. vol. 20. no. 1. p. 11- 25.
- MURAKAMI, Shinya, MEALEY, Brian, MARIOTTI, Angelo, CHAPPLE, Iain. Dental plaque induced gingival conditions. Osaka: *Journal of Clinical Periodontology*, 2018. vol. 45: S17-S27.
- PÁEZ, Yirina, TAMAYO, Baonelys, BATISTA, Arelis, GARCÍA, Yanet, GUERRERO, Ivonne. Factores de riesgo de periodontopatías en pacientes adultos. Holguín: *CORREO CIENTÍFICO MÉDICO DE HOLGUÍN*, 2015. vol. 19. no. 2, p. 269-281.
- PARRA, B, SLOTS, J. Detección de virus humanos en bolsas periodontales mediante reacción en cadena de la polimerasa. *Oral Microbiol Immunol*, 1996. vol. 11. p. 289–293.
- PEREA, MA, CAMPO, J, CHARLÉN, L, BASCONES, A. Enfermedad periodontal e infección por VIH: estado actual. *Av Periodon Implantol*. 2006; 18, 3: 135-147
- QIAGEN. Manual del kit QIAamp® DSP. DNA FFPE Tissue. Febrero de 2017.
- RAMSEIER, Christoph, ANERUD, Age, DULAC, Mary, et al. Natural history of periodontitis: Disease progression and tooth loss over 40 years. Zurich: *Journal of Clinical Periodontology*, 2017. vol. 44. no. 12. p. 1182-1191.

- REBOLLEDO, M, ARANGO, H, REBOLLEDO, R. ALONSO, I. Rol del virus del papiloma humano en el desarrollo de carcinoma oral: Una revisión. Barranquilla: Avances en Odontoestomatología, 2016. vol. 32. no. 3. p. 135-144.
- ROJAS, Gisella, SILVA, Sandra. Técnica sencilla para determinar la presencia de genotipos virales y bacterianos en pacientes con enfermedad periodontal. Revista Científica Odontológica, 2011. vol. 7. no. 2. p. 75-79.
- ŞAHINER, Fatih, KUBAR, Ayhan, YAPAR, Mehmet, ŞENER, Kenan, DEDE, Murat, GÜMRAL, Ramazan. Detection of major HPVs by a new multiplex real-time PCR assay using type-specific primers. J Microbiol Methods, 2014. vol. 97. p. 44-50.
- SHAIKH, Mushfiq, McMILLAN, Nigel, JOHNSON, Newell. HPV-associated head and neck cancers in the Asia Pacific: A critical literatura review & meta-analysis. Cáncer Epidemiol, 2015. vol. 39. no. 6. p. 923-938.
- SIGMUND S., SOCRANSKY S, HAFFAJEE A. Ecología microbial periodontal. Periodontology 2000, 2005. vol. 38. p. 135-187.
- SRITIPPHO, Thanun, CHOTJUMLONG, Pareena, IAMAROON, Anak. Roles of Human Papillomaviruses and p16 in Oral Cancer. Asian Pac J Cancer Prev ,2015. vol. 16. no. 15. p. 6193-6200.
- SROUSSI HY, EPSTEIN JB. Changes in the pattern of oral lesions associated with HIV infection: implications for dentists. JCDA. 2008; 73 (10):949-952.
- TRIBIUS, Silke, HOFFMANN, Markus. Human papilloma virus infection in head and neck cancer. Hamburg: Deutsches Ärzteblatt International, 2013. vol. 110. no. 11. p. 184-190.
- TSAKOGIANNIS, Dimitris, PAPACHARALAMPOUS, Michail, TOSKA, E., KYRIAKOPOULOU, Zaharoula, DIMITRIOU TG, Ruether IG, et al. Duplex Real-time PCR assay and SYBR green I melting curve analysis for molecular identification of HPV genotypes 16, 18, 31, 35, 51 and 66. Mol Cell Probes, 2015. vol. 29. no. 1. p. 13-18.
- VILLAGOMEZ, Vicente, PAZ, Diana, MARINO, Iván, CESEÑAS, Falcón. Prevalencia de infección por virus del papiloma humano en carcinoma espinocelular de cavidad oral, orofaringe y laringe. Monterrey: Cirugía y Cirujanos, 2016. vol. 84. no. 5. p. 363-368.
- ZERÓN, Agustín. La nueva clasificación de enfermedades periodontales. México D.F.: Revista ADM, 2018. vol. 75. no. 3. p. 122-124.

Anexo 1. TABLAS Y GRÁFICOS

Tabla 1. Distribución de características sociodemográficas Sexo y edad de sujetos de estudio

DISTRIBUCIÓN DE SEXO Y EDAD			
SEXO	N°		%
Femenino	12		60
Masculino	8		40
EDAD	N		%
26-36	4		20
37-45	4		20
46-56	4		20
57-65	8		40
Total			100

Tabla 2. Distribución de características sociodemográficas ciudad de residencia y nivel educativo

DISTRIBUCIÓN DE RESIDENCIA Y EDUCACION			
CIUDAD	N°		%
BARRANQUILLA	13		65
CARTAGENA	7		35
EDUCACIÓN	N		%
PRIMARIA	2		10
BACHILLER	4		20
PROFESIONAL	14		70
Total			100

Tabla 3. Distribución de datos en relación a diagnóstico de enfermedad periodontal

DISTRIBUCIÓN DE ENFERMEDAD PERIODONTAL			
PERIODONTITIS	N°		%
Estadío I	4		20
Estadío II	8		40
Estadío III	8		40
Total			100%

Gráfico 1. Distribución de resultados de muestras examinadas en frecuencia absoluta

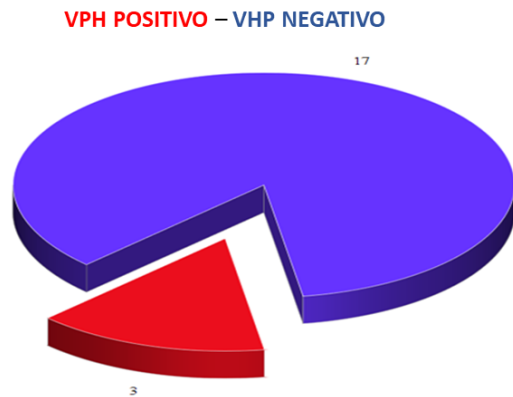


Gráfico 2. Distribución de resultados de genotificación de muestras examinadas en frecuencia absoluta



Imagen 1. Resultados de muestras examinadas en gel de electroforesis.

