

Aggregatibacter actinomycetemcomitans en periodontitis crónica en individuos de Corrientes, Argentina. Estudio preliminar

Aggregatibacter actinomycetemcomitans chronic periodontitis in individuals of Corrientes, Argentina. Preliminary study

Presentado: 2 de octubre de 2015
Aceptado: 2 de diciembre de 2015

Silvia Ortega, Cynthia Sin, María De Biasio

Laboratorio de Investigaciones Científicas, Área de Microbiología, Facultad de Odontología;
Servicio Veterinario de Biología Molecular, Facultad de Veterinaria;
Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina

Resumen

Objetivo: Establecer la prevalencia de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en pacientes con periodontitis crónica en distintos estadios y la distribución de serotipos, utilizando la técnica de reacción en cadena de la polimerasa.

Materiales y métodos: Participaron 54 sujetos, de entre 35 y 65 años de edad, con diagnóstico de periodontitis crónica. La periodontitis se clasificó en leve, moderada y severa. Como grupo control se incluyeron 24 sujetos sin periodontitis, con los mismos parámetros de inclusión. Para la detección de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* se procesaron muestras de placa subgingival obtenidas con cono de papel absorbente, conservadas a -20 °C hasta su procesamiento. El ácido desoxirribonucleico se extrajo por el método de bromuro de cetiltrimetilamonio, y se utilizó la técnica de reacción en cadena de polimerasa para su identificación y serotipado.

Resultados: Los resultados de las reacciones fueron leídos por electroforesis en geles de agarosa teñidos con bromuro de etidio, y la visualización fue realizada por transiluminación ultravioleta. La prevalencia de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en periodontitis crónica fue del 14,81%; el serotipo más frecuente fue el *b*. No se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con y sin periodontitis ($p=0,064$), ni entre los estadios de periodontitis y el serotipo presente ($p=0,2139$).

Conclusión: Aunque los resultados coinciden con la bibliografía, sería conveniente repetir el estudio sobre una muestra mayor.

Palabras clave: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, periodontitis, periodontitis crónica, periodontopatógenos, técnica diagnóstico molecular.

Abstract

Aim: To determine the prevalence of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in patients at different stages of chronic periodontitis, establishing serotype distribution using the polymerase chain reaction.

Materials and methods: Participants were 54 subjects between 35 and 65 years diagnosed with chronic periodontitis. Periodontitis was classified as mild, moderate and severe. The control group included 24 subjects with the same parameters of inclusion without periodontitis. The presence of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* was detected obtaining subgingival plaque samples with absorbent paper cones that were stored at -20 °C until processing. Deoxyribonucleic acid was extracted by the method of cetyl trimethylammonium bromide and the polymerase chain reaction technique was used for identification and serotyping. Reaction results were read by electrophoresis in agarose gels stained with ethidium bromide visualized by ultraviolet transillumination.

Results: The prevalence of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* obtained in chronic periodontitis was 14.81%; and the most

frequent serotype was type b. No statistically significant differences between groups were obtained when comparing individuals with and without periodontitis ($p=0.064$); and no significant differences were found between stages of periodontitis and its serotype ($p=0.2139$).

Conclusion: Our results are similar to other findings mentioned in the literature. We believe that the sample size should be increased in future studies.

Keys words: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, chronic periodontitis, molecular diagnostic technic, periodontitis, periodontopathogens.

Introducción

Aggregatibacter (antes, *Actinobacillus*) *actinomycetemcomitans* (*Aa*) es un cocobacilo o bacilo pequeño Gram negativo, inmóvil, anaerobio facultativo o capnófilico y sacarolítico. Muchos serotipos son mencionados como comensales de esta bacteria. Forma parte de la microbiota bucal, y se localiza principalmente en el *biofilm* supra o subgingival. Es reconocida como habitante normal de la mucosa oral, de la placa dental y de los surcos gingivales,¹ y puede ocasionar infecciones en otras partes del cuerpo por diseminación.²⁻⁵ En 1976 se la halló con frecuencia asociada a periodontitis juvenil localizada; sin embargo, puede contribuir también al desarrollo de otras formas de periodontitis.⁶⁻⁹

