

Valor predictivo de la candidiasis oral como marcador de evolución a SIDA

Javier Fernández Feijoo ⁽¹⁾, Pedro Diz Dios ⁽¹⁾, Xosé Luis Otero Cepeda ⁽²⁾, Jacobo Limeres Posse ⁽¹⁾, Javier de la Fuente Aguado ⁽³⁾, Antonio Ocampo Hermida ⁽³⁾

(1) Dpto. de Estomatología. Facultad de Medicina y Odontología. Universidad de Santiago de Compostela. España.

(2) Dpto. de Estadística e Investigación Operativa. Facultad de Matemáticas. Universidad de Santiago de Compostela. España

(3) Unidad de Enfermedades Infecciosas. Servicio de Medicina Interna. Hospital Xeral-Cíes. Vigo, España.

Correspondencia:

Pedro Diz Dios

C/ Panamá 2; 2^{da} dcha.

36203 Vigo España

Fax: 34 981 562226

E-mail: pdiz@usc.es

Recibido: 05-11-2003 Aceptado: 01-02-2004

Fernández-Feijoo J, Diz-Dios P, Otero-Cepeda XL, Limeres-Posse J, de la Fuente-Aguado J, Ocampo-Hermida A. Valor predictivo de la candidiasis oral como marcador de evolución a SIDA. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2005;10:32-40.

© Medicina Oral S. L. C.I.F. B 96689336 - ISSN 1698-4447

Indexed in:

-Index Medicus / MEDLINE / PubMed

-EMBASE, Excerpta Medica

-Índice Médico Español

-IBECs

RESUMEN

Objetivo: Determinar la validez de la candidiasis oral (CO) como marcador clínico de evolución en los pacientes infectados por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana.

Diseño del estudio: En 1992, se efectuó una exploración oral a un colectivo de 200 pacientes infectados por VIH, con una edad media de 36,8±7 años (rango 25-46 años) para establecer el diagnóstico de CO. Se registraron las variables edad, sexo, tiempo de evolución de la enfermedad, conducta de riesgo, número de linfocitos CD4/μL, estadio clínico y tratamiento antirretroviral. De los 200 pacientes del grupo de estudio, 157 no cumplían criterios de SIDA en el momento de la exploración basal y a éstos se les efectuó un seguimiento semestral hasta que cumplieron dichos criterios, concluyendo el estudio al final de 2001.

Resultados: De los 157 pacientes seleccionados, 71 (45,2%) no presentaron CO y de éstos el 28,7% evolucionó a SIDA durante el período de seguimiento. De los 86 (54,8%) pacientes con CO, el 48,2% evolucionó a SIDA (RR=2,71). Al trasladar el origen del estudio al año 1997 cuando se inició la administración de la terapia antirretroviral de alta eficacia (TAAE), no se observaron diferencias en el porcentaje de pacientes que evolucionaron a SIDA en relación a la existencia o no de CO en la exploración basal. El análisis multivariante demostró que la asociación de la variable de exposición CO con la evolución a SIDA no alcanzó un valor predictivo.

Conclusiones: El valor pronóstico a largo plazo de la CO, no se ha determinado en pacientes que reciben terapia antirretroviral de alta eficacia (TAAE). La recuperación inmunológica y la disminución de enfermedades oportunistas observadas tras la administración de TAAE, hacen que muchos pacientes que alcanzaron la condición de SIDA no cumplan en la actualidad

dichos criterios, lo que obliga a renovar la propia definición del síndrome para poder evaluar marcadores de pronóstico.

Palabras clave: Candidiasis Oral, VIH, SIDA, evolución, pronóstico.

INTRODUCCION

Se han empleado múltiples marcadores clínicos, biológicos y analíticos para intentar pronosticar la evolución de la infección por VIH (1-11). Se ha sugerido que los marcadores de laboratorio pueden reflejar sólo parcialmente el estadio y el ritmo de progresión de la enfermedad, por lo que la inclusión de indicadores clínicos ayudará a proporcionar una perspectiva más global del paciente.

Algunas lesiones orales asociadas a la infección por VIH se consideran predictivas de la progresión de la enfermedad (12). Aunque en numerosos trabajos (13-19) se ha confirmado el valor pronóstico de la candidiasis oral (CO) como indicador de inmunosupresión severa y evolución a SIDA, en la mayoría de estas investigaciones sólo se evaluó el impacto de la CO a corto plazo, antes de la administración generalizada de la terapia antirretroviral de alta eficacia (TAAE) y en grupos de estudio con una distribución por conductas de riesgo muy diferente a la de nuestro entorno.

El propósito del presente trabajo fue, analizar la validez de la CO como marcador independiente de progresión a SIDA en un colectivo de pacientes españoles infectados por VIH y controlados durante un largo período de seguimiento.

MATERIAL Y METODOS

En el primer trimestre de 1992 (examen basal), con la finalidad de analizar la prevalencia y las características de la CO relacionada con la infección por VIH, se constituyó un grupo de estudio de 200 pacientes infectados por VIH-1 procedentes de la Unidad de Enfermedades Infecciosas del Hospital Xeral-Ciés de Vigo, perteneciente al Servicio Gallego de Salud. El colectivo de estudio lo conformaron 113 (72%) varones y 44 (28%) mujeres con una edad media de 36,87 años (rango 25-46 años). La selección de los pacientes se efectuó aplicando los siguientes criterios de inclusión: Edad superior a 18 años, diagnóstico de infección por VIH realizado mediante análisis inmunoenzimático (EIA) confirmado por Western Blot, y participación voluntaria en el estudio (consentimiento informado). Se excluyeron los pacientes que presentaban alguna de estas características: uso de antifúngicos como profilaxis o tratamiento de entidades nosológicas distintas a la CO (Criptococosis), alteraciones metabólicas o bioquímicas severas, administración simultánea de antibióticos, citostáticos o corticosteroides, portadores de prótesis dentales acrílicas removibles y otros factores predisponentes para el desarrollo de CO (20-34).

Se registraron además del sexo, la fecha estimada de seroconversión (definida como el primer test positivo de anticuerpos frente al VIH-1), el tiempo de evolución (número de semestres transcurridos desde la fecha estimada de la seroconversión hasta la exploración basal), la conducta de riesgo, la categoría clínica de acuerdo con los criterios de los Centros para el Control de las Enfermedades de Atlanta (35), el número de linfocitos CD4/ μ L y el tratamiento antirretroviral.

Cada paciente fue sometido a un examen oral en el momento de la exploración basal, para determinar la existencia de lesiones sugestivas de CO, registrándose las variables clínicas pseudomembranosa, eritematosa, queilitis angular e hiperplásica. Se recogieron muestras con un hisopo estéril del dorso de la lengua, del paladar y de la mucosa vestibular bucal. Cuando se observaron alteraciones de la mucosa compatibles con CO se tomó una muestra adicional de esa zona. Todos los especímenes se sembraron en placas de Sabouraud-dextrosa-agar e incubados a 37° C durante 48 horas. Se consideraron positivos desde el punto de vista cuantitativo sólo aquellos cultivos con >50 UFC/ml. Las especies de hongos fueron identificadas por los sistemas automáticos Candidafast Unipath y Api 20 C AUX (Biomérieux, Barcelona, España). El diagnóstico definitivo de CO se estableció aplicando criterios clínicos y microbiológicos (36,37).

