

Artículo original

Entamoeba gingivalis y *Trichomonas tenax* en cavidad bucal de pacientes de la Clínica Integral del Adulto de la Facultad de Odontología, Maracaibo, Venezuela

Ellen Mabel Acurero Osorio^{a,*}, Adriana Beatriz Maldonado Ibáñez^a, Carla Maldonado Ibáñez^b,
Angela María Bracho Mora^a, Jennifer Parra^a, Yennifer Urdaneta^a, Maryorie Urdaneta^a

^aEscuela de Bioanálisis. ^bFacultad de Odontología. Universidad del Zulia, Venezuela.

Recibido 12 de marzo de 2009; aceptado 21 de octubre de 2009

Resumen: Para determinar la prevalencia de *Entamoeba gingivalis* y *Trichomonas tenax* en cavidad bucal, se analizaron 50 muestras de la cavidad bucal de individuos de ambos géneros que acudieron a la Clínica Integral del Adulto de la Facultad de Odontología de la Universidad del Zulia. Se dividieron en dos grupos, de 25 individuos cada uno. Grupo 1, con manifestaciones clínicas de enfermedad (enfermedad periodontal y/o caries dental) al cual se le tomaron muestras de caries dental, placa y cálculo dental y grupo 2 o control con cavidad bucal sin manifestaciones clínicas de enfermedad, al cual se le tomó muestras de saliva y placa dental. Las muestras fueron analizadas microscópicamente a través del examen directo y con coloración permanente de hematoxilina férrica. Se observó una prevalencia de protozoarios bucales de un 10%; la especie predominante fue *Entamoeba gingivalis* en 5 casos, seguida de *Trichomonas tenax* en 1 caso. El estrato de 20 a 39 años fue el más afectado con un 10% de los casos. Al realizar el análisis estadístico resultó significativo ($p=0,011$) para las variables parasitismo y cavidad bucal enferma. El presente estudio pone de manifiesto una baja prevalencia de los protozoarios bucales en la población estudiada.

Palabras clave: *Entamoeba gingivalis*, *Trichomonas tenax*, protozoarios bucales, enfermedad periodontal, caries dental

Entamoeba gingivalis and *Trichomonas tenax* in the oral cavity of patients from the Integral Adult Clinic of the Faculty of Odontology, Maracaibo, Venezuela

Abstract: Fifty samples from the oral cavity of individuals of both genders who attended the Integral Adult Clinic of the Faculty of Odontology of Universidad del Zulia were analyzed to determine *Entamoeba gingivalis* and *Trichomonas tenax* prevalence. The patients were divided into two groups of 25 individuals each: Group 1, with clinical disease manifestations (periodontal disease and/or dental caries) from which we took samples from dental caries, plaque and dental calculus; and Group 2 or control, who had no clinical disease manifestations, from which we took saliva and dental plaque samples. All samples were analyzed microscopically through direct examination and with a ferric hematoxylin stain. There was a 10% prevalence of oral protozoa; the predominant species was *Entamoeba gingivalis* in 5 cases followed by *Trichomonas tenax* in 1 case. The 20-39 years age group was the most affected with 10% of cases. The statistical analysis was significant ($p=0.011$) for the parasitism and diseased oral cavity variables. The present study shows a low prevalence of oral cavity protozoa in the population studied.

Keywords: *Entamoeba gingivalis*, *Trichomonas tenax*, oral cavity protozoa, periodontal disease, dental caries

* Correspondencia:
E-mail: ellenacurero@cantv.net

Introducción

Estudios recientes de la enfermedad periodontal han permitido un mayor entendimiento de la histopatogenia de esta patología. La mayoría de los estudios realizados sobre microbiología oral se refieren a diversos aspectos de la bacteriología y virología, mientras que la parasitología oral

se ha dejado a un lado [1], por lo que las investigaciones realizadas al respecto son muy escasas. Quizás sea porque los únicos dos protozoarios que pueden encontrarse en la cavidad bucal, han sido hallados tanto en cavidad bucal sana como en patologías periodontales, razón por la cual algunos autores no les atribuyen papel patógeno, aun cuando su patogenicidad ha sido demostrada en diversos

estudios realizados [2,3]. *Entamoeba gingivalis* y *Trichomonas tenax* se han encontrado con cierta frecuencia como colonizadores de la cavidad bucal [4].