Tiene, como factores de virulencia, elementos estructurales y productos extracelulares. Presenta fimbrias que favorecen la adhesión a células epiteliales de la encía, y como organismo Gram negativo posee lipopolisacáridos (LPS) en su pared. Otro factor de virulencia es una toxina distensora (Cdt) que actúa sobre linfocitos T y macrófagos, y que permite la unión y la invasión a células epiteliales.¹⁰ Según otros autores, puede alterar el citoesqueleto de fibroblastos humanos y producir su lisis.¹¹ También es factor de virulencia la producción de leucotoxina, fuerte toxina que invade y altera la función de los polimorfonucleares.¹⁰ El polisacárido O que forma los LPS que rodean al germen permite clasificar a esta bacteria en seis serotipos: *a*, *b*, *c*, *d*, *e*, *f*, a los que se agrega el *g*, recientemente descubierto.¹² Los serotipos *a*, *b* y *c* se recuperan más frecuentemente de la cavidad oral en comparación con los serotipos *d* y *e*, y los serotipos *b* y *c* son los de mayor virulencia.¹³

Hoy la periodontitis es considerada una enfermedad de etiología multifactorial, y entre sus causas se encuentra el factor microbiano.¹⁴⁻¹⁶ Éste es dado por la biopeícula subgingival instalada en el surco gingival, y se compone de una sucesión de bacterias con gran carga virulenta. Entre sus colonizadores se halla el grupo rojo de Socransky,¹⁷ es decir: *Porphyromona gingivalis*, *Tannerella forshytensis*, *Treponema denticola*.

Como se ha mencionado, *Aa* forma parte de la microbiota bucal; no pertenece al grupo citado, pero es considerado potencialmente patógeno de acuerdo al serotipo que habite en el huésped. Los serotipos más vinculados

a la periodontitis agresiva son el *b* —que asimismo se asocia con la producción de betalactamasas, bacteremia y endocarditis— y el *c*, que se aísla principalmente de infecciones extraorales y de cavidades orales sanas.¹⁸ Por esto se hace imprescindible el uso de estudios microbiológicos, que sirven para identificar posibles factores de riesgo, evaluar la severidad de la lesión, determinar el pronóstico, establecer un plan de tratamiento adecuado o elegir un antibiótico específico.¹⁹

La periodontitis crónica se caracteriza clínicamente por alteraciones de color, textura y volumen de la encía marginal, sangrado durante el sondeo de la bolsa gingival, menor resistencia de los tejidos blandos al sondeo por aumento de la profundidad de la bolsa, pérdida del nivel de inserción durante el sondeo, retracción del margen, pérdida de hueso alveolar, exposición de furcación radicular, aumento de movilidad dentaria y, finalmente, pérdida de la pieza dentaria.²⁰ Es prevalente en adultos, y se relaciona con la falta de higiene, niveles de biopeícula, y existen otros factores predisponentes locales, como el hábito de fumar, el estrés y factores de riesgo sistémicos.

La gravedad de la periodontitis depende del grado de pérdida de inserción clínica; puede ser leve, moderada o avanzada.²¹ La mayoría de las veces, la progresión es de lenta a moderada, sin embargo puede haber momentos de destrucción rápida.

Los métodos de detección de la microbiota subgingival son complejos y específicos. Entre ellos, se mencionan los cultivos selectivos, el inmunodiagnóstico y técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Esta última no utiliza microorganismos vivos; se basa en la amplificación de un fragmento de ADN, por lo que se necesitan sondas de ADN para identificar, más fácil y rápidamente, el germen investigado en la muestra.¹⁹ Varios estudios han utilizado este método para detección de diversos periodontopatógenos en distintos tipos de enfermedad periodontal, y han comparado su efectividad con el tradicional método de cultivo.²¹⁻²³

El objetivo de este trabajo es establecer la prevalencia de *Aa* y sus serotipos en pacientes con periodontitis crónica de la ciudad de Corrientes, Argentina, utilizando la técnica de PCR.

Materiales y métodos

Población. La muestra se compone de dos grupos: uno de 54 personas sistémicamente saludables, con diagnóstico clínico de periodontitis crónica, de entre 35 y 65 años de edad; y otro de 25 personas sin enfermedad periodontal, sistémicamente sanas, con igual rango de edad. Todos asistieron a las clínicas odontológicas de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional del Nordeste. Cada participante firmó el consentimiento de acuerdo al aprobado por el Comité de Bioética de esta institución. Los criterios de exclusión fueron: embarazo, lactancia, presencia de diabetes u otra enfermedad sistémica que alterara el curso de la enfermedad periodontal, terapia periodontal en el último año, o utilización de antimicrobianos de forma sistémica o tópica en los seis meses previos al examen clínico y a la toma de muestras microbiológicas.