Aplicando la definición europea de caso SIDA (38) se realizó un registro semestral de evolución a SIDA en el grupo de pacientes que no cumplían criterios de SIDA en enero de 1992 (n=157), desde esta fecha hasta diciembre de 2001 (final del estudio). El tiempo de evolución a SIDA se estableció como el número de semestres transcurridos desde la exploración oral hasta que el paciente desarrolló alguna enfermedad definitiva de SIDA (35). El tiempo acumulado de evolución a SIDA se definió como el número de semestres transcurridos desde la fecha estimada de seroconversión hasta que el paciente desarrolló alguna enfermedad definitiva de SIDA (35).

Para el estudio de la relación de la variable de interés (presencia

o ausencia de CO) con las restantes variables registradas en la exploración basal (sexo, edad, conducta de riesgo, categoría clínica, número de linfocitos CD4/ μ L y tratamiento antirretroviral), se utilizaron tablas de contingencia, a partir de las cuales se estimaron prevalencias, se calcularon riesgos relativos (cociente de prevalencias: "Risk Ratio" –RR-) y errores típicos, y se construyeron intervalos de confianza.

Se aplicó el modelo de regresión de Cox para estimar la magnitud de los riesgos relativos (Razón de peligros: "Relative Hazards" –RH-) en los diferentes factores de riesgo considerados en el estudio. Comenzamos estimando el riesgo relativo de la variable CO aislada mediante un modelo de regresión de Cox univariante y posteriormente se ajustó el efecto de la CO por las demás variables del estudio mediante modelos de regresión de Cox multivariantes.

RESULTADOS

Descriptivo

El tiempo medio de evolución desde la fecha estimada de seroconversión hasta el momento de la exploración basal en 1992 fue de 4,7 \pm 4,2 semestres. Según la conducta de riesgo, 112 (71%) pertenecían al grupo de adictos a drogas por vía parenteral -ADVP-, 20 (12,5%) eran varones homosexuales y 25 (16,5%) pacientes se habían contagiado por relaciones heterosexuales. En el momento de la exploración basal, 81 pacientes pertenecían al estadio clínico A (51,5%) y 76 al B (48,5%). Por niveles de linfocitos CD4/ μ L, 41 pacientes (26%) tenían más de 500 linfocitos CD4/ μ L, 77 (49%) tenían entre 200 y 500 linfocitos CD4/ μ L y 39 (25%) tenían menos de 200 linfocitos CD4/ μ L. Sólo el 50,3% de los pacientes recibían tratamiento antirretroviral en 1992, 75 con AZT y 4 con AZT+ddI.

Candidiasis Oral

En el momento de la exploración inicial 86 pacientes (54%) presentaban CO, de los cuales 69 (80%) casos correspondían a la forma pseudomembranosa, 13 (15,5%) a la eritematosa, 2 tenían queilitis angular, 1 candidiasis hiperplásica y 1 caso formas clínicas mixtas. La especie predominante fue *Candida albicans* (92,5%), aislándose en los demás casos *no-albicans spp.* (*krusei*, *glabrata*, *guilliermondii*, *lambica* y *parapsilosis*).

La prevalencia de CO fue mayor en varones que en mujeres (64,3% frente a 50,8%), aunque esta diferencia no resultó significativa (RR= 1,26; IC95%: 0,95-1,67). El tiempo transcurrido desde la fecha de seroconversión hasta el momento de la exploración basal fue de 4,8 \pm 4,4 semestres en los pacientes con CO y de 4,4 \pm 4,0 semestres en los que no presentaban CO, no alcanzando esta diferencia significación estadística. Al distribuir a los pacientes por conductas de riesgo en 2 grupos, ADVP y contagiados por vía sexual (heterosexual y homosexual), observamos una prevalencia de CO en el primer grupo de 65,5% y en el segundo grupo de 49,1%. El riesgo relativo estimado del grupo de ADVP frente al de contagio sexual fue RR=1,33 (IC 95%: 0,99-1,58); esta diferencia no resultó significativa. La relación de CO con el estadio clínico demostró un aumento de la prevalencia de CO a medida que se agravaba el estadio. El riesgo relativo del grupo B frente al A fue RR (B/A)= 1,51 (IC 95%: 1,12-2,03). El riesgo relativo del grupo C frente al A fue

RR (C/A)= 2,02 (IC 95%: 1,53-2,66). En ambos casos el RR fue significativamente superior a 1. La prevalencia de CO aumentó a medida que disminuía el nivel de linfocitos CD4/ μ L; la prevalencia de CO en el grupo de nivel intermedio de linfocitos CD4/ μ L (200-500) no fue significativamente superior a la del grupo de nivel de linfocitos más alto (>500/ μ L), siendo el riesgo relativo RR= 1,28 (IC 95%: 0,85-1,91); pero la prevalencia de CO en el grupo de linfocitos CD4<200/ μ L fue significativamente mayor que la del grupo de linfocitos CD4/ μ L>500, con un RR= 1,92 (IC 95%: 1,32-2,78). Los pacientes sometidos a tratamiento antirretroviral en 1992 presentaban una prevalencia de CO algo mayor que los no tratados, aunque esta diferencia no fue significativa (RR= 1,21; IC 95%: 0,96-1,51).

Tiempo de Evolución a SIDA

En el momento de la exploración basal, de los 200 pacientes seleccionados, 157 no cumplían criterios de SIDA. De ellos, 86 pacientes (54%) presentaban CO frente a 71 (46%) que no tenían lesiones clínicas. Tras 20 semestres de seguimiento, el 48,2% de los enfermos con CO y el 28,7% de los que no presentaban CO habían desarrollado SIDA. Esta diferencia resultó estadísticamente significativa (p= 0,012). El riesgo relativo estimado de evolución a SIDA para los pacientes con CO comparado con los que no la padecían fue RR= 1,44 (IC 95%: 1,08-1,91) (Figura 1). Entre el año 1997 y el 2001 (últimos 10 semestres del seguimiento), la frecuencia de evolución a SIDA fue del 7,7% y del 6,8% en los pacientes con y sin CO respectivamente, sin que la diferencia observada entre ambos grupos alcanzara significación estadística (Figura 2). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas para el tiempo de evolución a SIDA en relación al tipo de presentación clínica de la CO (pseudomembranosa frente a otras formas clínicas), ni a la especie de *Candida* aislada (*Candida albicans* frente a otras spp.).

La asociación de la variable CO con la evolución a SIDA persistió después de ajustar por la covariable estadio clínico (estadios A y B) (p= 0,007). El riesgo de evolución a SIDA continuó siendo más elevado en los pacientes con CO (RH= 2,04; IC 95%: 1,20-3,50). Cuando analizamos la asociación de CO y la evolución a SIDA ajustando por la variable linfocitos CD4/ μ L categorizada en 3 grupos (<200, 200-500, >500) no se alcanzó significación estadística (p= 0,051). Sin embargo, al estratificar a los pacientes por niveles de linfocitos CD4/ μ L, la CO mantuvo su valor predictivo de evolución a SIDA en los enfermos con >500 linfocitos CD4/ μ L (RH= 3,30; IC 95%: 1,10-10,20). En el análisis bivariente, las variables edad, sexo, tiempo de evolución de la enfermedad, conducta de riesgo y tratamiento antirretroviral no condicionaron el resultado, por lo que fueron eliminadas por el sistema.