La primera amiba descrita en el hombre en 1849 fue *E. gingivalis*, aislada por Gross en muestras provenientes de cálculo dental. Esta especie se reproduce por división binaria, no forma quistes y su interés radica en el nicho ecológico especializado donde habita (la cavidad bucal); vive en las encías, tejidos periodontales y bolsas gingivales cercanas a la raíz dentaria. En ocasiones se encuentra en las criptas amigdalinas. Su población se incrementa de manera particular cuando existen problemas inflamatorios y piorrea alveolar; también se observa proliferación de esta amiba en prótesis dentales, más aún si éstas no reciben el cuidado adecuado. *E. gingivalis* también se puede aislar en boca sana y con una adecuada higiene. Esta amiba, aunque es de distribución mundial, no se observa en niños y su frecuencia aumenta con la edad. La transmisión es directa de individuo a individuo, por la saliva o fómites, por ejemplo, por el uso de utensilios para comer. Este protozoario puede infectar también a primates, perros y gatos [4,5].

Por otra parte *T. tenax* se encuentra entre los dientes y las encías, también en caries dental, criptas amigdalinas y la nasofaringe. Se reproduce por división binaria y no posee quistes. Su transmisión se hace directamente por la saliva, y también pueden transmitirse a través del agua contaminada, en la que los trofozoítos pueden permanecer vivos varias horas. Al igual que *E. gingivalis*, la colonización de este protozoo se incrementa con la edad y la mala higiene bucal. *T. tenax* se detecta preferentemente en personas que presentan cavidad bucal con manifestaciones clínicas de enfermedad periodontal (en diferentes grados) [4].

La detección de estos dos protozoarios, en enfermedad periodontal y en caries dental ha sido puesta de manifiesto en varios reportes a nivel internacional. En el caso específico de *T. tenax*, en Francia se realizó un estudio en 300 pacientes con enfermedad periodontal, el cual reportó la presencia de este protozoario en 84 casos (28%) [6]. Mientras que en Milano, Italia, de 113 pacientes estudiados, se encontraron 54 infectados con *T. tenax* (48%) [7].

En 1998, Kurnatowska y Kurnatowski, tomaron muestras de saliva a 936 pacientes, encontrándose *T. tenax* en 90 de estos (9,6%), de los cuales en 85 casos fueron identificados a su vez hongos, estableciéndose por lo tanto que la trichomoniasis en cavidad bucal estaba asociada con micosis [8].

De igual forma, Zdero y col. realizaron un estudio en 50 pacientes adultos de ambos géneros, siendo la población 1 el grupo control con bocas sanas y buenos hábitos de higiene bucal y la población 2 con periodontitis y/o gingivitis y mala higiene bucal. En este estudio, la frecuencia de *E. gingivalis* y *T. tenax* fue de 48% y 10% respectivamente en la población 1, mientras que en la población 2, los resultados fueron notablemente superiores: 78% y 20% respectivamente [9].

En Venezuela, en 1984, Flores estudió 206 pacientes de ambos géneros, cuyas edades oscilaban entre 3 y 72 años de edad, provenientes de la consulta externa y clínica de

odontopediatría de la Facultad de Odontología de la Universidad del Zulia (LUZ). En este estudio se recolectaron 3 tipos de muestras por paciente, representadas por saliva, frotis de la mucosa oral y sarro dental; a cada muestra se le realizó el examen directo y frotis coloreado con hematoxilina férrica. Los resultados obtenidos fueron los siguientes: del total de los pacientes estudiados, 147 presentaron protozoarios bucales, y de estos, 120 (81,63%) tenían *E. gingivalis* y 27 (18,37%) *T. tenax*, incluyendo 18 casos de asociación entre los dos protozoarios [3].

En el año 2002 se publicó un trabajo en el cual se estudió la incidencia de *T. tenax* en pacientes con periodontitis marginal crónica (PCM) comparados con pacientes adultos sin problemas periodontales. Los resultados de este estudio reflejaron que el protozoario estaba presente en 9 (30%) de los 30 pacientes con PMC y sólo en 1 (3%) de los 30 pacientes sin enfermedad periodontal [10].

A pesar de que en Venezuela, las caries y las enfermedades periodontales representan un problema de salud pública [11], los estudios realizados para determinar la asociación de estos protozoarios con las patologías mencionadas, son escasos.

El objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de *E. gingivalis* y *T. tenax* en la cavidad bucal de los pacientes que asistían a la consulta odontológica de la Clínica Integral del Adulto en la Facultad de Odontología de LUZ, durante el período noviembre 2006-enero 2007.

Materiales y métodos

Descripción de la población: Se realizó un estudio de tipo descriptivo transversal no experimental [12] en una muestra de 50 individuos de ambos géneros (femenino: 40, masculino: 10) con edades comprendidas entre 16 y 79 años, tomados al azar, que asistían por diversos motivos a la Clínica Integral del Adulto, de la Facultad de Odontología de LUZ, en Maracaibo, estado Zulia, durante el período de noviembre del 2006 a enero del 2007. Estos pacientes fueron divididos en dos grupos:

1. Individuos con signos clínicos de enfermedad periodontal y/o caries dental: conformado por 25 pacientes, de los cuales algunos habían recibido tratamiento para dichas patologías, pero aun presentaban secuelas. Siete de estos pacientes pertenecían al género masculino y 18 al femenino, cuyas edades oscilaban entre 16 y 79 años. A cada uno de estos pacientes se les realizó observación clínica de su cavidad bucal, detectándose cálculo dental y detritus, lo que indica una higiene bucal deficiente.
2. Individuos sin signos clínicos de enfermedad periodontal y/o caries dental (grupo control): conformado por 25 pacientes adultos, a quienes también se les realizó observación clínica de la cavidad bucal, presentando éstos dientes, mucosa y condiciones periodontales satisfactorias. La edad de estos pacientes oscilaba entre 16 y 70 años, de los cuales 3 eran de género masculino y 22 del femenino.

Toma y recolección de las muestras: A los 25 pacientes con manifestaciones clínicas de enfermedad periodontal y/o caries dental se les tomó una muestra de placa dental; de este grupo a 19 pacientes se les tomó muestra de caries y a 12 se les tomó muestra de cálculo dental. A todos los pacientes que conformaron el grupo control se les tomó muestra de saliva y de placa dental.

La toma de las muestras fue realizada por una odontóloga seleccionada y autorizada para tal fin que presta sus servicios en la consulta de la Clínica Integral del Adulto de la Facultad de Odontología de LUZ, en Maracaibo, estado Zulia. Para ello se elaboró un cuestionario individual donde fueron recogidos diferentes datos de cada uno de los individuos, que incluían nombre, edad, sexo, dirección, y patología bucal, previo consentimiento por escrito tomando en cuenta las normas del Código de Bioética y Bioseguridad FONACIT [13] y del Comité de Bioética de la Facultad de Medicina, Escuela de Bioanálisis de LUZ.

Para la toma de la muestra, se seleccionó la zona anteroinferior tanto vestibular como lingual, debida a que en esta zona existe gran cantidad de cálculo. Las muestras de cálculo dental se obtuvieron con raspadoras y curetas periodontales previamente esterilizadas, previo secado de la zona con aire procedente de la unidad odontológica.

Las muestras de placa dental se tomaron de la siguiente forma: haciendo retracción del carrillo con una paleta de madera estéril, previo secado de la zona posterior maxilar con aire comprimido proveniente de la jeringa triple de la unidad odontológica, se frotó alrededor del cuello de los molares con aplicadores estériles (palillos de madera estériles). En pacientes edéntulos en la región de molares maxilares se seleccionó la misma zona pero mandibular; en los pacientes edéntulos parciales en la región de molares bimaxilares, con presencia de estructuras dentarias anteriores y premolares, se tomó muestra en cualquier diente.

Las muestras de saliva se tomaron con aplicadores de madera estériles en la región retromolar y piso de boca.

Las muestras de caries se tomaron con cucharitas para dentina de metal estériles, previo secado de la región correspondiente a la estructura dentaria cariada seleccionada. No hubo criterio para seleccionar alguna estructura dentaria específica; sólo debía extenderse la caries hasta la dentina o pulpa, bien sean caries no tratadas o recidivantes.

Transporte y análisis de las muestras: Las muestras tomadas para el examen al fresco fueron recolectadas en los viales conteniendo medio de transporte (solución de Ringer estéril) y llevadas al Laboratorio Clínico de la Escuela de Bioanálisis de la Facultad de Medicina de LUZ, para su observación microscópica al fresco antes de dos horas de tomada la muestra, evitando así la destrucción de los trofozoítos de las especies investigadas.