Muestras. Después de realizar el examen clínico, se registraron la profundidad de bolsa y la recesión gingival empleando una sonda periodontal calibrada (tipo Marquis) que permitió clasificar la periodontitis en leve (hasta 4 mm), moderada (5 y 6 mm) o severa (más de 6 mm). En cada paciente, se determinaron los dos sitios con mayor profundidad de sondaje. Se aisló la zona con rollos de algodón, se removió la placa supragingival con una torunda de algodón, y se secó el sitio; se tomaron muestras del surco gingival con conos de papel absorbente n.º 30 o 35 (Asorbent Paper Points; Meta, Biomed, Chungbuk, Corea) durante 60 segundos, y se colocaron en tubos Eppendorf, los cuales fueron transportados bajo refrigeración y almacenados a -20 °C hasta su procesamiento.

Extracción de ADN. El material adherido a los conos de papel fue suspendido en solución fisiológica (500 µL) homogeneizando en vórtex durante 10 segundos. Se extrajo el cono de papel, se centrifugó por 4 minutos a 12.000 rpm, se obtuvo un pellet de células y se desechó el excedente de solución fisiológica. El ADN se extrajo por el método de CTAB (bromuro de cetiltrimetilamonio). Se adicionaron al pellet 500 µl de solución de homogenización con bromuro de cetiltrimetilamonio; las muestras se incubaron a 60 °C en baño termostático durante 60 minutos. Se agregó una mezcla (500 µl) de cloroformo/alcohol isoamílico en una proporción de 24:1; se mezcló vigorosamente y se centrifugó a 12.000 rpm durante 3 minutos. Luego se adicionaron 500 µl de una solución de alcohol isopropílico, se agitó nuevamente y se centrifugó por 10 minutos a 13.000 rpm. Se descartó el sobrenadante. Se agregaron 500 µl de alcohol etílico 70%, se agitó de forma lenta, y se centrifugó a 13.000 rpm durante 5 minutos. Se descartó el sobrenadante y se suspendió el pellet en 30 µl de agua tridestilada.

Amplificación por PCR.⁹ Las secuencias de cebadores utilizadas para la identificación de *Aa* fueron LKT2 5'-CTAGGTATTGCGAAACAATTTG-3' y LKT3 5'-CCTGAAATTAAGCTGGTAATC-3', que amplifican un fragmento de 262 pares de bases. La reacción se realizó en un volumen final de 20 µl. Las concentraciones finales fueron de 1X buffer de PCR, 1,5 mM de MgCl₂, 0,25 mM de cada dNTP (Biodynamics, Argentina) 1 µM de cada primer y 2,0 U Taq DNA polimerasa (Promega, Argentina). El programa de ciclado (Termociclador Multigene, Estados Unidos) consistió en una desnaturalización por 2 minutos a 96 °C, seguida de 25 ciclos: 15 segundos a 94 °C, 30 segundos a 54 °C, 60 segundos a 72 °C, con extensión final de 10 minutos a 74 °C e incubación a 4 °C. En todas las reacciones se incluyeron controles negativos y positivos consistentes en agua y ADN obtenidos por el método de lisis con CTAB y su posterior purificación, a partir de cepas de referencia. Los productos de PCR se separaron por electroforesis en agarosa 1% en buffer TBE1x, teñidos con bromuro de etidio y visualizados por transiluminación UV.

Para el serotipado a-e se realizó una PCR Multiplex (a-e). Los cebadores utilizados para la serotipificación fueron SA-F 5'-GCAATGATGTATTGCTTCTTTTGGGA-3'-SA-R 5'-CTTCAGTTGAATGGGGATTGACTAAAAC-3'; SB-F 5'-CGGAAATGGAATGCTTGC-3' -SBR 5'-CTGAGGAAGCCTAGCAAT-3'; SC-F 5'-AATGACTGCTGTCGGAGT-3'-SC-R5'-CGCTGAAGGTAATGTC-AG-3'; SD-F 5'-TTACCAGGTGTCTAGTCGGA-3' -SD-R 5'-GG-CTCCTGACAACATTGGAT-3'; SE-F 5'-CGTAAGCAGGAAGAATAGTAAACGT-3' -SE-R 5'-AATACCGATGGCACATCAGACTTT-3. La reacción se realizó en un volumen final de 20 µl. Las concentraciones finales fueron de 1X buffer de PCR, 1,5 mM de MgCl₂, 0,25 mM de cada dNTP (Biodynamics), 2 µM de cada primer y 2,0U Taq DNA polimerasa (Promega), más 2 µl de los ADN obtenidos. El programa de ciclado consistió en una desnaturalización de 5 minutos 94 °C, seguida de 25 ciclos de 40 segundos 94 °C, 30 segundos 54 °C, y 40 segundos 74 °C, continuando con extensión final de 10 minutos a 74 °C e incubación a 4 °C. Los productos de PCR se separaron por electroforesis en agarosa 1% en buffer TBE1x, teñidos con bromuro de etidio y visualizados por transiluminación UV.

