

# AISLAMIENTO DE TRICHOMONAS TENAX EN PACIENTES CON PERIODONTITIS CRÓNICA AL MEDIO DE CULTIVO DE TIOGLICOLATO MODIFICADO

## ISOLATION OF TRICHOMONAS TENAX IN PATIENTS WITH CHRONIC PERIODONTITIS IN THE MODIFIED THIOGLYCOLATE CULTURE MEDIUM

Edison Bernaola-Paredes<sup>1</sup>, Fabiola Gutiérrez-Romero<sup>2</sup>, Alfredo Guillén-Oneeglio<sup>3</sup>

### RESUMEN

**Objetivo.** Establecer la asociación entre la presencia del protozoo flagelado de la cavidad bucal *Trichomonas tenax* y la periodontitis crónica en los pacientes atendidos en la clínica especializada en odontología de la universidad de San Martín de Porres (USMP). **Material y métodos.** Fueron seleccionados 53 pacientes con periodontitis crónica y 41 pacientes periodontalmente sanos, los cuales acudieron a la clínica entre los meses de setiembre a diciembre de 2011, tomándose muestras de cálculo dental y placa dental subgingival respectivamente. Las muestras fueron depositadas en un tubo de vidrio conteniendo el medio de cultivo de Tioglicolato modificado para *Trichomonas tenax*, los cuales fueron incubados a 35°C por 4 a 5 días en el laboratorio. **Resultados.** Se encontró presencia del parásito de *Trichomonas tenax* en 9 pacientes con periodontitis crónica (17,0%) y 10 pacientes periodontalmente sanos (24,4 %), con un valor de  $p=0,781$ , por ser un estudio de casos y controles, el OR= 0,634. **Conclusiones.** Se determinó que no existe asociación entre la presencia de *Trichomonas tenax* y la periodontitis crónica. Asimismo, la presencia del parásito no se vio condicionada por la edad, el sexo y el índice de higiene oral de los pacientes atendidos en el mencionado recinto (Kiru 2012;9(2):95-106).

**Palabras clave:** Periodontitis crónica, *Trichomonas*, cultivo, interacciones huésped-parásitos, cavidad bucal (Fuente: DeCS BIREME).

### ABSTRACT

**Objective.** To establish the association between the presence of the flagellated protozoan of the oral cavity *Trichomonas tenax* and chronic periodontitis in patients treated at the specialized clinic in dentistry of San Martín de Porres University (SMPU). **Material and methods.** 53 patients with chronic periodontitis and 41 periodontal healthy patients were selected, who attended to the clinic during the months of September to December 2011, taking of them samples of dental calculus and subgingival dental plaque, respectively. The samples were placed in a glass tube containing the culture medium of modified thioglycollate to *Trichomonas tenax*, which were incubated at 35 °C for 4 or 5 days in the laboratory. **Results.** We found the presence of *Trichomonas tenax* in 9 patients with chronic periodontitis (17,0%) and in 10 periodontal healthy patients (24,4%), with a p-value =0,781. **Conclusions.** We conclude that there is no association between the presence of *Trichomonas tenax* and chronic periodontitis. Also the presence of the parasite was not influenced by age, sex and oral hygiene index of patients seen in the clinic (Kiru 2012;9(2):95-106).

**Key words:** Chronic periodontitis, *Trichomonas*, culture, host parasite interactions, oral cavity (Source: MeSH NLM).

<sup>1</sup> Cirujano dentista egresado de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Martín de Porres, Lima, Perú.

<sup>2</sup> Docente de pregrado y la maestría en periodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Martín de Porres, Lima, Perú.

<sup>3</sup> Médico cirujano. Jefe del laboratorio de microbiología de la clínica San Borja, docente de la Universidad Nacional Federico Villarreal, Lima, Perú.

### Correspondencia:

Edison Bernaola Paredes  
Dirección: Av. Angélica Gamarra 2001- 301 Lima 31  
Correo electrónico: edison1488@hotmail.com

### INTRODUCCIÓN

La cavidad bucal del ser humano alberga a numerosos microorganismos que se encuentran distribuidos alrededor de todas las estructuras de la misma, unos con mayor predilección por los tejidos duros y otros por los tejidos blandos; sin embargo, se interrelacionan mutuamente conformando una flora microbiana residente normal o comúnmente denominada comensal, mientras que otras son capaces de generar una invariable cantidad de patologías que afectan los tejidos de soporte. Estudios recientes han permitido un mayor entendimiento de la histopatogenia de la enfermedad periodontal.

La mayoría de los estudios realizados sobre microbiología oral se refieren a diversos aspectos de la bacteriología y virología, mientras que la parasitología bucal se ha dejado a un lado, por lo que las investigaciones al respecto son muy escasas. Quizás sea porque los únicos dos protozoarios que pueden encontrarse en la cavidad bucal, *Trichomonas tenax* y *Entamoeba gingivalis*, han sido hallados tanto en cavidad bucal sana como en patologías periodontales, razón por la cual algunos autores no le atribuyen papel patógeno. Aún cuando su patogenicidad ha sido demostrada en

diversos estudios realizados, *Trichomonas tenax* se ha encontrado con cierta frecuencia como colonizador de la cavidad bucal<sup>1-3</sup>.

La presencia de *Trichomonas tenax* en la cavidad bucal es considerada como un indicador de una deficiente higiene oral manifiesta en la población, aislándose con una mayor prevalencia a nivel de la placa dental subgingival, y sobre todo de 3 a 4 veces más en pacientes con enfermedad periodontal que en individuos sanos.

La detección de este protozoario en la enfermedad periodontal ha sido puesta de manifiesto en varios reportes a nivel internacional, como es el caso específico en Francia, Feki<sup>2</sup>, quien realizó un estudio de 300 pacientes con enfermedad periodontal reportando la presencia de este protozoario en 84 casos (28%).

Asimismo, Kurnatowska y Kurnatowski<sup>3</sup> tomaron muestras de saliva en 936 pacientes, encontrándose *Trichomonas tenax* en 90 de éstos (9,6%), de los cuales en 85 casos se identificó la presencia de hongos, estableciéndose, por lo tanto, que la trichomoniasis en cavidad bucal estaba asociada con micosis.

Por otro lado, Pardi<sup>4</sup>, en Venezuela publicó una investigación en la cual se estudió la incidencia de *Trichomonas tenax* en pacientes con periodontitis marginal crónica comparados con pacientes adultos sin problemas periodontales, demostrando una mayor incidencia de este protozoario a nivel de los individuos con enfermedad periodontal.

A pesar de que en Perú, la caries y la enfermedad periodontal representan un problema de salud pública, los estudios realizados para determinar la asociación de estos protozoarios con las patologías mencionadas, son escasos<sup>5-16</sup>. Es importante destacar que aún cuando *Trichomonas tenax* puede estar como comensal en la cavidad bucal de algunos individuos, está claramente demostrado el papel que juega esta especie como microorganismo patógeno, implicado en distintos procesos patológicos que se suscitan tanto dentro como fuera de los límites de la boca, constituyendo ésta un foco de infección<sup>17-19</sup>.