A cada una de las muestras se le realizó el examen microscópico al fresco a partir medio de transporte (solución de Ringer estéril). Además, se realizaron frotis directamente de las muestras tomadas, las cuales fueron fijadas con solución de Schaudinn y posteriormente coloreados con

coloración permanente de hematoxilina férrica para su observación microscópica [14].

Metodología estadística aplicada: Para realizar el análisis estadístico de los resultados se aplicaron las pruebas de Chi-cuadrado (χ^2) y prueba exacta de Fisher a través de una hoja de cálculo Microsoft Excel 2003, donde $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo, [15] para determinar si existía asociación entre las variables independientes: parasitismo y cavidad bucal con manifestaciones clínicas de enfermedad periodontal y/o caries dental y presencia de protozoarios y cavidad bucal sin manifestaciones clínicas de enfermedad periodontal y/o caries dental.

Resultados

De los 25 pacientes con cavidad bucal sin manifestaciones clínicas de enfermedad periodontal y/o caries dental (control) ninguno presentó formas evolutivas de los protozoarios estudiados, mientras que en el grupo de los 25 pacientes con manifestaciones clínicas de enfermedad periodontal y/o caries dental, en 5 se hallaron *E. gingivalis* y *T. tenax*.

En cuanto a la prevalencia de protozoarios bucales en la población estudiada, la especie que predominó fue *E. gingivalis*, con un total de 5 casos, lo que representa un 10%, mientras que *T. tenax* se observó en 1 caso (el cual estaba asociado a *E. gingivalis*) lo que representó el 2% de los casos estudiados, con una $p < 0,05$ ($p = 0,011$).

De las muestras obtenidas de individuos con cavidad bucal que presentaban manifestaciones clínicas de enfermedad periodontal (en diferentes grados), la muestra más estudiada fue placa dental con un total de 25 casos, de los cuales en 2 de ellos (4%) se encontró *E. gingivalis*, seguido de caries dental, de la cual se tomaron 19 muestras encontrándose en 1 de ellas (2%) este mismo protozoario, y por último se encuentra el cálculo dental con un total de 12 casos, detectando en 2 de ellos (4%) *E. gingivalis* y 1 caso (2%) de *T. tenax* (en asociación con *E. gingivalis*).

Del total de las muestras estudiadas en individuos con cavidad bucal que no presentaba ningún tipo de manifestaciones clínicas de enfermedad, 25 fueron de saliva mientras que 21 correspondieron a placa dental. En ninguna de estas muestras se halló la presencia de protozoarios bucales.

En relación a otros elementos encontrados en individuos con cavidad bucal que presentaban manifestaciones clínicas de enfermedad (en diferentes grados), expresado en el gráfico 1, se observó que en las muestras de caries analizadas hubo un predominio de células epiteliales en 4 casos (16%), seguido de levaduras en 2 de los casos (8%) y por último leucocitos y hematíes en 1 caso (4%) para cada uno de ellos.

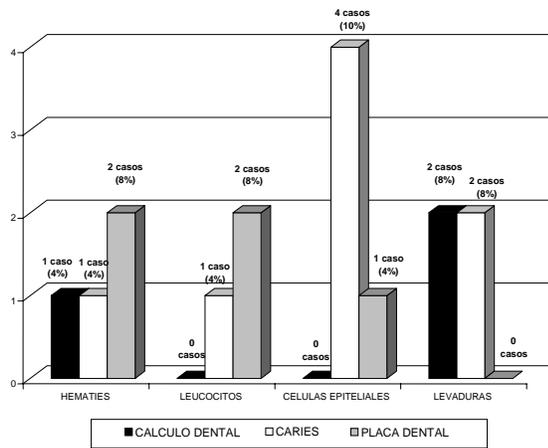


Gráfico 1. Otros elementos encontrados en individuos que presentaban manifestaciones clínicas de enfermedad periodontal y/o caries dental. Clínica Integral del Adulto. Facultad de Odontología de la Universidad del Zulia Edo. Zulia. Venezuela, 2007

En cuanto a las muestras de placa dental predominaron los hematíes y leucocitos presentes en 2 casos (8%), mientras que células epiteliales solo se observaron en 1 caso (4%). En lo que respecta a las muestras de cálculo dental hubo un predominio de levaduras, presentes en 2 casos (8%), hematíes en 1 caso (4%), y no se observaron ni leucocitos ni células epiteliales.