Resultados

Población. Los sujetos con periodontitis presentaron una edad promedio de 50 ± 8 años. El 59,25% eran de sexo masculino, y el 40,74% de sexo femenino. El grupo control arrojó un promedio de edad de 45 años, un 20% de sexo masculino y 80% de sexo femenino.

Inspección clínica. El índice de O’Leary promedió el 41,37% en el sexo femenino y el 40,93% en el masculino. De acuerdo a la profundidad de sondaje, se obtuvieron los resultados que se muestran en la tabla 1.

El grupo se dividió en pacientes con periodontitis y sin periodontitis. En la tabla 2 puede observarse la frecuencia de distribución de *Aa*.

Se empleó la prueba estadística de Chi cuadrado para evaluar las diferencias según la presencia o la ausencia de *Aa* en un grupo de pacientes con periodontitis y en un grupo control sin periodontitis. El valor de *p* fue de 0,064. Este valor no es significativo al 5%, lo cual sugiere que con mayor cantidad de datos la hipótesis de diferencias entre grupos puede ser demostrada.

En este trabajo, se implementó la PCR para la detección de *Aa*. Se logró la identificación del 14,81% en promedio aritmético, correspondiente a 8 de los pacientes estudiados. En el sexo femenino se logró el mayor número de determinaciones, y se halló la mayor prevalencia en periodontitis moderadas. En el grupo control de sujetos sanos sin enfermedad periodontal no se detectó la presencia de *Aa* y, por lo tanto, ningún serotipo (figs. 1 y 2).

Las muestras clínicas *Aa* detectables se sometieron a PCR Multiplex para establecer los serotipos (fig. 3).

Aunque en las muestras positivas pudieron observarse bandas de detección, una no pudo ser serotipada, probablemente porque la cantidad de ADN existente no fue suficiente para determinar el serotipo.

Los resultados de acuerdo al sexo y la gravedad de la lesión periodontal pueden consultarse en la tabla 3.

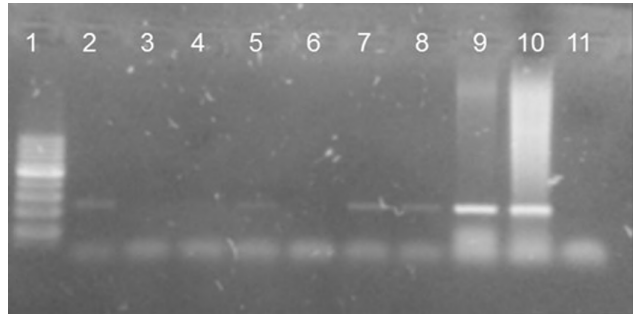


Figura 1. Perfil electroforético de amplicones de PCR sencilla, especie específica, para *Aa* en gel de agarosa (1%). Calle 1: Marcador de peso molecular (CienMarker); calles 2, 5, 7 y 8: muestras clínicas *Aa* detectables; calles 3, 4 y 6: muestras clínicas *Aa* no detectables; calles 9 y 10: controles positivos (cepas 3632 y 29523); calle 11: control negativo (H₂O).

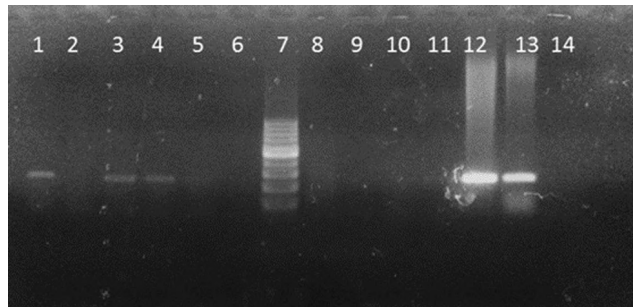


Figura 2. Perfil electroforético en agarosa 1% de un grupo de pacientes estudiados. Calles 1, 3, 4, 5 (banda débil observada directamente): muestras clínicas *Aa* detectables; calles 2, 8, 9, 10: pacientes *Aa* no detectables; calle 7: marcador de peso molecular; calles 12 y 13: controles positivos (cepa 29523 y 781); calle 14: control negativo.