Es importante tomar en consideración que cuando se quiere aislar a este microorganismo, se debe escoger el o los medios de cultivo cuyos componentes aporten condiciones de pH, humedad y nutrientes para que *Trichomonas tenax* pueda crecer sin dificultad, añadiéndose claro está las condiciones adecuadas de temperatura y tensiones de oxígeno. La temperatura óptima de crecimiento de este microorganismo oscila entre 31°C y 37°C; y el pH óptimo en el cual se desarrolla oscila entre 7,0 y 7,5<sup>20,24</sup>.

Estudios comparativos respecto a los medios de cultivo utilizados para favorecer el crecimiento de *Trichomonas tenax*, manifiestan que de los tres cultivos ampliamente distribuidos a nivel mundial, como son:

cultivo de Diamond (cultivo estándar), cultivo de Kupferberg y el cultivo de Tioglicolato modificado; el de menor costo, así como de igual eficiencia que los restantes, y del cual se aisló numerosas cantidades del parásito, fue el de caldo Tioglicolato (Difco Laboratories, Detroit, Mich) modificado; el cual está enriquecido de caseína, glucosa, cisteína, cloruro de sodio, suero de caballo inactivo, y antibióticos como el Cloranfenicol, Penicilina G y Gentamicina<sup>25,26</sup>.

Someter a revisión la patogenicidad de *Trichomonas tenax*, basada en la evidencia, de que presenta una fosfatasa ácida, una proteína de superficie semejante a la fibronectina que interviene en los mecanismos de adhesión y fagocitosis, así como una importante actividad colagenolítica, aún cuando el colágeno es el principal elemento constituyente de los tejidos periodontales y de diversos órganos a nivel sistémico. Estos hallazgos podrían implicar para algunos autores un papel relevante en las primeras fases del proceso de destrucción de los tejidos periodontales<sup>4,5,11</sup>.

La actividad proteolítica de *Trichomonas tenax* viene mediada por la presencia de proteinasas de la cisteína o cisteinasas, las cuales son responsables de hidrolizar distintos tipos de colágeno, específicamente los tipos I, III, IV y V; los cuales son componentes principales de la matriz orgánica fundamental de todos los tejidos periodontales. Asimismo, se sugiere la posible presencia de metaloproteiniasas y endopeptidasas, las cuales pudieran contribuir a la actividad proteolítica<sup>1,4,20,23</sup>.

De allí que el odontólogo no se limite solamente a saber en cuales procesos infecciosos puede estar implicado este protozoario, sino la obligación, como promotor de la salud, de conocer las distintas características de este agente microbiano. La realización del presente estudio se justifica por la necesidad de determinar la naturaleza en la relación existente entre *Trichomonas tenax* y la cavidad bucal del ser humano, más aún, si este microorganismo se encuentra formando parte de la microbiota oral normal, resultando controversial su alta prevalencia en pacientes con enfermedad periodontal. Es propósito fundamental, conocer su estrecha relación con la histopatogenia de la periodontitis crónica, para establecer protocolos de erradicación del microorganismo, en las etapas preliminares o fases primarias en lo que corresponde al tratamiento de la enfermedad periodontal, convirtiéndose en herramienta útil para la prevención y control de la misma, surgiendo de esta forma una nueva alternativa terapéutica que el odontólogo general y el especialista puedan incorporar en la consulta diaria, aún más, devolviendo la salud bucal y sistémica del paciente<sup>27-29</sup>.

El aporte de todos los estudios realizados acerca del rol que cumple *Trichomonas tenax* en la cavidad bucal es importante para la microbiología oral desde el punto de vista parasitológico, sin embargo, sigue siendo

insuficiente. El objetivo del estudio fue establecer la asociación entre la presencia de *Trichomonas tenax* y la periodontitis crónica, así como determinar la prevalencia del parásito según la edad, el sexo y el índice de higiene oral de los pacientes atendidos en la clínica especializada en odontología de la USMP.

#### MATERIAL Y MÉTODOS

En este estudio, de tipo casos y controles, se seleccionaron 94 pacientes que acudieron a la clínica especializada en odontología de la USMP, Lima, Perú, en los meses de agosto a diciembre de 2011. Estos pacientes fueron divididos en dos grupos:

1.- Grupo de casos: Conformado por 53 pacientes que acudieron a la sala de la maestría en periodoncia, con diagnóstico de periodontitis crónica, según historia clínica documentada y examen radiográfico complementario, sin haber recibido

tratamiento periodontal (mecánico y químico) hasta el momento de la toma de muestra. Asimismo, se registró el índice de higiene oral de cada paciente (O'Leary).

2.- Grupo control: Constituido por 41 pacientes periodontalmente sanos según historia clínica documentada e índice de higiene oral (O'Leary), los cuales fueron seleccionados de las áreas correspondientes a la clínica estomatológica I y II e internado estomatológico de la clínica mencionada; los cuales acudieron por otros tratamientos odontológicos o se encontraban en la fase resolutoria del tratamiento (operatoria dental, prostodoncia fija y removible); y que hayan recibido o no tratamiento profiláctico anteriormente, pero no al momento de la toma de la muestra.



Figura 1. A. Paciente de sexo femenino con periodontitis crónica previamente diagnosticada. B. Aislamiento relativo con torundas de algodón estéril de la zona anteroinferior, de la caras vestibular y lingual C. Retiro del cálculo dental subgingival con la cureta periodontal estéril.

#### Toma y recolección de las muestras

1.- Para el grupo de casos, se tomaron muestras de cálculo a la respectiva autorización del personal docente, administrativo, y previa lectura y firma del consentimiento informado por parte del paciente seleccionado. (Figura 1A).

La toma la realizó un operador previamente capacitado durante el raspado y alisado radicular. Se procedió a aislar de forma relativa las piezas dentarias con rollos de algodón estériles para evitar la contaminación de la zona circundante (Figura 1B).

Luego, se retiró la muestra de cálculo dental subgingival empleando curetas y raspadores estériles de las siguientes zonas: vestibulares/linguales de las piezas anteroinferiores, caras vestibulares de las piezas posteriores y de las bolsas periodontales (Figura 1C). Finalmente, se depositaron las muestras en los tubos de vidrio que contenían el medio de cultivo de Tioglicolato modificado, los cuales fueron cerrados herméticamente

y numerados para su posterior observación en el microscopio (Figura 2 y 3).

2.- Para el grupo control, se tomaron muestras de placa dental subgingival en las áreas correspondientes a la clínica integral estomatológica I y II e internado estomatológico, con la respectiva autorización del personal docente y administrativo, previa lectura y firma del consentimiento informado por parte del paciente seleccionado.

Se realizó por un operador previamente capacitado de la clínica. Se aislaron parcialmente las piezas dentales con rollos de algodón estériles para evitar la contaminación de la zona circundante. Luego, se retiró la placa dental subgingival con curetas periodontales estériles de la cara vestibular y lingual de las piezas anteroinferiores y cara vestibular de las piezas posteriores. Finalmente se depositaron las muestras en los tubos de ensayo conteniendo el medio de cultivo de Tioglicolato modificado, el cual fue cerrado, numerado y transportado al laboratorio para su observación al microscopio.