Después de ajustar por las covariables descritas (edad, sexo, tiempo de evolución de la enfermedad, conducta de riesgo, estadio clínico, número de linfocitos CD4/ μ L y tratamiento antirretroviral), comprobamos mediante el análisis multivariante que la asociación de la variable de exposición CO con la evolución a SIDA no alcanzó valor predictivo.

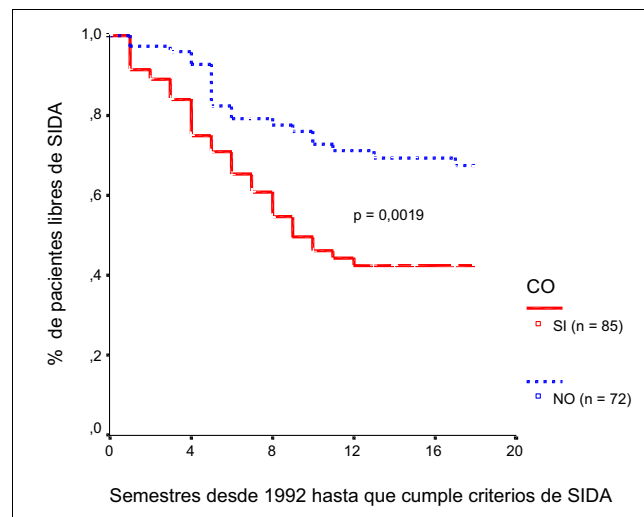


Fig. 1. Curvas de evolución a SIDA según la presencia/ausencia de candidiasis oral (CO) en la exploración basal. Curves of progression to AIDS according to the presence/absence of oral candidiasis (OC) at the baseline examination.

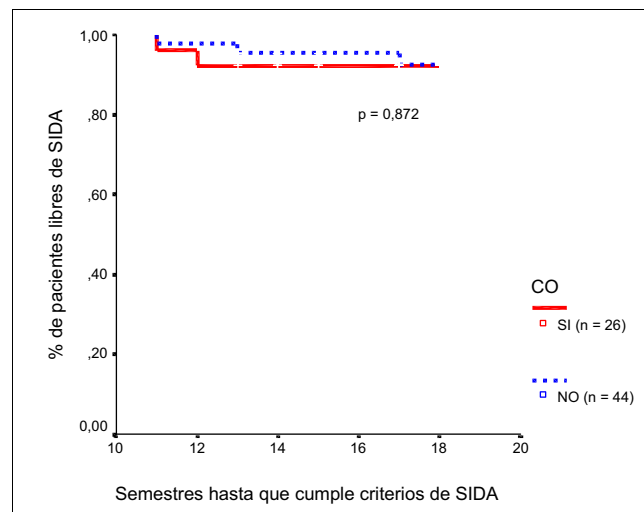


Fig. 2. Curvas de evolución a SIDA a partir del año 1997 (10º semestre desde el inicio del estudio) según la presencia/ausencia de candidiasis oral (CO) en la exploración basal. Curves of progression to AIDS from the year 1997 (10th semester after initiation of the study) according to the presence/absence of oral candidiasis (OC) at the baseline examination.

DISCUSION

En 1993 los Centros para el Control de las Enfermedades de Atlanta publicaron una clasificación modificada de la definición de SIDA, que consideraba criterios definitorios independientes una serie de marcadores clínicos y un indicador de laboratorio, la concentración de linfocitos CD4 (35). Un reflejo del impacto de

esta nueva definición desde el punto de vista clínico, fue el trabajo en el que Prins et al (39) analizaron la mortalidad pre-SIDA en pacientes infectados por VIH, demostrando que en ADVP la mortalidad pre-SIDA había disminuido considerablemente, sugiriendo que podía deberse a que algunas causas frecuentes de muerte pre-SIDA en este colectivo como la tuberculosis pulmonar y la neumonía recurrente se habían incorporado a la definición ampliada de SIDA (39). Con respecto a los niveles de linfocitos CD4, en contraste con los expertos norteamericanos, los europeos no incluyeron a los pacientes con <200 céls./ μ L en la definición ampliada de caso SIDA (38), ya que aplicando este criterio se incluirían en el estadio SIDA muchos individuos asintomáticos.

Para analizar el valor de la CO como predictor de evolución a SIDA (aplicando el criterio europeo), seleccionamos aleatoriamente un grupo de estudio cuya distribución por edad, sexo, conducta de riesgo, estadio clínico y pautas de tratamiento antirretroviral resultó muy similar a la de los pacientes infectados por VIH detectados en otras regiones españolas en la misma época (40).

La exclusión de los pacientes etiquetados de SIDA en el momento de iniciar el estudio también podría constituir un sesgo, ya que se ha sugerido que estos enfermos, a diferencia de los que conformaron el grupo de estudio definitivo, podrían haberse infectado antes, o haber estado expuestos a determinados cofactores que favorecieron la progresión de la enfermedad (41). Sin embargo, el tiempo real de evolución de la infección no se conoce en la mayoría de los casos y presumiblemente es muy variable. En su defecto, en casi todos los estudios publicados se aplica como tiempo de evolución el transcurrido desde el primer test positivo de diagnóstico de infección por VIH, por lo que el hipotético sesgo se ha venido reproduciendo de forma generalizada en la literatura especializada y por consiguiente así definimos la "fecha estimada de seroconversión" en el apartado de metodología.

Se ha demostrado que la CO aparece precozmente en la historia natural de la infección por VIH (42) y después su prevalencia permanece bastante estable durante años (43). La incidencia acumulada de CO (proporción de al menos un episodio de CO durante un tiempo de seguimiento determinado) no se registró, debido a que algunos pacientes pueden desarrollar CO durante los períodos que transcurren entre 2 visitas de control, y recibir tratamiento antifúngico por su médico o autoprescribirse, lo que puede hacer que la lesión haya desaparecido en el momento de la próxima exploración (42). Además, el autodiagnóstico de CO ha demostrado una fiabilidad limitada (42). En consecuencia, sólo se consideraron las lesiones presentes durante la exploración basal única efectuada en 1992.

Coincidiendo con otros autores (44), no encontramos diferencias estadísticamente significativas en la presentación de CO entre mujeres y varones. De acuerdo con trabajos previos (45), la prevalencia de CO fue mayor entre los ADVP.

En el presente estudio la tasa de progresión a SIDA fue mayor entre los pacientes con CO que en los que no tenían lesiones fúngicas. Otros investigadores como Katz et al (17), Coates et al (18) o Maden et al (19) ya habían demostrado, antes de la

aplicación de la TAAE, que los pacientes con CO progresaban más rápidamente a SIDA que los que no tenían CO. La existencia de CO se considera un indicador de inmunosupresión (46); ya a finales de los años 80 Moniaci et al (5) observaron en una importante cohorte de pacientes italianos, que la CO se asociaba a niveles bajos de linfocitos CD4; este hallazgo se confirmó posteriormente en múltiples publicaciones (14-16, 47), incluso en pacientes que recibían TAAE (48). Teniendo en cuenta la definición europea de caso SIDA, la constatación de que la CO se relaciona con la progresión a SIDA se fundamenta en que estas lesiones orales también predicen el desarrollo de otras enfermedades oportunistas en el plazo de 3 meses (49).