Tabla 1. Distribución de la severidad de la lesión según la profundidad de sondaje.

Clasificación	Frecuencia	
	(%)	N
Leve	42,59	25
Moderada	24,07	12
Severa	25,92	17

Fuente: propia.

Tabla 2. Prevalencia de *Aa* en pacientes estudiados.

Con periodontitis	54	(+): 8 (14,81%)
		(-): 46 (85,18%)
Sin periodontitis	25	(-): 0 (100%)

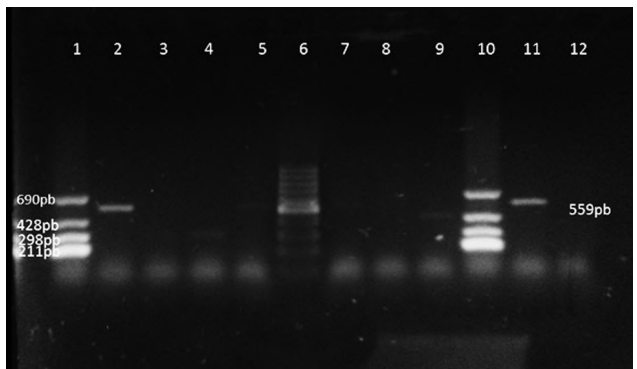


Figura 3. Perfil electroforético en gel de agarosa 1%. Calle 1: escalera alélica de peso molecular lograda en la PCR Multiplex; calle 2: fragmento de 559 pb (serotipo c); calles 3 y 4: bandas de 298pb aproximadamente, que se correlacionan con serotipo b; calle 5: banda de aproximadamente 559 pb; calle 6: marcador de peso molecular (Cienmarker); calle 7: banda de 559 pb que se correlaciona con serotipo c; calle 8: no amplificó; calle 9: banda de aproximadamente 428 pb que se correlaciona con serotipo a; calle 10: escalera alélica de peso molecular lograda en la PCR Multiplex; calle 11: control serotipo c; calle 12: control negativo.

Las muestras clínicas en las que se detectó genoma bacteriano perteneciente a *Aa* de acuerdo a las condiciones estudiadas fueron sometidas a análisis de serotipo por PCR Multiplex. De los 8 pacientes, fue posible determinar 7, que se distribuyeron según sexo y grado de periodontitis (tabla 4).

Se realizó la prueba Chi cuadrado en el grupo con periodontitis, a fin de evaluar si las diferencias de serotipo están relacionadas con los tipos leve, moderado y severo de periodontitis. No se obtuvieron diferencias significativas entre los grupos y el serotipo presente (p=0,2139). Para el análisis estadístico se utilizó el programa InfoStat versión 2014 (Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

Discusión

En este trabajo pretendimos demostrar la presencia de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y la frecuencia de sus serotipos, mediante PCR, en muestras de líquido crevicular proveniente de bolsas periodontales de pacientes con periodontitis crónicas. Para ello, se estandarizó la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), lo cual permitió disponer de otro método de diagnóstico para la identificación de microorganismos, que reúne las características de especificidad y sensibilidad.