Figura 2. Colocación de la muestra en el medio de cultivo de Tioglicolato modificado.



Figura 3 A y B. Colocación de los tubos en la estufa por 4 días.

#### Análisis microbiológico

Las muestras fueron transportadas al laboratorio para su observación microscópica, contenidas en 5ml de medio de cultivo de Tioglicolato modificado.

Luego, del término del período de incubación de los tubos, se evidenció crecimiento microbiano por la turbulencia presente en el medio de cultivo (Figura 4).

Después, con una pipeta Pasteur estéril, se extrajo del fondo del tubo 10 ul de la muestra y se colocó en una

lámina portaobjeto de 76 x 26 mm. De forma inmediata, se colocó una laminilla cubreobjetos de 22 x 22 mm para diseminar la muestra en todo el cuadrante (Figura 5 A y B).

Finalmente, se procedió a la lectura de la muestra en un microscopio de luz con objetivo seco de 200 y 400 aumentos, observándose en el campo de la lámina la presencia de la forma parasitaria, visualizándose sus flagelos anteriores, así como otros elementos formes como leucocitos, hematíes y células epiteliales (Figura 6).



Figura 4. Turbulencia en el medio de cultivo, evidenciando crecimiento microbiano.

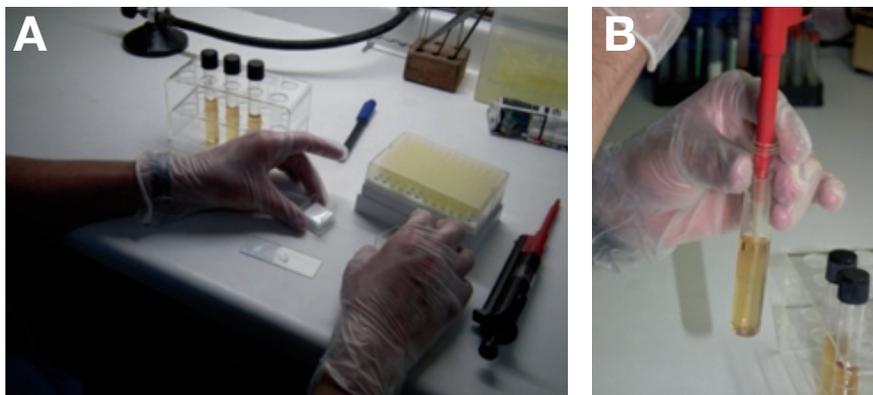


Figura 5. A. Se extrajo 10 ul de la muestra cultivada. B. Se colocó en una lámina portaobjetos de 76 x 26 mm y encima una laminilla cubreobjetos de 22 x 22 mm.

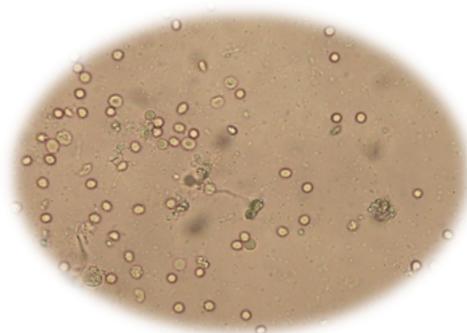


Figura 6. Presencia de Trichomonas tenax, visualizándose sus flagelos anteriores.

## RESULTADOS

De las 94 muestras analizadas en el laboratorio, correspondiente a cálculo dental subgingival y placa dental subgingival, de pacientes con periodontitis crónica y periodontalmente sanos respectivamente, se obtuvo 20 pacientes con positividad para Trichomonas tenax, lo que representa un 20,2 % del total, demostrando una baja prevalencia del parásito en los pacientes que acudieron a la clínica especializada en odontología de la USMP, entre los meses de agosto a setiembre de 2011. De los 53 pacientes seleccionados con periodontitis crónica, 9 presentaron Trichomonas tenax, al medio de cultivo de Tioglicolato modificado, lo que representa un 17,0% del total de casos. De los 41 pacientes seleccionados

periodontalmente sanos, 10 presentaron Trichomonas tenax al medio de cultivo de Tioglicolato modificado, lo que representa el 24,4% del total del grupo control.

No se encontró asociación entre la presencia del parásito flagelado y la periodontitis crónica según la prueba estadística Chi cuadrado, con un valor de significancia de 0,781 (>0,05%). Asimismo, para determinar el grado de asociación entre las variables presencia parasitaria y Trichomonas tenax, se utilizó la razón de las ventajas u ODDS RATIO, obteniéndose un valor de 0,634, lo que establece que el grado de asociación entre ambas variables no es significativo (Tabla 1 y Figura 7).

Tabla 1. Presencia de Trichomonas tenax en pacientes con y sin periodontitis crónica al medio de cultivo caldo de Tioglicolato modificado (setiembre – diciembre del 2011).

PERIODONTITIS		Trichomonas Tenax		
		POSITIVO	NEGATIVO	Total
CON	n	9	43	53
	%	17,0	83,3	100,0
SIN	n	10	31	41
	%	24,4	75,6	100,0
TOTAL	n	19	74	94
	%	20,2	79,8	100,0

Valor de  $p=0,781$  (>0,05%) / ODDS RATIO (OR) = 0,634 (grado de asociación no significativo)