Algunos autores (47, 50), relacionaron la CO pseudomembranosa con estadios avanzados de la enfermedad y le atribuyeron un mayor valor predictivo para detectar inmunosupresión que a otras variedades clínicas (48, 51). Sin embargo, coincidiendo con otros investigadores (52), en el presente estudio la variedad clínica de candidiasis no condicionó la progresión a SIDA.

Los criterios de selección de los pacientes para recibir tratamiento farmacológico y la eficacia de la terapia antirretroviral, han variado sustancialmente a lo largo del período de seguimiento del presente estudio (53-55). Inicialmente, sólo los pacientes más deteriorados clínica e inmunológicamente recibían terapia específica, por lo que la prevalencia de SIDA en este grupo era muy elevada, independientemente de la presencia o no de CO. El porcentaje de pacientes que recibían tratamiento en nuestra serie en 1992, resultó similar al reflejado en otras publicaciones (56). La proporción de los pacientes que recibían TAAE al finalizar el estudio, fue similar en aquéllos sin y con CO en la exploración basal (64,7% y 68,5% respectivamente).

Al considerar el tiempo acumulado de evolución a SIDA, la CO mantuvo su valor pronóstico. Como ya habían sugerido Phillips et al (57) y recientemente Hilton (58), el tiempo de evolución de la infección por VIH añade poco valor a modelos de riesgo de SIDA que incluyen historia de un episodio de CO y su inmediatez.

En el análisis multivariante la presencia de CO no condicionó la evolución a SIDA, lo que obliga a comentar las variables que podrían influir en el ritmo de progresión de la infección. Pezzotti et al (59) sugirieron que la enfermedad progresaba más rápidamente en los pacientes de mayor edad, pero el rango etario de nuestro grupo de estudio fue tan reducido que la variable quedó excluida del sistema. El sexo del paciente no condiciona el ritmo de progresión a SIDA (60, 61). Como ya se ha señalado, en estudios de CO no hay diferencias sustanciales si consideramos el tiempo transcurrido desde el examen basal o el acumulado desde la seroconversión (58). La conducta de riesgo de transmisión de la enfermedad tampoco parece condicionar su evolución (59). En nuestro estudio no se registró la carga viral, porque en 1992 aún no se disponía técnicamente de dicha determinación; se considera que la combinación de la carga viral del VIH-1 y el número de linfocitos CD4/ μ L, constituyen el mejor predictor de progresión de la enfermedad (62), pero se ha demostrado que aunque la CO se asocia a cargas virales elevadas (63-65), conserva su valor pronóstico de evolución a SIDA independientemente de la carga viral (66). Con

respecto a la terapia antirretroviral, es evidente que ya antes de la introducción de la TAAE el tratamiento reducía el riesgo a largo plazo de evolución a SIDA (56). En el presente estudio, hasta 1997 la CO se mostraba como un marcador de evolución más importante que el tratamiento antirretroviral; la inclusión de un período pre-TAAE y otro post-TAAE en el tiempo de seguimiento, ha condicionado sin duda el resultado, ya que con la TAAE disminuye el número de episodios de CO (67-69) y el ritmo de progresión a SIDA (70).

Hasta la fecha no se han publicado estudios a largo plazo sobre el valor predictivo de la CO en pacientes tratados con TAAE. Uno de sus principales inconvenientes deriva de la propia definición de SIDA, cuyo carácter estático etiqueta definitivamente a un paciente que haya padecido alguna enfermedad definitiva y presentado niveles de linfocitos CD4 por debajo de 200 células./ μ L, independientemente de su estado actual en base a la respuesta clínica e inmunológica al tratamiento antirretroviral. Nuestros resultados confirman que la CO no es un marcador selectivo de evolución a SIDA en pacientes con acceso a la TAAE, en los que podría expresar defectos de adherencia o desarrollo de resistencias, y habría que reevaluar su importancia en un modelo multivariante. Por el contrario, confirma su utilidad para predecir la evolución de la enfermedad en los países sin acceso a las determinaciones de los tests de laboratorio ni a la TAAE.

Predictive value of oral candidiasis as a marker of progression to AIDS

FERNÁNDEZ-FEIJOO J, DIZ-DIOS P, OTERO-CEPEDA XL, LIMERES-POSSE J, DE LA FUENTE-AGUADO J, OCAMPO-HERMIDA A. PREDICTIVE VALUE OF ORAL CANDIDIASIS AS A MARKER OF PROGRESSION TO AIDS. *MED ORAL PATOL ORAL CIR BUCAL* 2005;10:32-40.

SUMMARY

Objective: To determine the validity of oral candidiasis (OC) as a clinical marker of progression in patients with human immunodeficiency virus infection.

Study design: In 1992, an oral examination was carried out on a group of 200 HIV-infected patients with a mean age of 36.8 ± 7 years (range 25-46 years) to establish the diagnosis of OC. The following variables were recorded: age, sex, duration of the disease, risk behaviour, CD4 lymphocyte count, clinical stage and antiretroviral treatment. Of the 200 patients in the group evaluated, 157 did not fulfil the criteria for AIDS at the time of the baseline examination; these patients constitute the study group and underwent 6-monthly follow-up until they fulfilled these criteria. The study was concluded at the end of 2001.

Results: Of the 157 patients selected, 71 (45.2%) did not present OC and, of these, 28.7% progressed to AIDS during the follow-up period. Of the 86 (54.8%) patients with OC, 48.2% progressed to AIDS (RR= 2.71). If the start date of the study was taken as 1997, when highly active antiretroviral therapy (HAART) was introduced, no differences were found in the percentage of pa-

tients who progressed to AIDS with respect to the presence or absence of OC at the baseline examination. Multivariate analysis demonstrated that the association of the presence of OC with progression to AIDS did not reach a predictive value.

Conclusions: The long-term prognostic value of OC has not been established in patients receiving highly active antiretroviral therapy (HAART). The immunological recovery and the reduction in the number of opportunistic diseases observed after the administration of HAART means that many patients who developed AIDS do not currently satisfy these criteria, making a review of the definition of the syndrome itself a necessity in order to be able to evaluate prognostic markers.

Key words: *Oral candidiasis, HIV, AIDS, progression, prognosis*

INTRODUCTION

A large number of clinical, biological and laboratory markers have been used to attempt to predict the progression of HIV infection (1-11). It has been suggested that laboratory markers may only partially reflect the stage and the rate of progression of the disease and that the combination with clinical indicators helps to provide a more global perspective of the patient.

Certain oral lesions associated with HIV infection are considered predictive of progression of the disease (12). Although many studies (13,14-19) have confirmed the prognostic value of oral candidiasis (OC) as an indicator of severe immunosuppression and progression to AIDS, the majority only evaluated the short-term impact of OC before the widespread use of highly active antiretroviral therapy (HAART) and in study groups with a distribution by risk behaviour very different from that observed in our setting.

The aim of the present study has been to analyse the validity of OC as an independent marker of progression to AIDS in a group of HIV-infected Spanish patients followed up over a long period.

MATERIAL AND METHODS

A group of 200 HIV-infected patients from the Infectious Diseases Unit of the Xeral-Cíes Hospital (Vigo) of the Galician Health Service, was evaluated over the first 3 months of 1992 (baseline examination) with the aim of analysing the prevalence and characteristics of OC related to HIV-infection. The final study group was made up of the 157 patients without OC at the baseline visit and included 113 (72%) males and 44 (28%) females with a mean age of 36.8 ± 7 years (range 25-46 years). Patient selection was carried out using the following inclusion criteria: over 18 years of age, diagnosis of HIV infection made by enzyme immunoassay (EIA) and confirmed by Western Blot, and voluntary participation in the study (informed consent). Patients with any of the following characteristics were excluded: the use of antifungal agents for the prophylaxis or treatment of diseases other than OC (Cryptococcosis), severe metabolic or biochemical disturbances, concomitant administration of antibiotics, cytostatics or corticosteroids, and patients with removable acrylic dental prostheses or other factors predisposing to

the development of OC (20-34).