En la población estudiada –individuos de raza blanca, de entre 35 a 65 años– se determinó una prevalencia del 14,81% de *Aa* en pacientes con diagnóstico clínico de periodontitis crónica, lo cual coincide con los estudios de Rylev,²⁴ quien menciona que la prevalencia de *Aa* va del 8% al 57% en diferentes poblaciones del mundo. Varios estudios emplearon PCR para la identificación de diferentes microorganismos. Roman-Torres²⁵ halló una prevalencia de *Aa* del 17,7% en periodontitis leves y moderadas, y un 17,7% en periodontitis severas, sin una diferencia significativa entre los estadios de enfermedad periodontal. Otros dos estudios latinoamericanos^{23,26} determinaron una prevalencia cercana al 20%. En 2003, un estudio²⁷ sobre población japonesa halló una prevalencia del 19,5% de *Aa* en periodontitis crónica. En un estudio realizado en 2009 por Vieira,²⁸ en una población nativa de Brasil, se encontró una prevalencia de *Aa* del 34%, lo que difiere de nuestro trabajo; es probable que las profundidades de la bolsa y la etnia hayan contribuido a tan alto porcentaje. Según Flemmig,²⁹ la detección de *Aa* en muestras de líquido crevicular depende de la cantidad de placa subgingival y del método de muestreo. Este autor sugiere el empleo de curetas para lograr mejores resultados. En nuestro trabajo se utilizó el método de muestreo con conos de papel absorbente introducidos en el surco gingival; se recurrió al método de PCR sencilla, por contar con el material, reactivos y equipamiento para ello. Varios estudios evaluaron la distribución de los serotipos y demostraron resultados disímiles de asociación³⁰ en sujetos periodontalmente sanos, con periodontitis agresiva y crónica e infecciones en distinta localización.³¹⁻³³ Asimismo, la distribución depende de la raza, la etnia, las poblaciones geográficas y la susceptibilidad del huésped. En este estudio, se trabajó con oligonucleótidos específicos para identificar los serotipos *a, b, c, d, e*. El serotipo hallado con mayor frecuencia fue el *b*; este serotipo es el más relacionado con las periodontitis agresivas dada su alta carga virulenta, aunque pueden diferenciarse dos cepas: una altamente leucotóxica (JP2), que produce mayor pérdida de inserción;³⁴ y otra levemente leucotóxica (Y4). En este trabajo, sólo pudimos establecer la presencia del serotipo *b*, no así de las diferentes cepas. Éste fue hallado en lesiones moderadas y severas. El serotipo que mostró el segundo lugar en frecuencia fue el *a*, en lesiones leves y moderadas; seguido del *c* y del *e*, también en lesiones leves y moderadas, respectivamente. En Estados Unidos, el serotipo *b* fue más común que los serotipos *a* y *c*, en pacientes con periodontitis agresiva localizada.³⁵ En un estudio realizado en Finlandia,³⁶ el serotipo más frecuente fue el *b* en pacientes con periodontitis, y el *c*

Tabla 3. Distribución de frecuencia de *Aa* por sexo y edad.

Sexo		Periodontitis		
		Leve	Moderada	Severa
Femenino	6	2	3	2
Masculino	2	1	1	/

Tabla 4. Distribución de serotipos según sexo y severidad de la lesión.

	Sexo	Grado de periodontitis	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>e</i>
Paciente 13	F	Leve	+	/	/	/	/
Paciente 22	F	Moderada	+	/	/	/	/
Paciente 33	F	Leve	/	/	/	/	/
Paciente 34	F	Moderada	/	+	/	/	/
Paciente 39	M	Leve	/	/	+	/	/
Paciente 40	M	Moderada	/	+	/	/	/
Paciente 44	F	Severa	/	+	/	/	/
Paciente 53	F	Moderada	/	/	/	/	+

en pacientes periodontalmente sanos. En japoneses con periodontitis, los serotipos *a*, *c* y *e* fueron los más predominantes.³⁷ Aunque algunos autores^{34,38} observaron huéspedes con infección mixta de serotipos, en nuestro trabajo no hemos encontrado coinfección de serotipos. En este estudio se incluyó un grupo de sujetos periodontalmente sanos en los cuales no fue detectada la presencia de *Aa* y, por ende, ningún serotipo.

Conclusiones

Se halló una prevalencia del 14,81% de *Aa* en pacientes de raza blanca con periodontitis crónica. Aunque coincide con otros resultados, sería conveniente realizar el estudio sobre un número mayor de muestras. Con respecto al serotipo, independientemente de la severidad de la lesión, en la población estudiada el más frecuente fue el *b*, aplicando similar metodología a la utilizada en otros países.

Agradecimientos: A la Secretaría General de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional del Nordeste, por su apoyo. A todas las personas que, de una u otra forma, contribuyeron a la realización de este trabajo.

Los autores declaran no tener conflictos de interés en relación con este estudio y afirman no haber recibido financiamiento externo para realizarlo.