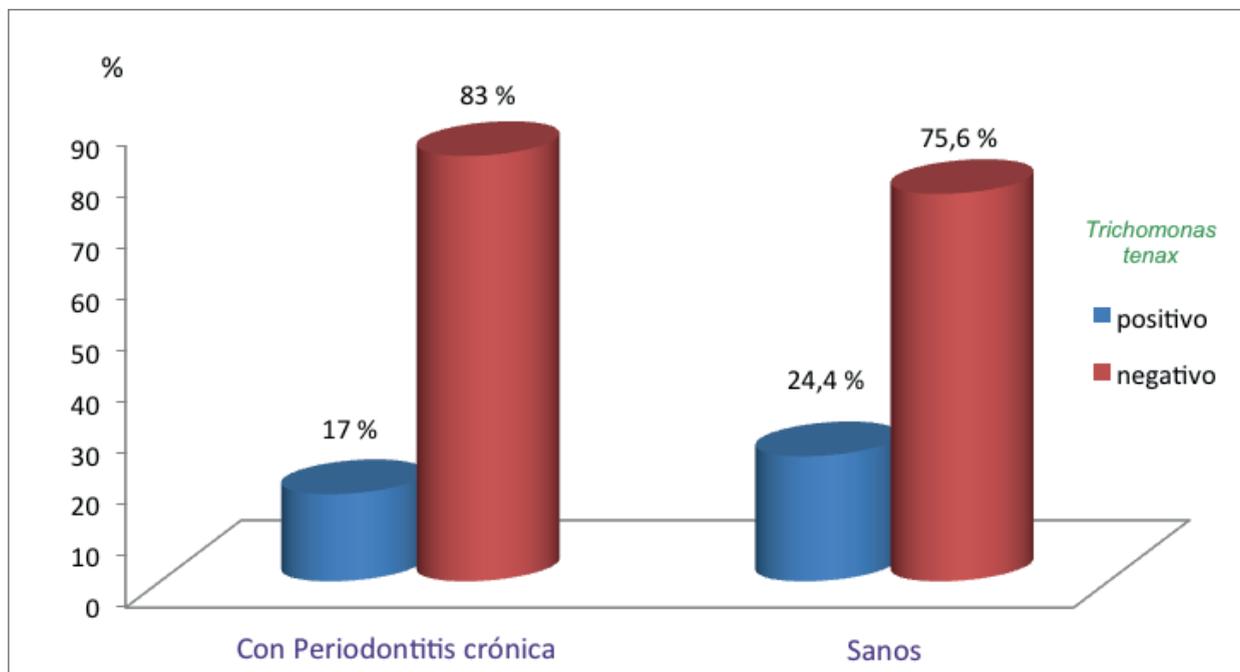


Figura 7. Presencia de *Trichomonas tenax* en pacientes con y sin periodontitis crónica al medio de cultivo de Tioglicolato modificado (setiembre – diciembre del 2011) Fuente: Tabla 1.

Del grupo etareo de 18 a 36 años, ningún paciente con periodontitis crónica, presentó *Trichomonas tenax* al medio de cultivo de Tioglicolato modificado, de un total de 6 casos; sin embargo, de los pacientes sanos, 4 presentaron *Trichomonas tenax* de un total de 19 controles.

Del grupo etareo de 37 a 54 años, 4 pacientes con periodontitis crónica, presentó *Trichomonas tenax* al examen microscópico directo, de un total de 20 casos; casos similar al grupo control, que presentó 5 pacientes con *Trichomonas tenax*. Del grupo etareo de 55 a 72 años de edad, 4 pacientes con periodontitis crónica, presentó *Trichomonas tenax* al examen microscópico directo, de un total de 22 casos; por el contrario, de los pacientes sanos, ningún paciente presentó *Trichomonas tenax*, de un total de 7 controles.

Del grupo etareo de 73 años en adelante, un solo paciente

con periodontitis crónica presentó *Trichomonas tenax* al examen microscópico directo, de un total de 5 casos; casos similar en el grupo control, donde un solo paciente presentó *Trichomonas tenax*.

Para determinar la asociación entre las variables edad y presencia de *Trichomonas tenax*, se empleó el estadístico coeficiente de correlación ETA, cuyos valores oscilan entre 0 y 1, cuyos valores cercanos a 0 muestran una no asociación entre las variables, mientras que los valores cercanos a 1 muestran una gran asociación. En nuestro estudio el valor de ETA fue de 0,030, por lo que no se encontró asociación entre la edad y la presencia de *Trichomonas tenax* en pacientes con periodontitis crónica.

Asimismo no se encontró asociación entre la presencia del parásito y la edad en pacientes periodontalmente sanos con un valor de ETA de 0,098 (Tabla 2 y figuras 8 y 9).

Tabla 2. Presencia de *Trichomonas tenax* en pacientes con y sin periodontitis crónica según la edad, al medio de cultivo caldo de Tioglicolato modificado (setiembre – diciembre de 2011).

EDAD	PERIODONTITIS CRÓNICA		SANOS		
	T. tenax +	T. tenax -	T. tenax +	T. tenax -	
18-36	n	0	6	4	15
	%	0,00	13,95	40	48,38
37-54	n	4	16	5	9
	%	44,44	36,36	50	29,03
55-72	n	4	18	0	7
	%	40,00	41,86	0,0	22,58
73≥	n	1	4	1	0
	%	10,00	9,30	0,1	0,00
TOTAL	n	9	44	10	31
	%	100	100	100	100

Valor de ETA = 0,065

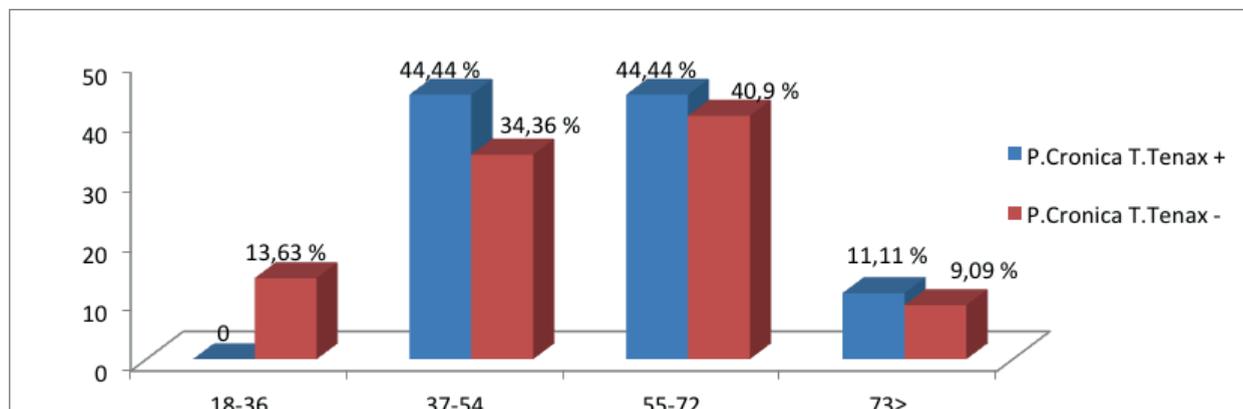


Figura 8. Presencia de *Trichomonas tenax* en pacientes con periodontitis crónica según la edad, al medio de cultivo de Tioglicolato modificado (setiembre – diciembre del 2011).

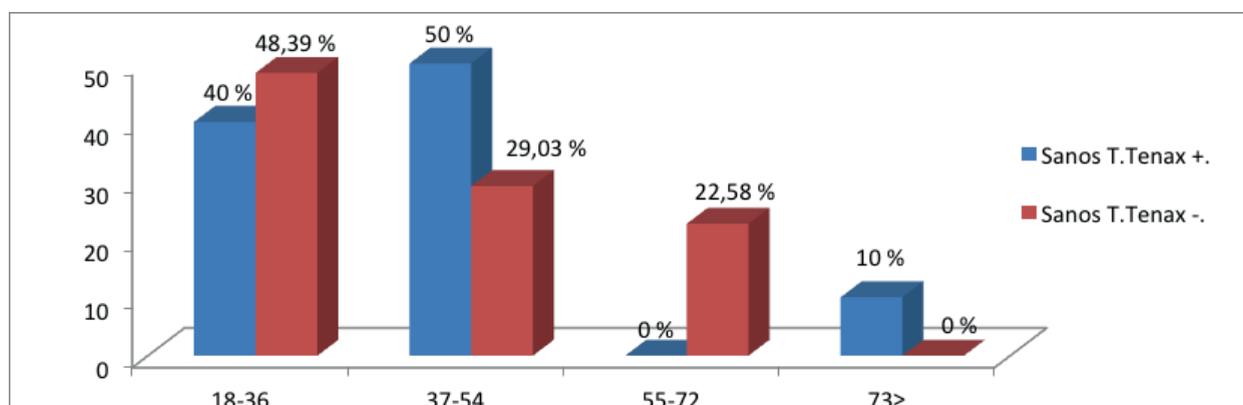


Figura 9. Presencia de *Trichomonas tenax* en pacientes periodontalmente sanos según la edad, al medio de cultivo caldo de Tioglicolato modificado (setiembre – diciembre de 2011).