Apart from the sex of the patient, a record was also made of the estimated date of seroconversion (defined as the first positive test for antibodies to HIV-1), the duration of the disease (number of semesters from the estimated date of seroconversion to the baseline examination), risk behaviour, clinical category according to the criteria of the Centers for Disease Control in Atlanta (35), the CD4 lymphocyte count and antiretroviral treatment.

Each patient underwent an oral examination at the time of the baseline examination to determine the presence or absence of lesions suggestive of OC, recording the following clinical variables of the OC: pseudomembranous, erythematous, angular cheilitis and hyperplastic. Samples were taken from the dorsum of the tongue, the palate and the vestibular buccal mucosa using a sterile swab. When mucosa lesions compatible with OC were observed, an additional sample was also taken from the affected area. All the samples were seeded onto Sabouraud-dextrose agar plates and incubated at 37°C for 48 hours. Using quantitative criteria, only those cultures with greater than 50 CFU/ml were considered positive. The species of fungi were identified by the Candidafast Unipath and Api 20 C AUX (Biomerieux, Barcelona, Spain) automatic systems. The definitive diagnosis of OC was established using clinical and microbiological criteria (36,37).

A 6-monthly register of progression to AIDS in the group of patients who did not fulfil the criteria for AIDS in January 1992 (n=157), applying the European definition of AIDS (38), was performed from that date until December 2001 (end-of-study). The time to progression to AIDS was defined as the number of semesters from the time of the oral examination until the patient developed any AIDS-defining disease (35). The cumulative time to progression to AIDS was defined as the number of semesters from the estimated date of seroconversion until the patient developed any AIDS-defining disease (35).

Contingency tables were used to study the relationship of the variable of interest (presence or absence of OC) with the other variables recorded at the baseline examination (sex, age, risk behaviour, clinical category, CD4 lymphocyte count and antiretroviral treatment), using these to estimate the prevalence and calculate the relative risks ("Risk ratio", RR) and standard errors together with the confidence intervals.

The Cox regression model was applied to estimate the magnitude of the relative risks ("Relative hazard", RH) for the different risk factors considered in the study. We estimated the relative risk of the isolated OC variable using a univariate Cox regression model and the effect of the OC was then adjusted for the other study variables using multivariate Cox regression models.

RESULTS

Descriptive

The mean duration of the disease from the estimated date of seroconversion until the time of the baseline examination in 1992 was 4.7 ± 4.2 semesters. With regard to risk behaviour, 112 (71%) belonged to the group of intravenous drug abusers (IVDA), 20 (12.5%) were homosexual men and 25 (16.5%) patients had been infected by heterosexual intercourse.

At the time of the baseline examination, 81 (51.5%) patients were in clinical stage A and 76 (48.5%) in stage B. By CD4 lymphocyte counts, 41 (26%) patients had more than 500/ μ l, 77 (49%) had between 200 and 500/ μ l and 39 (25%) had less than 200/ μ l. Only 50.3% of the patients had received antiretroviral treatment in 1992, 75 with AZT and 4 with AZT+ddI.

Oral candidiasis

At the time of the baseline examination, 86 (54%) patients presented OC, 69 (80%) out of them had pseudomembranous lesions, 13 (15.5%) erythematous lesions, 2 had angular cheilitis, 1 had hyperplastic candidiasis and 1 case presented mixed clinical findings. The predominant species was *Candida albicans* (92.5%), with *non-albicans spp.* (*krusei*, *glabrata*, *guilliermondii*, *lambica* and *parapsilosis*) being isolated in the remaining cases.

The prevalence of OC was higher in males than in females (64.3% versus 50.8%), though this difference was not significant (RR=1.26; 95% CI: 0.95-1.67). The time from the date of seroconversion to the baseline examination was 4.8 ± 4.4 semesters in the patients with OC and of 4.4 ± 4.0 semesters in those patients without OC; this difference was not statistically significant. On distribution of the patients into 2 risk behaviour groups, IVDA and infection by sexual intercourse (heterosexual or homosexual), a prevalence of OC of 65.5% in the first group and of 49.1% in the second group was observed. The estimated relative risk of the IVDA group versus the sexual contact group was RR=1.33 (95% CI: 0.99-1.58); this difference was not significant. The relationship of OC with the clinical stage showed an increase in the prevalence of OC with worsening clinical stage. The relative risk of group B versus group A was RR(B/A)=1.51 (95% CI: 1.12-2.03). The relative risk of group C versus group A was RR(C/A)=2.02 (95% CI: 1.53-2.66). In both cases, the RR was significantly greater than 1. The prevalence of OC increased as the CD4 lymphocyte count decreased. In the group with the intermediate CD4 lymphocyte count (200-500/ μ l), the prevalence of OC was not significantly higher than in the group with the highest lymphocyte count (>500/ μ l), with a relative risk of RR=1.28 (95% CI: 0.85-1.91); however, the prevalence of OC in the group with a CD4 lymphocyte count <200/ μ l was significantly higher than in the group with a CD4 lymphocyte count >500/ μ l, with an RR=1.92 (95% CI: 1.32-2.78). The patients on antiretroviral treatment in 1992 presented a slightly higher prevalence of OC than those not receiving treatment, although this difference was not significant (RR=1.21; 95% CI: 0.96-1.51).

Time to Progression to AIDS

At the time of the baseline examination, 157 of the 200 patients evaluated did not fulfil the criteria for AIDS. Of these 157 patients, 86 (54%) patients presented OC and 71 (46%) had no clinical lesions. After 20 semesters of follow-up, 48.2% of the patients with OC had developed AIDS compared to 28.7% of those who did not present OC. This difference was statistically significant (p=0.012). The estimated relative risk of progression to AIDS for the patients with OC versus those without OC was RR=1.44 (95% CI: 1.08-1.91) (Figure 1). Between the years 1997 and 2001 (the final 10 semesters of follow-up, covering

the period after the introduction of HAART, the frequency of progression to AIDS was 7.7% in the patients with OC and 6.8% in those without OC; the difference between the 2 groups did not reach statistical significance (Figure 2). No statistically significant differences were found in the time to progression to AIDS on consideration of the type of clinical presentation of the OC (pseudomembranous versus the other clinical forms) or the species of *Candida* isolated (*Candida albicans* versus other spp.).

The association of the OC variable with progression to AIDS persisted after adjustment for the co-variable of clinical stage (stages A and B) ($p=0.007$). The risk of progression to AIDS continued to be higher in those patients with OC (RH=2.04; 95% CI: 1.20-3.50). The association of OC and progression to AIDS adjusted for the CD4 lymphocyte count/ μ l grouped into 3 categories (<200, 200-500, >500) did not reach statistical significance ($p=0.051$). However, on stratification of the patients by CD4 lymphocyte count the OC maintained its predictive value of progression to AIDS in those patients with CD4 lymphocyte counts >500 / μ l (HR=3.30; 95% CI: 1.10-10.20). On bivariate analysis, the variables age, sex, duration of the disease, risk behaviour and antiretroviral treatment did not affect the result and were therefore discarded by the system.