En el gráfico 2 se ilustran otros elementos encontrados en individuos con cavidad bucal sin manifestaciones clínicas de enfermedad, en el cual se observa un predominio de células epiteliales en la placa dental con un total de 8 casos (32%), seguido de leucocitos 2 casos (8%), levaduras en 1 caso (4%) y no se encontraron hematíes. En relación a la saliva el mayor elemento observado fueron los leucocitos en 3 casos (12%), seguido de células epiteliales en 2 casos (8%) y no se encontraron hematíes ni levaduras.

Discusión

Aunque existe una gran variedad de protozoarios que pueden producir enfermedades en el ser humano, y muchos de ellos llegan a su localización definitiva intestinal tras pasar por la cavidad bucal, solamente dos especies *T. tenax* y *E. gingivalis* se han adaptado a las condiciones ecológicas existentes en esta región del organismo [16].

Si bien se ha señalado que la asociación de estas dos especies con las enfermedades periodontales es discutible [16], y de hecho algunos autores las han considerado microorganismos no patógenos, existen evidencias más que suficientes que han demostrado de manera inequívoca su papel como microorganismos patógenos en gingivitis, periodontitis, así como otros procesos patológicos que se presentan tanto dentro como fuera de los límites de la cavidad bucal. En el caso de *E. gingivalis*, su patogenicidad pudiera estar dada por la fagocitosis de eritrocitos, leucocitos, y bacterias [6]; lo que indicaría que puede afectar la ecología oral, la formación de placa y contribuir a la lesión gingival, pues podría transportar activamente bacte-

rias a la superficie celular o dentro de las vacuolas, cooperando en el progreso de la enfermedad periodontal. También este parásito elabora una proteína proteolítica que aumenta su patogenicidad en la periodontitis. [2,17] y es capaz de estimular una respuesta inflamatoria, degenerativa y necrótica en las encías y tejidos conectivos circundantes, que favorecen la colonización microbiana en las bolsas periodontales [18].

Lo antes mencionado pudiera explicar el hecho de que en este estudio sólo se observó la presencia de estos protozoarios en los pacientes con cavidad bucal que presentaban manifestaciones clínicas de enfermedad periodontal, en diferentes grados y al realizar el análisis estadístico de los resultados, se demostró que existe una asociación de dependencia entre estas dos variables estudiadas, cavidad bucal que presentaban manifestaciones de enfermedad y la presencia de protozoarios bucales.

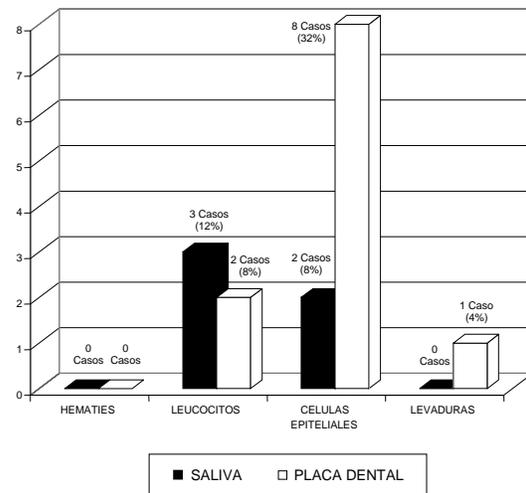


Gráfico 2. Otros elementos encontrados en individuos sin manifestaciones clínicas de enfermedad periodontal y/o caries dental. Clínica Integral del Adulto. Facultad de Odontología de la Universidad del Zulia Edo. Zulia. Venezuela, 2007

Sin embargo, estudios realizados en el país por Pardi [2], revelaron la presencia de *T. tenax* en 7 (35%) de los 20 pacientes con cavidad bucal que presentaban manifestaciones clínicas de enfermedad en diferentes grados (gingivitis), y en 2 casos (10%) de los 20 individuos con cavidad bucal sin manifestaciones clínicas de enfermedad; los individuos restantes fueron considerados como casos negativos al no evidenciarse la presencia del flagelado. Otra investigación publicada por este mismo autor [10] en pacientes con PMC confirma estos resultados, donde *T. tenax* estuvo presente en 9 pacientes (30%) del grupo experimental y sólo un caso en un paciente del grupo control.