De los 53 pacientes con periodontitis crónica, 30 pertenecientes al sexo femenino y 23 al sexo masculino. 6 del sexo femenino (66,67%) y 3 del sexo masculino (33,3%) fueron positivos a *Trichomonas tenax* al medio de cultivo de Tioglicolato modificado.

De los 41 pacientes sanos, 8 pertenecientes al sexo masculino, 2 fueron positivos a *Trichomonas tenax* al medio de cultivo de Tioglicolato modificado, lo que representa el 20% del total de ese grupo. De los 41 pacientes sanos, 33 del sexo femenino, 8 fueron positivos a *Trichomonas tenax* al examen microscópico directo, lo que representa un 80,0% del total de ese grupo.

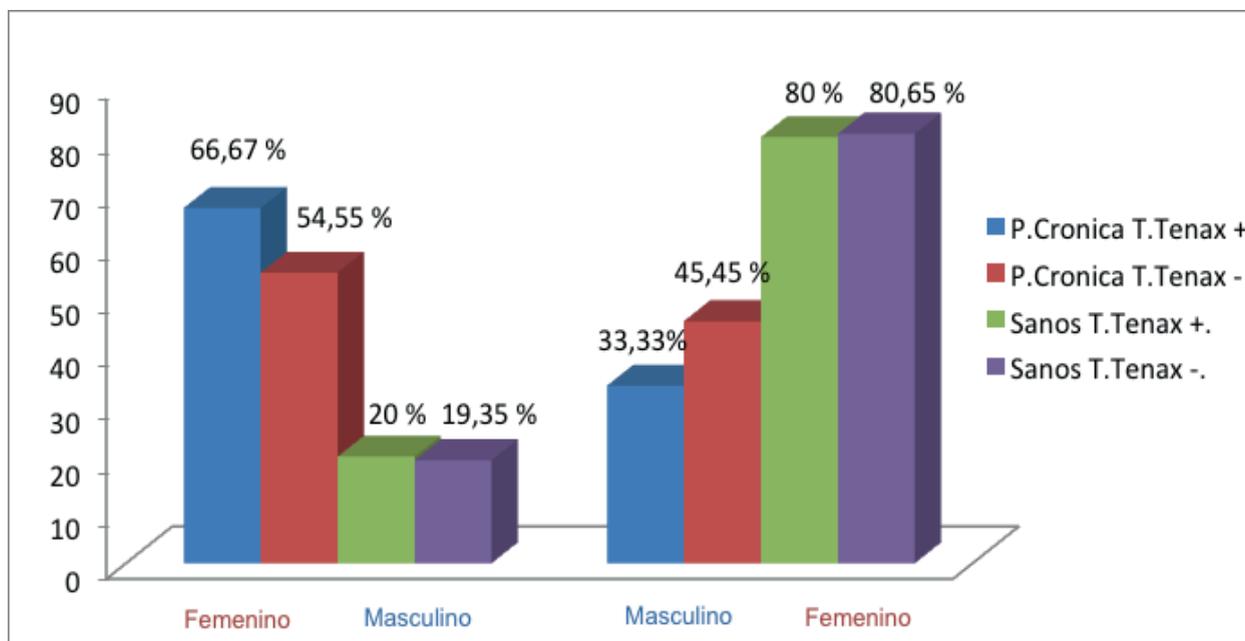
Para determinar la asociación entre las variables sexo y presencia de parásito se empleó el estadístico exacto de Fisher, con un intervalo de confianza del 95% y prueba de significancia menor al 0,05%. El resultado obtenido fue un valor de p de 0,715, por lo cual establecemos que no existe asociación entre el sexo y la presencia de *Trichomonas tenax* al medio de cultivo de Tioglicolato modificado, en pacientes

con periodontitis crónica. Asimismo, no se encontró asociación entre la presencia del parásito y el sexo al examen directo, en pacientes periodontalmente sanos, según Fisher de 1,000.

Para determinar el grado de asociación entre ambas variables, se utilizó la razón de las ventajas u ODDS RATIO, cuyo valor fue de 0,600, por lo cual se determinó que el grado de asociación entre la presencia de *Trichomonas tenax* y el sexo, en pacientes con periodontitis crónica, atendidos en la clínica especializada en odontología de la USMP, no es significativo. El grado de asociación entre la presencia de *Trichomonas tenax* al medio de cultivo de Tioglicolato modificado y el sexo, en pacientes periodontalmente sanos, atendidos en la clínica especializada en odontología de la USMP, no es significativo, con un valor de 1,042. Nuestro estudio no encontró asociación significativa entre ambas variables, por lo cual el sexo no condiciona la presencia de *Trichomonas tenax*, a pesar de que la prevalencia del parásito fue mayor en el sexo femenino que en el masculino (Tabla 3 y figura 10).

**Tabla 3. Presencia de *Trichomonas tenax* en pacientes con y sin periodontitis crónica según sexo, al medio de cultivo caldo de Tioglicolato modificado (setiembre – diciembre de 2011).**

SEXO		PERIODONTITIS CRÓNICA		SANOS		
		T. tenax +	T. tenax -	T. tenax +	T. tenax -	
FEMENINO	n	6	24	8	25	
	%	66,67	54,55	80	80,65	
MASCULINO	n	3	20	2	6	
	%	33,33	45,45	20	19,35	
TOTAL		n	9	44	10	31
		%	100	100	100	100



**Figura 10. Presencia de *Trichomonas tenax* en pacientes con y sin periodontitis crónica según sexo, al medio de cultivo caldo de Tioglicolato modificado (setiembre – diciembre de 2011) Fuente: Tabla 3.**

De los 9 pacientes positivos a *Trichomonas tenax* al medio de cultivo de Tioglicolato modificado, pertenecientes al grupo con periodontitis crónica, 8 presentaron mala higiene bucal, lo que representa el 50% de los casos positivos. De los 10 pacientes positivos a *Trichomonas tenax* al medio de cultivo de Tioglicolato modificado, pertenecientes al grupo sin periodontitis crónica, 8 presentaron mala higiene bucal, lo que representa el 50% de los casos positivos.

Para determinar la asociación entre las variables índice de higiene oral y presencia del parásito, empleamos el estadístico Chi cuadrado, cuyo resultado fue 1,740, con un nivel de significancia de 0,419, por lo cual la presencia de *Trichomonas tenax* al examen microscópico directo, en pacientes con periodontitis crónica, no está asociado al índice de higiene oral (Tabla 4 y Figura 11).