After adjustment for the co-variables described (age, sex, duration of the disease, risk behaviour, clinical stage, CD4 lymphocyte count and antiretroviral treatment), the multivariate analysis showed that the association of the presence of OC with progression to AIDS did not reach a predictive value.

DISCUSSION

In 1993, the Centers for Disease Control in Atlanta published a modified classification of the definition of AIDS based on a series of clinical markers and a single laboratory indicator, the CD4 lymphocyte count, as the independent definitive criteria (35). The clinical impact of this new definition was shown in a study in which Prins et al (39) analysed the pre-AIDS mortality in patients with HIV infection, demonstrating that the pre-AIDS mortality had reduced considerably in IVDA, suggesting that this could be due to the fact that certain frequent causes of pre-AIDS death in this population, such as pulmonary tuberculosis and recurrent pneumonia, had been incorporated into the expanded definition of AIDS (39). With respect to the CD4 lymphocyte counts, in contrast to the North American experts, the Europeans experts did not include patients with <200 cells/ μ l in the expanded definition of AIDS (38) as the application of this criterion would include many asymptomatic individuals in the AIDS stage.

In order to analyse the value of OC as a predictor of progression to AIDS (applying the European criteria), we randomly selected a study group with a distribution of age, sex, risk behaviour, clinical stage and antiretroviral treatment which was found to be very similar to that of HIV-infected patients studied in other regions of Spain in the same period (40).

The exclusion of patients labelled as AIDS cases at the time of starting the study could also constitute a bias, as it has been suggested that these patients, in contrast to those making up the

definitive study group, could have been infected earlier or could have been exposed to certain co-factors favouring progression of the disease (41). However, the true time from seroconversion is not known in the majority of cases and is probably very variable. In the absence of this datum, almost all published studies have used the time from the first positive diagnostic test of HIV infection to calculate the duration of the disease and the hypothetical bias has therefore been widely reproduced in the specialist literature and, in consequence, we have used this definition of the "estimated date of seroconversion" in the methodology section.

It has been demonstrated that OC occurs early in the natural history of HIV infection (42) and its prevalence remains relatively stable for many years thereafter (43). The cumulative incidence of OC (proportion of at least 1 episode of OC during a specified follow-up period) was not recorded as some patients may develop OC during the periods between 2 control visits and receive antifungal treatment from their doctor or initiate this themselves, causing the lesion to disappear by the time of the following examination (42). Furthermore, self-diagnosis of OC has shown limited reliability (42). In consequence, only those lesions present at the single baseline examination performed in 1992 were considered.

As reported by other authors (44), we found no statistically significant differences in the presentation of OC between males and females. As in previous studies (45), the prevalence of OC was higher in the IVDA group.

The rate of progression to AIDS in the present study was higher in the patients with OC than in those without fungal lesions. Before the use of HAART, other investigators such as Katz et al (17), Coates et al (18) and Maden et al (19) had already demonstrated that patients with OC progressed more rapidly to AIDS than those who did not have OC. The presence of OC is considered to be an indicator of immunosuppression (46); at the end of the 80s, Moniaci et al (5), studying a large cohort of Italian patients, observed that OC was associated with low levels of CD4 lymphocytes; this finding was later confirmed in many publications (14-16,47), even in patients who were receiving HAART (48). Using the European definition of AIDS, the finding that OC is related to progression to AIDS is based on the fact that these oral lesions are also predictive of the development of other opportunistic diseases within the space of 3 months (49).

Some authors (47,50) related pseudomembranous OC with advanced stages of the disease and attributed it a greater predictive value for detecting immunosuppression than other clinical presentations (48,51). However, in agreement with other investigators (52), the clinical types of candidiasis did not differentially affect progression to AIDS in the present study.

The patient selection criteria for receiving pharmacological treatment and the efficacy of antiretroviral treatment have changed very substantially over the follow-up period of the present study (53-55). Initially, only the patients with the poorest clinical and immunological status received specific therapy, and the prevalence of AIDS in this group was therefore very high, independently of the presence or absence of OC. The percentage of patients

receiving treatment in our series in 1992 was similar to that reported in other publications (56). The proportion of patients receiving HAART at the end of the study was similar in patients with and without OC at the baseline examination (64.7% and 68.5%, respectively).

On analysis of the cumulative time to progression to AIDS, OC maintained its prognostic value. As had already been suggested by Phillips et al (57) and more recently by Hilton (58), the duration of the HIV infection added little value to the risk models for AIDS which include a history of an episode of OC and recency of an episode.

In the multivariate analysis, the presence of OC did not affect progression to AIDS, requiring a study to be performed of the variables which could influence the rate of progression of the infection. Pezzotti et al (59) suggested that the disease progressed more rapidly in older patients; however, the age range in our study group was so limited that the variable was excluded from the system. The sex of the patient does not affect the rate of progression to AIDS (60,61). As it has already been indicated, in the studies of OC there are no substantial differences between the time from the baseline examination and the cumulative time from seroconversion (58). Nor did the risk behaviour of disease transmission appear to affect its course (59). The viral load was not measured in our study since we were unable to perform this measurement in 1992; it is considered that the combination of the HIV-1 viral load and the CD4 lymphocyte count constitutes the best predictor of disease progression (62), but it has been demonstrated that even if OC is associated with high viral loads (63-65), it maintains its prognostic value of progression to AIDS independently of the viral load (66). With respect to antiretroviral therapy, it is clear that even before the introduction of HAART, treatment reduced the long-term risk of progression to AIDS (56). In the present study, OC was a more significant marker of progression than antiretroviral treatment up to 1997; the inclusion of both a pre-HAART period and another post-HAART period in the follow-up has doubtless affected the result, since HAART reduces the number of episodes of OC (67-69) and the rate of progression to AIDS (70).

To-date, no long-term studies have been published on the predictive value of OC in patients treated with HAART. One of its principal inconveniences is derived from the specific definition of AIDS, the static nature of which definitively labels a patient who has suffered any defining disease and presented CD4 lymphocyte counts below 200 cells/ μ l, independently of their actual state based on the clinical and immunological response to antiretroviral treatment. Our results confirm that OC is not a selective marker of progression to AIDS in patients with access to HAART, in whom it could indicate compliance problems or the development of resistance, and its significance would need to be re-evaluated in a multivariate model. However, this study does confirm its utility for predicting disease progression in those countries without access to laboratory tests or to HAART.

BIBLIOGRAFIA/REFERENCES

1 Muzyka BC, Lurie D, Salkin LM. Oral manifestations associated with HIV-related disease as markers for immune suppression and AIDS. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994;77:344-9.