Por otra parte, Sosa y col. realizaron un estudio en 50 escolares con o sin caries dental y materia alba, encontrando *E. gingivalis* en sólo 2 casos (4%); no identificaron *T. tenax* en este estudio, aclarando el autor que esto quizás fue debido a que no se utilizaron los métodos diagnósticos adecuados [11].

En el presente estudio *E. gingivalis* se detectó en 5 casos (10%), en tanto que *T. tenax* solamente en 1 (2%). Estos resultados coinciden con los obtenidos por otros investigadores a nivel internacional [8,19]; sin embargo, discrepan los de Flores [3], quien en sus estudios realizados en LUZ encontró una prevalencia de *E. gingivalis* del 81,6% y *T. tenax* de 18,4% de un total de 206 pacientes estudiados, al igual que los elaborados por Nocito y col. [20], en pacientes diabéticos encontraron una prevalencia de 91% y 32% respectivamente la cual resulta superior a la obtenida en esta investigación. La variación de porcentajes con respecto al presente estudio podría quizás explicarse por el empleo de metodologías diagnósticas diferentes y más sensibles como el empleo de medios de cultivo. Sin embargo, los resultados de esta investigación, coinciden con un estudio publicado en el año 2008 por Fuentes y col. en México [18], donde reportan a *T. tenax* con una prevalencia de 1,3% en la población estudiada.

Relacionando tipo de muestra estudiada y parasitismo, se encontró que el tipo de muestra más frecuente fue la de placa dental, seguido de cálculo y caries dental. *E. gingivalis*, se halló en los tres tipos de muestras, y *T. tenax* sólo fue encontrada en las muestras de cálculo dental, resultados que coinciden con lo citado por Liébana [4], y Sosa y col. [11], los cuales describen que *E. gingivalis* habita en el cálculo dental, tejidos de las encías, y, en particular, en procesos inflamatorios o supurativos y *T. tenax* se detecta principalmente en cálculo, alrededor de los dientes, en márgenes gingivales de las encías y en personas con enfermedad periodontal; así mismo Pardi y col. señalan que su incidencia en gingivitis y PMC ha sido claramente demostrada [21].

Otros elementos encontrados en muestras de individuos con cavidad bucal que presentaban manifestaciones clínicas de enfermedad periodontal, en diferentes grados, fueron por orden de frecuencia: células epiteliales en muestras de caries dental, seguido de levaduras y por último leucocitos y hematíes. En individuos que presentaban cavidad bucal sin manifestaciones clínicas de enfermedad, en muestras de placa dental también hubo un predominio de células epiteliales, leucocitos, levaduras y no se observaron hematíes.

En el estudio realizado por Flores y col. [3], también se observaron al microscopio células epiteliales, leucocitos, bacterias, levaduras, glóbulos rojos y fragmentos de cálculo dental, donde estos elementos se relacionan con la presencia de procesos infecciosos e inflamatorios como gingivitis, periodontitis y caries dental; los leucocitos polimorfonucleares son las primeras células en reaccionar frente a la agresión. Dichas células son reemplazadas por linfocitos y macrófagos que también participan en la respuesta inmune celular [22].

El presente estudio pone de manifiesto una baja prevalencia de protozoarios bucales (10% de *E. gingivalis* y 2% de *T. tenax*) en la población estudiada; esto puede atribuirse al hecho de no haber utilizado el cultivo como método de diagnóstico más sensible y que aumenta la posibilidad de detectar estos protozoarios, tal como ha quedado de-

mostrado en investigaciones previas realizadas en el país [3,21].

Estos datos son un aporte importante en las investigaciones de la microbiología oral desde el punto de vista parasitológico, área que ha sido poco estudiada, y amplían las perspectivas para desarrollar nuevas investigaciones.