Tabla 4. Presencia del parásito *Trichomonas tenax* y el índice de higiene oral.

Trichomonas tenax				IHO (O'Leary)			TOTAL
				BUENO	REGULAR	MALO	
POSITIVO							
PERIODONT	Con	n	1	0	8	9	
		%	33,3	0,0	50,0	47,4	
	Sin	n	2	0	8	10	
		%	66,7	0,0	50,0	52,6	
Total		n	3	0	16	19	
		%	100,0	0,0	100,0	100,0	
NEGATIVO							
PERIODONT	Con	n	2	8	34	44	
		%	22,2	57,1	65,4	58,7	
	Sin	n	7	6	18	31	
		%	77,8	42,9	34,6	41,3	
Total		n	9	14	52	75	
		%	100,0	100,0	100,0	100,0	
Total		Con	n	3	9	41	53
		PERIODONT	%	25,0	60,0	61,2	56,4
		Sin	n	9	6	26	41
			%	75,0	40,0	38,8	43,6
Total		n	12	15	67	94	
		%	100,0%	100,0%	100,0	100,0	

Valor de p = 0, 419

## DISCUSIÓN

Mientras que la gran mayoría de estudios sobre microbiología bucal se refieren a numerosos aspectos de la bacteriología, escasos reportes acerca sobre el rol que cumplen los protozoarios bucales en el biofilm dental se han puesto de manifiesto, a pesar de la alta prevalencia de infecciones en adultos donde se encuentra *Trichomonas tenax* como agente etiológico <sup>4,6</sup>.

Al respecto se han publicado múltiples reportes sobre la complejidad de la microbiota residente en la placa dental, no sólo en términos cuantitativos sino cualitativos incluyendo además de bacterias, hongos, micoplasmas y protozoarios, entre éstos *Trichomonas tenax* como parte integrante de este sistema ecológico tan variado como lo es la cavidad bucal.

En nuestro país, no existen reporte previos acerca de la asociación de *Trichomonas tenax* con la enfermedad periodontal, específicamente, con la periodontitis crónica; no obstante, numerosos reportes de otros países <sup>4-8</sup>, vinculan la presencia del protozoario flagelado con lesiones iniciales de enfermedad periodontal, y su posible exacerbación en lesiones periodontales avanzadas; es por ello, que en nuestro estudio se decidió determinar la posible asociación entre *Trichomonas tenax* y la periodontitis crónica.

Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran una baja prevalencia del parásito flagelado en 94 pacientes seleccionados de la clínica especializada en odontología de la USMP; representado por 20 pacientes positivos a *Trichomonas tenax*, correspondiente al 21, 3% del total.

Sin embargo Rojas <sup>13</sup>, en 1995, encontró una prevalencia significativa de 29% de casos positivos, que corresponde a 58 pacientes con *Trichomonas tenax*, en la cavidad bucal de 200 pacientes provenientes del hospital Daniel Alcides Carrión en Lima.

Reportes similares a nuestro estudio, demuestran una baja prevalencia de *Trichomonas tenax* <sup>5-7</sup> en cavidad bucal de pacientes con manifestaciones clínicas de enfermedad periodontal. Es importante resaltar, que se encontró una igual cantidad de pacientes positivos para *Trichomonas tenax* en los pacientes con manifestaciones clínicas de periodontitis crónica que en los que no presentaban periodontitis crónica, lo que indica que no existen diferencias significativas en la prevalencia del protozoario flagelado en bocas patológicas, como en bocas sanas, por lo que podemos considerar *Trichomonas tenax* como un parásito oportunista que habita en el surco gingival, resultado obtenido por Albuquerque <sup>6</sup> en Brasil, en el año 2011, el cual realizó un estudio similar al nuestro, donde encontró sólo 5 casos (41,67%) de pacientes con periodontitis y 5 casos (41,67%) periodontalmente sanos.

Numerosos reportes manifiestan que la presencia de *Trichomonas tenax* se ve influenciada por la edad <sup>1,5</sup>, según Pardi <sup>4</sup> en el año 2002 y Fuentes <sup>8</sup> en el año 2008, es decir, que mientras la edad aumenta, la presencia del protozoario también aumenta. Sin embargo, en este estudio, la edad no es un parámetro importante a la hora de determinar la presencia de *Trichomonas tenax* en pacientes con periodontitis crónica; a pesar de que

nuestros resultados demuestran una mayor prevalencia del protozooario, tanto en pacientes positivos con manifestaciones clínicas de periodontitis crónica como en los pacientes sanos, en el rango del grupo etareo de 31 a 54 años, coincidente con las investigaciones de Albuquerque<sup>6</sup> en Brasil y Ghabanchi<sup>7</sup> en la India; sin embargo Pardi<sup>4</sup>, en Venezuela, encuentra una mayor prevalencia de *Trichomonas tenax* en pacientes del grupo etareo 41 a 50 años, tanto en el grupo con periodontitis marginal crónica como en pacientes sanos seleccionados en su estudio.

Cabe resaltar que en nuestro estudio no se seleccionaron pacientes menores de edad, sobre todo niños, puesto que la literatura y reportes previos demuestran que no se ha encontrado *Trichomonas tenax* en niños menores de 11 años; así como el difícil aislamiento del mismo en pacientes adolescentes<sup>1,4,5,7</sup>; sin embargo, Fuentes<sup>8</sup> en México, en el 2008, encontró una alta prevalencia (12,7%) de *Trichomonas tenax* en niños mexicanos de 3 a 14 años de edad, todos ellos con mala higiene bucal y manifestaciones clínicas de enfermedad periodontal.

Pese a que *Trichomonas tenax* se encontró en la mayoría de subgrupos de las edades seleccionadas, y manifestándose una clara diferencia entre el grupo etareo de 18 a 36 años con manifestaciones clínicas de periodontitis crónica, en la cual ningún paciente (0%) presentó positividad al parásito; y el grupo de pacientes sanos del mismo grupo etareo, el cual presentó 4 pacientes (21,1%) positivos para *Trichomonas tenax*, no existieron diferencias estadísticamente significativas entre cada subgrupo seleccionado tanto para el grupo de casos como para el grupo control; así como la no asociación de la edad a la presencia de *Trichomonas tenax*, resultados similares al estudio realizado por Albuquerque<sup>6</sup> en Brasil, en marzo del 2011.

El sexo no parece tener influencia en la proporción en la cual se detectó *Trichomonas tenax* en los pacientes del grupo experimental; aún cuando la prevalencia de este protozooario fue ligeramente mayor en los pacientes del sexo femenino; sin embargo, en el grupo control se presentó una prevalencia mayor en pacientes mujeres que en varones, como también lo demuestran estudios similares obtenidos en cuanto al sexo<sup>6,13</sup>. Resultados contrarios se han obtenido en cuanto al sexo, de acuerdo a lo expuesto en el estudio realizado por Pardi<sup>4</sup> en Venezuela, en el 2002, en el cual existe una mayor prevalencia del protozooario en el sexo masculino.