2. Plettenberg A, Reisinger E, Lenzner U, Listemann H, Ernst M, Kern P et al. Oral candidosis in HIV-infected patients. Prognostic value and correlation with immunological parameters. *Mycoses* 1990;33:421-5.
3. Portilla J, Sánchez Paya J, Boix V, Muñoz C, Tamarit J, Merino J et al. Utilidad de diferentes marcadores para el diagnóstico de la infección avanzada por el virus de la inmunodeficiencia humana. *Med Clin (Barc)* 1994;103:725-9.
4. Morfeldt-Manson L, Bottiger B, Nilsson B, von Stedingk LV. Clinical signs and laboratory markers in predicting progression to AIDS in HIV-1 infected patients. *Scand J Infect Dis* 1991;23:443-9.
5. Moniaci D, Greco D, Flecchia G, Raiteri R, Sinicco A. Epidemiology, clinical features and prognostic value of HIV-1 related oral lesions. *J Oral Pathol Med* 1990;19:477-81.
6. Romeu J, Balagué M, Ruíz L, Marfil S, Puig T, Arno A et al. Valor de la carga viral del VIH-1 y de los linfocitos CD4+ como determinantes de la progresión a sida y de la supervivencia. *Med Clin (Barc)* 1998;110:761-7.
7. Froebel KS, Raab GM, D'Alessandro C, Armitage MP, Mackenzie KM, Struthers M et al. A single measurement of CD38CD8 cells in HIV+, long term surviving injecting drug users distinguishes those who will progress to AIDS from those who will remain stable. *Clin Exp Immunol* 2000;122:72-8.
8. Schupbach J, Tomasik Z, Nadal D, Ledergerber B, Flepp M, Opravil M et al. Use of HIV-1 p24 as a sensitive, precise and inexpensive marker for infection, disease progression and treatment failure. *Int J Antimicrob Agents* 2000;16:441-5.
9. Mellors JW, Kingsley LA, Rinaldo CR Jr, Todd JA, Hoo BS, Kokka RP et al. Quantitation of HIV-1 RNA in plasma predicts outcome after seroconversion. *Ann Intern Med* 1995;122:573-9.
10. O'Brien WA, Hartigan PM, Martin D, Esinhart J, Hill A, Benoit S et al. Changes in plasma HIV-1 RNA and CD4+ lymphocyte counts and the risk of progression to AIDS. *N Engl J Med* 1996;334:426-31.
11. Ruíz L, Romeu J, Clotet B, Balague M, Cabrera C, Sirera G et al. Quantitative HIV-1 RNA as a marker of clinical stability and survival in a cohort of 302 patients with a mean CD4 cell count of 300x10⁶/l. *AIDS* 1996;10:39-44.
12. Claydon EJ, Bennett D, Gor D, Forster SM. Transient elevation of serum HIV antigen levels associated with intercurrent infections. *AIDS* 1991;5:113-4.
13. Patton LL, Hill C. Sensitivity, specificity, and positive predictive value of oral opportunistic infections in adults with HIV/AIDS as markers of immune suppression and viral burden. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Radiol Endod* 2000;90:182-8.
14. Schuman P, Ohmit SE, Sobel JD, Mayer KH, Greene V, Rompalo A et al. Oral lesions among women living with or at risk for HIV infection. *Am J Med* 1998;104:559-64.
15. Kolokotronis A, Kioses V, Antoniadis D, Mandraveli K, Doutsos I, Papanayotou P. Immunologic status in patients infected with HIV oral candidiasis and hairy leukoplakia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994;78:41-6.
16. Mattee MI, Scheutz J, Moshy J. Occurrence of lesions in relation to clinical and immunological status among HIV-infected adult Tanzanians. *Oral Dis* 2000;6:106-11.
17. Katz MH, Greenspan D, Westenhouse J, Hessol NA, Buchbinder S, Lifson AR et al. Progression to AIDS in HIV-infected homosexual and bisexual men with hairy leukoplakia and oral candidiasis. *AIDS* 1992;6:95-100.
18. Coates RA, Farewell VT, Raboud J, Read SE, Klein M, MacFadden DK et al. Using serial observations to identify predictor of progression to AIDS in the Toronto sexual contact study. *J Clin Epidemiol* 1992;45:245-53.
19. Maden C, Hopkins SG, Lafferty WE. Progression to AIDS or death following diagnosis with a Class IV non-AIDS disease: utilization of a surveillance database. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1994;7:972-7.
20. Chimenos E, Jané E, López J et al. Diabetes y patología oral. *Avances en Odontostomatología* 1992;8:521-9.
21. Darwazeh AM, MacFarlane TW, McCuish A, Lamey PJ. Mixed salivary glucose levels and candidal carriage in patients with diabetes mellitus. *J Oral Pathol Med* 1991;20:280-3.
22. Walls AWG, Soames JV. Dental manifestations of autoimmune hypoparathyroidism. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1993;75:452-4.
23. Samaranyake LP, MacFarlane TW. *Oral candidosis*. London: Wright; 1990.
24. Oksala E. Factors predisposing to oral yeast infections. *Acta Odontol Scand* 1990;48:71-4.
25. Field EA, Speechley JA, Rugman FR, Varga E, Tyldesley WR. Oral signs and symptoms in patients with undiagnosed vit B12 deficiency. *J Oral Pathol Med* 1995;24:468-70.
26. Challacombe SJ. Immunologic aspects of oral candidiasis. *Oral Surg Oral*