Referencias

- Henderson B, Ward JM, Ready D. Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans: a triple A*periodontopathogen? *Periodontology* 2000;54:78-105.
- Padilla CE, Lobos O, Jure G, Matus S, Descouvieres C, Hasbún S, et al. Aislamiento de bacterias periodontopáticas desde hemocultivos y ateromas obtenidos de pacientes con aterosclerosis y periodontitis. *Rev Méd Chile* 2007;135:1118-24.
- Rahamat-Langendoen JC, Van Vonderen MGA, Engstrom LJ, Manson WL, Van Winkelhoff AJ, Mooi-Kokenberg EAM. Brain abscess associated with Aggregatibacter actinomycetemcomitans: case report and review of literature. *J Clin Periodontol* 2011;38:702-6.
- Vandepitte J, De Geest H, Jousten P. Subacute bacterial endocarditis due to Actinobacillus actinomycetemcomitans. *J Clin Pathol* 1977;30:842-6.
- Pirkko J, Pussinen KN, Alftan G, Salonen S, Laukkanen J, Salonen T. Serum antibody levels to Actinobacillus actinomycetemcomitans predict the risk for coronary heart disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* 2005;25:833-8.
- Zambón JJ. Actinobacillus actinomycetemcomitans in human periodontal disease. *J Clinical Periodontol* 1985;12:1-20.
- Gaetti-Jardim Jr E, Wahasugui T, Tomazinho P, Martins Marques M, Nakano V, Avila-Campos J. Distribution of biotypes and leukotoxic activity of Aggregatibacter actinomycetemcomitans isolated from Brazilian patients with chronic periodontitis. *Braz J Microbiol* 2008;39:658-63.
- Cortelli JR, Roman-Torres CVG, Aquino DR, Franco GCN, Costa FO, Cortelli SC. Occurrence of Aggregatibacter actinomycetemcomitans in Brazilians with chronic periodontitis. *Braz Oral Res* 2010;24:217-23.
- Suzuki N, Nakano Y, Yhosida Y, Ikeda D, Koga T. Identification of Actinobacillus actinomycetemcomitans serotypes by multiplex PCR. *J Clin Microbiol* 2001;39:2002-5.
- Díaz Zúñiga J, Yáñez Figueroa J, Melgar Rodríguez S, Álvarez Rivas C, Rojas Lagos C, Vernal Astudillo R. Virulencia y variabilidad de Porphyromonas gingivalis y Aggregatibacter actinomycetemcomitans y su asociación a la periodontitis. *Rev Clin Periodoncia Implantol Rehabil Oral* 2012;5:40-5. Disponible en: www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0719-01072012000100007&lng=es
- Gutiérrez Venegas G, Contreras-Marmolejo L, Román-Alvarez P, Barajas-Torres C. Aggregatibacter actinomycetemcomitans lipopolysaccharide affects human gingival fibroblast cytoskeletal organization. *Cell Biol Int* 2008;32:417-26.
- Takada K, Saito M, Tsuzukibashi O, Kawashima Y, Ishida S, Hirasawa M. Characterization of a new serotype g isolate of Aggregatibacter actinomycetemcomitans. *Molecular Oral Microbiol* 2010;25:200-6.
- Kawamoto D, Ando E, Longo P, Nunes A, Wikstrom M, Mayer Pintos Alves M. Genetic diversity and toxic activity of Aggregatibacter actinomycetemcomitans isolates. *Oral Microbiol and Immunol* 2009;4:493-501.
- Armitage GC, Robertson PB. The biology, prevention, diagnosis and treatment of periodontal diseases: scientific advances in the United States. *J Am Dent Assoc* 2009;140:36-43.
- Carasol MA, lández FJ, Herrera J, Sanz M. El diagnóstico microbiológico de las enfermedades periodontales I. Relación con la etiopatogenia. *Periodoncia* 1997;7:215-26.
- Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *Lancet* 2005;1809-20.
- Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1998;25:134-44.
- Paton C. Actinobacillus actinomycetemcomitans: su susceptibilidad a los microbianos. Tesis doctoral, Universitat de Barcelona, 2007.
- Frías Lopez M, Herrera Ureña J, Carasol Campillo M, Donate Castro E. Diagnóstico de la enfermedad periodontal basado en la respuesta del huésped. *Cient Dent* 2007;4:159-69.
- Lindhe J, Karring T, Lang N. *Periodontología clínica e implantología odontológica*. 4ª ed., Buenos Aires, Panamericana, 2005.
- Mayorga-Fayad I, Lafaurie GI, Contreras A, Castillo DM, Barón A, Aya MR. Subgingival microbiota in chronic and aggressive periodontitis in Bogotá, Colombia: an epidemiological approach. *Biomedica* 2007;27:21-33.
- Slots J, Zambon JJ, Rosling BG, Reynolds HS, Christersson LA, Genco RJ. Actinobacillus actinomycetemcomitans in human periodontal disease. Association, serology, leukotoxicity and treatment. *J Periodontol Res* 1982;17:447-8.
- Herrera D, Contreras A, Gamonal J, Oteo A, Jaramillo A, Silva N, et al. Subgingival microbial profiles in chronic periodontitis patients from Chile, Colombia and Spain. *J Clin Periodontol* 2008;35:106-13.
- Rylev M, Kilian M. Prevalence and distribution of principal periodontal pathogens worldwide. *J Clin Periodontol* 2008;35:346-61.