Con respecto a la asociación entre la higiene bucal y la presencia de *Trichomonas tenax*, reportes previos<sup>1,4,5,8,13</sup>, manifiestan una exacerbación de la presencia del protozooario en pacientes con mala higiene bucal, aún incluso en pacientes niños mayores de 11 años y adolescentes<sup>8</sup>. Cabe resaltar que este protozooario vive en el cálculo dental y forma parte integrante de la microbiota que conforma la placa dental subgingival

alrededor de los dientes que se encuentran en la cavidad bucal humana. Es por ello, que una inadecuada higiene bucal condiciona a la conformación de un nicho ecológico favorable para el protozooario<sup>1,4,5,7</sup>; por lo que los resultados obtenidos manifiestan que más del 50% de pacientes con manifestaciones clínicas de periodontitis crónica y positivos a *Trichomonas tenax* al cultivo, presentan una mala higiene oral; asimismo, en los pacientes sin periodontitis crónica, la prevalencia del parásito en pacientes con mala higiene oral según el Índice de O'Leary corresponde al 50 % del total del grupo. Resultados similares en cuanto al Índice de higiene oral fueron reportados en estudios previos, de Pardi<sup>4</sup> en el año 2002, Acurero<sup>5</sup> en el 2009 y Fuentes<sup>8</sup> en el 2008.

A pesar de que la mayoría de pacientes positivos para *Trichomonas tenax* tanto del grupo experimental como del grupo control presentaron una mala higiene oral, los resultados estadísticos no evidenciaron asociación entre la variable Índice de higiene oral y presencia de *Trichomonas tenax* ( $p=0,419$ ).

El empleo de medio de cultivo de Tioglicolato modificado, exclusivo para *Trichomonas tenax*, como metodología diagnóstica, favoreció a un mejor aislamiento del parásito, como lo manifiestan estudios previos de Pardi<sup>4</sup> en el 2002, Acurero<sup>5</sup> en el 2009, Ponce de León<sup>10</sup> en el 2001 y Nocito<sup>11</sup> en el 2000.

En relación a otros elementos encontrados en individuos con cavidad bucal que presentaban manifestaciones clínicas de periodontitis crónica y *Trichomonas tenax* positivos, se observó que en las muestras de cálculo dental subgingival hubo predominio de hematíes en 2 casos, seguido de células epiteliales y hematíes en 2 casos y por último leucocitos en 1 caso; resultados contrarios fueron encontrados por Acurero<sup>5</sup> en Venezuela en el 2009, el cual encontró predominio de levaduras en 2 casos (8%), hematíes en 1 caso(4%), no observándose ni leucocitos ni células epiteliales.

Por otro lado, en nuestro estudio en pacientes sin periodontitis crónica y *Trichomonas tenax* positivos, en muestras de placa dental subgingival, se observaron hematíes en 2 casos, seguido de células epiteliales en 5 casos, leucocitos en 3 casos y por último levaduras en 1 sólo caso; similar a los resultados obtenidos por el mismo autor<sup>4</sup>, el cual observó un predominio de células epiteliales en la placa dental con un total de 8 casos (32%), seguido de leucocitos en 2 casos (8%), levaduras en 1 caso (4%) y no encontró hematíes.

La asociación entre la enfermedad periodontal y la presencia de *Trichomonas tenax* radica en parte en la actividad proteolítica que presenta este protozooario flagelado, la cual viene mediada por proteasas de la cisteína, las cuales son responsables de la hidrólisis de los diferentes tipos de colágeno que están presentes en los tejidos periodontales, contribuyendo a esta acción la metaloproteinasas<sup>4,6</sup>.

Queda aún por aclarar si además de los efectos respectivos que ejercen las cisteinasas producidas por *Trichomonas tenax* sobre los tejidos periodontales, concretamente sobre la matriz proteica, cumplen otras funciones. De allí se sugiera una posible implicación en la destrucción de varios componentes de diversa *Trichomonas tenax* índole del sistema inmunológico del hospedero <sup>4</sup>.

Por otra parte, se ha podido demostrar in vitro que la actividad proteolítica de células de *Trichomonas tenax* detectadas en muestras de placa dental humana, puede deberse a la presencia de endopeptidasas.

Se ha comprobado al menos de manera experimental que no se adhiere a las células epiteliales ni a los fibroblastos porque no posee adhesinas o proteínas de superficie que permitan la unión como tal, en tanto que *Trichomonas vaginalis* si las posee, razón por la

cual se puede adherir a las células antes nombradas, produciendo daño celular.

La baja prevalencia de *Trichomonas tenax* en los pacientes que acuden a la clínica especializada en odontología de la USMP, pone de manifiesto, según los resultados estadísticos obtenidos, que no existe asociación entre la presencia de *Trichomonas tenax* y la periodontitis crónica ( $p=0,781 >0,05$ ). Resultados similares fueron obtenidos en estudios previos en el 2009 por Albuquerque <sup>6</sup> y Nocito <sup>11</sup> en el año 2000.

Sobre el grado de asociación entre la presencia de *Trichomonas tenax* y la periodontitis crónica, mediante la aplicación de la prueba de ODDS RATIO, por ser este un estudio de casos y controles, se obtuvo un OR de 0,634, lo cual indica que el grado de asociación entre ambas variables es no significativo.



Figura 12. Caldo de Tioglicolato (Difco Laboratories) modificado con antibióticos Cloranfenicol, Penicilina G y Gentamicina.

Finalmente, se concluye que no existe asociación entre la presencia de *Trichomonas tenax* y la periodontitis crónica en los pacientes atendidos en la clínica especializada en odontología de la USMP ( $p= 0,781$  según medio de cultivo de Tioglicolato modificado). Asimismo no existen diferencias significativas entre la prevalencia de *Trichomonas tenax* en pacientes con periodontitis crónica y los pacientes periodontalmente sanos, atendidos en el mencionado recinto. Se ha comprobado que no existe una asociación significativa entre la presencia de *Trichomonas tenax* y la edad en pacientes de ambos grupos.

El estudio realizado ha demostrado la existencia de un mayor porcentaje de la presencia de *Trichomonas tenax* en los pacientes con mala higiene oral. A pesar de que se ha comprobado que no existe una asociación significativa entre índice de higiene oral y la presencia de *Trichomonas tenax*, la higiene bucal puede constituir un

factor determinante. Recomendamos realizar estudios posteriores sobre *Trichomonas tenax* para esclarecer la naturaleza de la relación entre la patología periodontal y la presencia de este parásito, analizando una mayor cantidad de muestra, incorporando mayor población de estudio y abarcando mayor cantidad de tiempo para la investigación, para de esta forma aumentar la potencia de la prueba estadística, lo que permitiría detectar posibles asociaciones.

Para elevar la sensibilidad diagnóstica y obtener un control microbiológico adecuado en el análisis de las muestras, es imprescindible la utilización de medios de cultivo exclusivos para *Trichomonas tenax*, permitiendo un hallazgo más seguro de esta especie. No menos importante es la observación al fresco mediante microscopio de luz para un hallazgo rápido del protozoo flagelado.