- Med Oral Pathol 1994;78:202-10.
27. Budtz-Jorgensen E. Etiology, pathogenesis, therapy and prophylaxis of oral yeast infections. *Acta Odontol Scand* 1990;48:61-9.
 28. Bagán JV, Vera F. Patología de la mucosa oral. *Syntax Latino*; Barcelona 1989;19-14,39-44.
 29. Garber GE. Treatment of oral *Candida* mucositis infections. *Drugs* 1994;47:734-40.
 30. Medina JM, Reyes C, Galindo PA. Infecciones orales en pacientes con inmunodeficiencia local o sistémica. *Revista Andaluza de Odontología* 1996;5:162-5.
 31. Jobbins J, Bagg J, Parson K, Finlay I, Addy M, Newcombe RG. Oral carriage of yeast, coliforms and staphylococci in patients with advanced malignant disease. *J Oral Pathol Med* 1992;21:305-8.
 32. Nikoskelainen J. Infecciones orales relacionadas con la radioterapia y la terapia inmunosupresora. *Archivos de Odontología* 1991;7:81-6.
 33. Lucas VS. Association of psychotropic drugs, prevalent of denture-related stomatitis and oral candidosis. *Community Dent Oral Epidemiol* 1993;21:313-6.
 34. Navazesh M, Wood GJ, Brightman VJ. Relationship between salivary flow rates and *Candida albicans* counts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1995;80:284-8.
 35. 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *MMWR* 1992;41:1-19.
 36. EC-Clearinghouse on Oral Problems Related to HIV Infection and WHO Collaborating Centre on Oral Manifestations of the Immunodeficiency Virus. Classification and diagnostic criteria for oral lesions in HIV infection *J Oral Pathol Med* 1993;22:289-91.
 37. EC-Clearinghouse on Oral Problems Related to HIV Infection and WHO Collaborating Centre on Oral Manifestations of the Human Immunodeficiency Virus. An update of the classification and diagnostic criteria for oral lesions in HIV infection. *J Oral Pathol Med* 1991;20:97-100.
 38. Ancelle-Park R. Expanded European AIDS case definition. *Lancet* 1993;341:441.
 39. Prins M, Sabin CA, Lee CA, Devereux H, Coutinho RA. Pre-AIDS mortality and its association with HIV disease progression in haemophilic, injecting drugs users and homosexual men. *AIDS* 2000;14:1829-73.
 40. Centro Nacional de Epidemiología. Vigilancia epidemiológica del SIDA y VIH en España. [Http://193.146.130/sida/Sidaviv.htm](http://193.146.130/sida/Sidaviv.htm).
 41. Begg MD, Lamster IB, Panageas KS, Mitchell-Lewis D, Phelan JA, Grbic JT. A prospective study of oral lesions and their predictive value for progression of HIV disease. *Oral Dis* 1997;3:176-83.
 42. Lifson AR, Hilton JF, Westenhouse JL, Canchola AJ, Samuel MC, Katz MH et al. Time from seroconversion to oral candidiasis or hairy leukoplakia among homosexual and bisexual men enrolled in three prospective cohorts. *AIDS* 1994;8:73-9.
 43. Sobel JD, Suzanne E, Schuman P, Klein RS, Mayer K, Duerr A et al. The evolution of *Candida* species and fluconazole susceptibility among oral and vaginal isolates recovered from Human Immunodeficiency Virus (HIV)-seropositive and at-risk HIV-seronegative women. *J Infect Dis* 2000;183:286-93.
 44. Shiboski CH, Hilton JF, Neuhaus JM, Canchola A, Greenspan D. Human immunodeficiency virus-related oral manifestations and gender. The University of California, San Francisco Oral AIDS Center Epidemiology Collaborative Group. *Arch Intern Med* 1996;156:2249-54.
 45. Phelan JA, Begg MD, Lamster IB, Gorman J, Mitchell-Lewis D, Bucklan RD et al. Oral candidiasis in HIV-infection. Predictive value and comparison of findings in injecting drug users and homosexual men. *J Oral Pathol Med* 1997;26:237-43.
 46. Glick M, Muzyka BC, Lurie D, Salkin LM. Oral manifestations associated with HIV-related disease as marker for immune suppression and AIDS. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994;77:344-9.
 47. Ceballos Salobreña A, Aguirre Urizar JM, Bagán Sebastián JV. Oral manifestations associated with human immunodeficiency virus infection in Spanish population. *J Oral Pathol Med* 1996;25:523-6.
 48. Patton LL, Hill C. Sensitivity, specificity, and positive predictive value of oral opportunistic infections in adults with HIV/AIDS as markers of immune suppression and viral burden. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2000;90:182-8.
 49. Klein RS, Harris CA, Small CR, Moll B, Lesser M, Friedland GH. Oral candidiasis in high-risk patients as initial manifestations of the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med* 1984;311:354-8.
 50. Robinson PG, Challacombe SJ, Sheiham A, Zakrzewska JM. Is erythematous candidiasis associated with advanced HIV disease?. *Oral Dis* 1997;3:116-8.
 51. Ceballos Salobreña A, Antúnez Gálvez JM, Aguirre Urizar JM, Bagán JV, Ceballos García L. Lesiones orales asociadas a la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana en una población de 510 enfermos. *Medicina Oral* 1998;3:199-206.
 52. Dodd CL, Greenspan D, Katz MH, Westenhouse JL, Feigal DW, Greenspan JS. Oral candidiasis in HIV infection: pseudomembranous and erythematous candidiasis show similar rates of progression to AIDS. *AIDS* 1991;5:1339-43.
 53. Sande MA, Carpenter CC, Cobbs CG, Holmes KK, Sanford JP. Antiretroviral therapy for adult HIV-infected patients. Recommendations from a state-of-the-art conference. *JAMA* 1993;270:2583-9.
 54. Bonfanti P, Capetti A, Rizzardini G. HIV disease treatment in the era of HAART. *Biomed Pharmacother* 1999;53:93-105.
 55. Gazzard B, Moyle G. 1998 revision to the British Association guidelines for antiretroviral treatment of HIV seropositive individuals. BHIVA Guidelines Writing Committee. *Lancet* 1998;352:314-6.
 56. Hoover DR, Muñoz A, He Y, Taylor JM, Kingsley L, Chmiel JS et al. The effectiveness of interventions on incubation of AIDS as measured by secular increases within a population. *Statistics in Medicine* 1994;13:2127-39.
 57. Phillips AN, Sabin CA, Eford J, Bofill M, Janossy G, Lee CA. Acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) risk in recent and long-standing human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1)-infected patients with similar CD4 lymphocyte counts. *Am J Epidemiol* 1993;138:870-8.
 58. Hilton JF. Functions of oral candidiasis episodes that are highly prognostic for AIDS. *Statist Med* 2000;19:989-1004.
 59. Pezzotti P, Phillips AN, Dorrucci M, Cozzi Lepri A, Galai N, Vlahov D et al. Category of exposure to HIV and age in the progression to AIDS: longitudinal study of 1199 people with known dates of seroconversion. *BMJ* 1996;313:583-6.
 60. Junghans C, Ledergerber B, Chan P, Weber R, Egger M. Sex differences in HIV-1 viral load and progression to AIDS. *Lancet* 1999;353:589.
 61. Cozzi Lepri A, Pezzotti P, Dorrucci M, Phillips AN, Rezza G. HIV disease progression in 854 women and men infected through injecting drug use and heterosexual sex and followed for up to nine years from seroconversion. Italian Seroconversion Study. *BMJ* 1994;309:1537-42.
 62. Mellors JW, Muñoz A, Giorgi JV, Margolick JB, Tassoni CJ, Gupta P et al. Plasma viral load and CD4+ lymphocytes as prognostic markers of HIV-1 Infection. *Ann Intern Med* 1997;126:946-54.
 63. Margiotta V, Campisi G, Mancuso S, Accurso V, Abadesa V. HIV infection: oral lesions, CD4+ cell count and viral load in an Italian study population. *J Oral Pathol Med* 1999;28:173-7.
 64. Patton LL, Mckaig RG, Eron Jr JJ, Lawrence HP, Strauss RP. Oral hairy leukoplakia and oral candidiasis as predictors of HIV viral load. *AIDS* 1999;13:2174-6.
 65. Campo J, Del Romero J, Castilla J, García S, Rodríguez C, Bascones A. Oral candidiasis as a clinical marker related to viral load, CD4 lymphocyte count and CD4 lymphocyte percentage in HIV-infected patients. *J Oral Pathol Med* 2002;31:5-10.
 66. Carre N, Boufassa F, Hubert JB, Chavance M, Rouzioux C, Goujard C et al. Predictive value of viral load and other markers for progression to clinical AIDS after CD4+ cell count falls below 200/microL. SEROCO & HEMOCO Study Group. *Int J Epidemiol* 1998;27:897-903.
 67. Diz Dios P, Ocampo A, Otero I, Iglesias I, Martínez C. Changes in Oropharyngeal colonization and infection by *Candida albicans* in Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients. *J Infect Dis* 2001;183:355-6.
 68. Ceballos Salobreña A, Gaitán Cepeda LA, Ceballos García L, Lezan Del Valle D. Oral lesions in HIV/AIDS patients undergoing highly active antiretroviral treatment including protease inhibitors: a new face of oral AIDS?. *AIDS Patient Care STDS* 2000;14:627-35.
 69. Arribas JR, Hernández-Albujar S, González-García JJ, Pena JM, González A, Canedo T et al. Impact of protease inhibitor therapy on HIV-related oropharyngeal candidiasis. *AIDS* 2000;14:979-85.
 70. Jacobson LP, Li R, Phair J, Margolick JB, Rinaldo CR, Detels R. Evaluation of the effectiveness of highly active antiretroviral therapy in persons with human immunodeficiency virus using biomarker-based equivalence of disease progression. *Am J Epidemiol* 2002;155:760-70.