25. Roman-Torres, C. Prevalence and distribution of serotype-specific genotypes of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in chronic periodontitis Brazilian subjects. *Ar Oral Biol* 2010;55:242-8.
26. Lafaurie G, Contreras A, Barón A, Botero J, Mayorga-Fayad I, Jaramillo A, *et al.* Demographic, clinical, and microbial aspects of chronic and aggressive periodontitis in Colombia: a multicenter study. *J Periodontol* 2007;78:629-39.
27. Yoshida Y, Suzuki N, Shibuya K, Ogawa Y, Koga T. Distribution of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotypes and *Porphyromonas gingivalis* in Japanese adults. *Oral Microbiol Immunol* 2003;18:135-9. Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12753462
28. Vieira EM, Raslan S, Wahasugui T, Ávila-Campos M, Marville V, Gaetti-Jardim Jr E. Occurrence of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in Brazilian indians from Umutina reservation, Mato Grosso, Brazil. *J Appl Oral Sci* 2009;17:440-5. Disponible en: www.icb.usp.br/bmm/mariojac/arquivos/vieira%20et%20al.%202009.pdf
29. Flemmig T, Rudiger S, Hofmann U, Schmidt H, Plaschke B, Stratz A, *et al.* Identification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in subgingival plaque by CR. *J Clin Microbiol* 1995;33:3102-5.
30. Brígido JA, Da Silveira VRS, Rego RO, Nogueira NAP. Serotypes of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in relation to periodontal status and geographic origin of individuals-a review of the literature. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2014;19:184-91. Disponible en: www.medicinaoral.com/medoralfree01/v19i2/medoralv19i2p184.pdf
31. Kaplan JB, Perry MB, Maclean LL, Furgang D, Wilson ME, Fine DH. Structural and genetic analyses of O polysaccharide from *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotype f. *Infect Immun* 2001;69:5375-84.
32. Asikainen S, Lai CH, Alaluusua S, Slots J. Distribution of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotypes in periodontal health and disease. *Oral Microbiol Immunol* 1991;6:115-8.
33. Haubek D, Dirienzo JM, Tinoco EMB, Westergaard J, López NJ, Chung CP. Racial tropism in a highly toxic clone of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* associated with juvenile periodontitis. *J Clin Microbiol* 1997;35:3037-42.
34. Cortelli SC, Cardoso Jorge AO, Cortelli JR, Jordan SF, Haraszthy VI. Detection of highly and minimally leukotoxic *Actinobacillus actinomycetemcomitans* strains in patients with periodontal disease. *Pesqui Odontol Bras* 2003;17:183-8.
35. Chen C, Wang T, Chen W. Occurrence of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* serotypes in subgingival plaque from United States subjects. *Molecular Oral Microbiol* 2010;25:207-14.
36. Asikainen S, Chen C, Slots J. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* genotypes in relation to serotypes and periodontal status. *Oral Microbiol Immunol* 1995;10:65-8.
37. Yamamoto M, Nishihara T, Koseki T, He T, Yamato K, Zhang YJ, *et al.* Prevalence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotypes in Japanese patients with periodontitis. *J Periodontal Res* 1997;32:676-81.
38. Van Der Reijden WA, Bosch-Tijhof CJ, Van Der Velden U, Van Winkelhoff AJ. Java project on periodontal diseases: serotype distribution of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and serotype dynamics over an 8-year period. *J Clin Periodontol* 2008;35:487-92.

Contacto:

SILVIA ORTEGA

silviaortega14@yahoo.com.ar

Barrio Lomas II, Manzana 142 (3400)

Corrientes, Argentina