La presencia de *Trichomonas tenax* en un huésped enfermo no implica que el microorganismo sea un factor causal; sin embargo, la proliferación del mismo por las condiciones favorables pueden agravar un mal estado general y prolongar la duración de la enfermedad.

#### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la bióloga Yuli Guillén de la Universidad Nacional de San Marcos, a la Dra. Maribel Rodríguez, a todos los doctores de la maestría de periodoncia, a las enfermeras de las proveedurías, al personal docente y administrativo de la facultad de odontología de la USMP, por todo el apoyo brindado para la realización del presente estudio.

#### FUENTE DE FINANCIAMIENTO

Autofinanciado

#### CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran no tener conflicto de interés en la publicación de este artículo.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Pardi G, Perrone M, Mazzali de Ilja R. Trichomonas tenax: Protozoo flagelado de la cavidad bucal. Consideraciones generales. Acta Odontol. Venez. [Revista en Internet] 2002. [Acceso 10 octubre de 2011]; 40(1). Disponible en: [http://www.actaodontologica.com/ediciones/2002/1/trichomonas\\_tenax.asp](http://www.actaodontologica.com/ediciones/2002/1/trichomonas_tenax.asp)
- Feki A, Molet B, Haag R, Kremer M. Les protozoaires de la cavité buccale humaine. Corrélations épidémiologiques et possibilités pathogéniques. J Biol Buccale. 1981;9(2):155-61.
- Kurnatowska AJ, Kurnatoski P. Trichomoniasis of the oral cavity complicated by micosis. Parassitologia. 1998;40(3):339-42.
- Pardi G, Perrone M, Mazzali de Ilja R. Incidencia de Trichomonas tenax en pacientes con periodontitis marginal crónica. Acta Odontol Venez. 2002;40(2):20-8.
- Acurero OE, Maldonado IA, Maldonado C, Bracho IA, Parra J, Urdaneta Y, Urdaneta M. Entamoeba gingivalis y Trichomonas tenax en cavidad bucal de pacientes de la Clínica Integral del Adulto de la Facultad de Odontología, Maracaibo, Venezuela. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología. 2009;29:122-7.
- Alburquerque J, Melo C, Santana W, Ribeiro J, Silva F. Incidence of Entamoeba gingivalis and Trichomonas tenax in samples of dental biofilm and saliva from patients with periodontal disease. Rev Gaúcha Odontol. 2011;59(1):35-40.
- Ghabanchi J, Zibaei M, Daghighi M, Sarbazei AH. Prevalence of oral Entamoeba gingivalis and Trichomonas tenax in patients with periodontal disease and healthy population in Shiraz, southern Iran. Indian J Dent Res. 2010;21(1):89-91.
- Fuentes CR, 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(5):259-62.
- Athari A, Soghandi L, Haghghi A, Kazemi B. Prevalence of oral trichomoniasis in patients with periodontitis and gingivitis using PCR and direct smear. Iranian J Publ Health. 2007; 36(3):33-7.
- Ponce de León P, Zdero M, Vasconi MD, Nocito I, Lucca A, Perez B. Relation between buccal protozoa and pH and salivary Ig A in patients with dental prosthesis. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2001;43(4):241-2.
- Nocito-Mendoza I, Vasconi-Correas M, Ponce de León P, Zdero M. Entamoeba gingivalis y Trichomonas tenax en pacientes diabéticos. RCOE. [Revista en Internet] 2003. [Acceso 10 octubre de 2011]; 8(1). Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1138-123X2003000100002](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1138-123X2003000100002).
- Kikuta N, Yamamoto A, Fukura K, Goto N. Specific and sensitive detection of Trichomonas tenax by the polymerase chain reaction. Lett Appl Microbiol. 1997;24(3):193-7
- Rojas-Morales C. Presencia de Trichomonas tenax en cavidad oral [Tesis de bachiller en Odontología]. Lima: Universidad de San Martín de Porres; 1995.
- Moromi NH, Nicho TA, Espinoza ES. Medio selectivo para recuperar Trichomonas tenax. Rev. Inst. Invest. Estomatológica. [Revista en Internet] 1991. [Acceso 02 octubre de 2011]; 8(1). Disponible en: [http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/rev\\_cientifica/n02\\_1991/pdf/a05.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/rev_cientifica/n02_1991/pdf/a05.pdf)
- Peña M, Peña L, Díaz A, Torres D, Lao N. La enfermedad periodontal como riesgo de enfermedades sistémicas. Rev Cubana Estomatol. [Revista en Internet] 2008. [Acceso 10 octubre de 2011]; 45(1). Disponible en: <http://C:\SciELO\serial\est\v45n1\body\est06108.htm>
- Lindhe J, Karring T, Lang N. Periodontología clínica e implantología. 5ª ed. Buenos Aires: Panamericana; 2005.
- Carranza F, Newman M, Takei H. Periodontología clínica. 9ª ed. México: Mc Graw Hill Interamericana; 2007.
- De la Cruz VD. Aplicación de la prueba de urea para el diagnóstico de Helicobacter pylori en muestras de placa dental y biopsia gástrica de pacientes del Hospital Central de la Policía Nacional [Tesis de bachiller en Odontología]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2009.
- Lindhe J, Karring T, Lang N. Periodontología clínica e implantología. 7ª ed. Buenos Aires: Panamericana; 2009.
- Beaver P, Clifton JP, Wayne CE. Beaver Parasitología clínica de Graig Faust. 3ª ed. México: Masson Doyma S.A.; 2003.
- Brown H. Parasitología clínica. 3ª ed. México: Interamericana S.A.; 1970.
- Brooks FG, Butel SJ, Morse AS. Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 18ª ed. México: El Manual Moderno; 2005.
- Atias A. Parasitología clínica. 3ª ed. Chile: Mediterráneo; 1991.
- Falótico PG, Farias RF. El surco gingival: aspectos clínicos y anatomomicrobiológicos. ODOUS Científica. 2006;7(2):16-26.
- Gelbart SM, Thomason JL, Osypowski PJ, James JA, Hamilton PR. Comparison of diamonds medium modified and Kupferberg medium for detection Trichomonas vaginalis. J Clin Microbiol. 1989;27(5):1095-6.
- Poch F, Levin D, Levin S, Dan M. Modified thioglycolate medium: a simple and reliable means for detection of Trichomonas vaginalis. J Clin Microbiol. 1996;34(10):2630-1.
- Hersh SM. Pulmonary trichomoniasis and Trichomonas tenax. J Med Microbiol. 1985; 20(1):1-10.
- Martínez-Girón R, Esteban JG, Ribas A, Doganci L. Protozoa in respiratory pathology: a review. Eur Respir J. 2008 Nov;32(5):1354-70.
- Duboucher C, Mogenet M, Perié G. Salivary trichomoniasis. A case report of infestation of a submaxillary gland by Trichomonas tenax. Arch Pathol Lab Med. 1995 Mar;119(3):277-9.

Recibido: 02 de marzo de 2012

Aceptado para su publicación: 25 de junio de 2012