Referencias

- Ferrara A, Concar R, Grassi L. Rilievi su un possibile ruolo patogeno di *Trichomonas tenax* nella Parodontite Cronica. *Ann Ist Super Sanità*. 1986; 22:253-6.
- Pardi G. Detección de *Trichomonas tenax* en pacientes con gingivitis. Caracas, Venezuela. 2004; Disponible en: <http://www.siicsalu.d.com/dato/dat037/04504009.htm>. Acceso diciembre 2006.
- Flores T. Estudio de protozoarios en la cavidad bucal humana: *Entamoeba gingivalis* Gross, 1849 y *Trichomonas tenax* O.F. Müller, 1773. Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela. *Kasmera*. 1984; 12:27-53.
- Liébana J. Microbiología Oral. 1ª ed. Madrid-España: Mc Graw-Hill Interamericana; 1997.
- Becerril M, Romero R. Parasitología Médica: De las moléculas a la enfermedad. México: McGraw-Hill Interamericana; 2004.
- Feki A, Molet B, Haag R, Kremer M. Les protozoaires de la cavité buccale humaine. Corrélations épidémiologiques et possibilités pathogéniques. *J Biol Buccale*. 1990; 9:155-61.
- Grassi L, Gatti R, De Carneri I. Protozoosi orali rilevante nel 1984 all' hospédale Niguarda Ca' Granda, Milano. *Ann Ist Super Sanità*. 1986; 22:249-52.
- Kurnatowska AJ, Kurnatoski P. Trichomoniasis of the oral cavity complicated by mycosis. *Parassitologia*. 1998; 40:339-42.
- Zdero M, Ponce de León P, Vasconi MD, Nocito I, Lucca A. *Entamoeba gingivalis* y *Trichomonas tenax*: Hallazgo en poblaciones humanas con y sin patología bucal. *Acta Bioquim Clin Latinoam*. 1999; 33:359-65.
- Pardi G, Perrone M, Mazzali R. Incidencia de *Trichomonas tenax* en pacientes con Periodontitis Marginal Cronica. *Acta Odontol Venez*. 2002; 40:20-8.
- Sosa L, González M, Naranjo B, Navas I, Quintana B. Levantamiento epidemiológico bucal en escolares de 1º y 2º etapa. Los Teques, Estado Miranda Venezuela. Tesis de Grado para optar al Título Curso Medio de Salud Pública, Mención Administración Sanitaria. Junio 2003.
- Hernández R, Hernández C, Baptista P. Metodología de la Investigación. 4ª ed. México: Mc Graw-Hill; 2006.
- Briceño E, Suarez E, Michelangi C, Feliciangeli D, Otaiza E, Mendible J, Villalon M, Ceballo H, Godoy J. Código de Bioética y Bioseguridad, Capítulos 2 y 3. Ministerio de Ciencia y Tecnología (FONACIT). 2ª ed. Venezuela; 2002.
- Melvin D, Brooke M. Métodos de Laboratorio para el Diagnóstico de Parasitosis Intestinales. 1ª ed. México-D.F: Editorial Interamericana; 1971.
- Dawson-Saunders B, Trapp R G. Trapp. Bioestadística Médica. 2ª ed. México: Editorial El Manual Moderno; 1999.
- Slots J, Taubman M. Contemporary Oral Microbiology and Immunology. 1ª ed. St Louis-USA: Mosby Year-Book Inc; 1992.
- El Hayawan IA, Bayoumy MM. The prevalence of *Entamoeba gingivalis* and *Trichomonas tenax* in periodontal disease. *J Egypt Soc Parasitol*. 1992; 22:101-5.

18. Fuentes R, Sánchez A, Castillo C, Hernández-Sierra F. Prevalencia y asociación epidemiológica de los protozoarios orales *Entamoeba gingivalis* y *Trichomonas tenax* en niños mexicanos. Revista ADM. 2008; 65:259-62.
19. Mahdi NK, Al Saeed AT. *Trichomonas tenax* in Basrah, Iraq. J Pak Med Assoc. 1993; 43:261-2.
20. Nocito-Mendoza I, Vasconi-Correas MD, Ponce de León-Horianski P, Zdero-Pandzich M. *Entamoeba gingivalis* y *Trichomonas tenax* en pacientes diabeticos. RCOE. 2003; 8:13-23.
21. Pardi G, Perrone M, Mazzali R. *Trichomonas tenax*: protozooario flagelado de la cavidad bucal – consideraciones generales. Acta Odontol Venez. 2002; 40:47-55.
22. Jaramillo N. 2000. Enfermedades de las encías. Disponible en: http://www.contusalud.com/sepa_odontologia_periodontitis.htm. Acceso noviembre 2006.