

Artículo original

Protozoarios en cavidad bucal de escolares de Ciudad Bolívar, estado Bolívar, Venezuela

Rodolfo Devera*, Ytalia Blanco, Iván Amaya, Mileidys Rojas, Marlin Torrealba

Grupo de Parasitosis Intestinales, Dpto. de Parasitología y Microbiología, Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad de Oriente, Núcleo Bolívar, Venezuela. 800-1 A.

Recibido 18 de septiembre de 2009; aceptado 7 de abril de 2010

Resumen: Se realizó un estudio con 105 muestras de biopelícula dental supragingival, procedentes de igual número de estudiantes de la Unidad Educativa Estatal Bolivariana “Blanca Sosa de Vargas” de Ciudad Bolívar, con el objetivo de determinar la prevalencia de *Entamoeba gingivalis* y *Trichomonas tenax*. Las muestras fueron analizadas mediante las técnicas de examen directo, examen del sedimento y coloración tricrómica. *Entamoeba gingivalis* fue el único protozoo diagnosticado en 32 de las muestras. No hubo diferencia en cuanto al género y la edad de los estudiantes infectados ($p>0,05$). El protozoo se diagnosticó en niños con y sin caries por lo que no hubo diferencias estadísticamente significativas. En conclusión, se determinó una prevalencia de *E. gingivalis* de 30,5% en muestras de biopelícula dental de la población estudiada.

Palabras clave: *Entamoeba gingivalis*, biopelícula dental, caries dental

Protozoa in the oral cavity of schoolchildren in Ciudad Bolivar, Bolivar State, Venezuela

Abstract: A study of 105 supragingival dental biofilm samples taken from the same number of students of the “Blanca Sosa de Vargas” Bolivarian State Educational Unit of Ciudad Bolívar was done with the purpose of determining the prevalence of *Entamoeba gingivalis* and *Trichomonas tenax*. The samples were analyzed through direct examination, sediment examination and trichrome staining techniques. *Entamoeba gingivalis* was the only protozoa diagnosed in 32 of the samples. There was no difference in relation to gender and age of the infected students ($p>0,05$). The protozoa were diagnosed in children with and without caries and there were no statistically significant differences. In conclusion, a 30.5% prevalence of *E. gingivalis* was determined in dental biofilm samples from the population studied.

Keywords: *Entamoeba gingivalis*, dental biofilm, dental caries

* Correspondencia:

E-mail: rodolfodevera@hotmail.com

Introducción

Existe una gran variedad de protozoarios intestinales con capacidad para producir enfermedades en el ser humano y la mayoría de ellos llega a su localización definitiva intestinal transitando por la cavidad bucal. Solamente dos de éstos, *Trichomonas tenax* y *Entamoeba gingivalis*, habitan en la boca de algunos individuos y se han adaptado a la ecología de esta cavidad. Sin embargo, su presencia se ha asociado en ocasiones, con diversas patologías periodontales [1]. En el caso de *E. gingivalis* puede asociarse con varias patologías bucales incluyendo caries dental, periodontopatías, pulpitis, gangrenas y estomatitis ulcero-necrótica [2]. Por otro lado, existen evidencias que asocian a *T. tenax* con procesos patológicos incluso fuera de la cavidad bucal, como es la trichomoniasis pulmonar [3-8].

Entamoeba gingivalis fue descubierta por Gros en 1849, siendo por tanto la primera amiba parásita de humanos en ser reconocida; sin embargo, fue Prowazek en 1904 quien realizó la primera descripción detallada de este microorganismo [9]. Pertenece al Reino Protista, Subreino Protozoa, Subphylum Sarcodina, Clase Rhizopoda, Orden Amoebida, Familia Endamoebidae. Sólo se ha encontrado en la forma vegetativa. El trofozoito mide de 10 a 20µm de longitud [10]. Posee vacuolas alimentarias en las cuales se ven fagocitados leucocitos y células epiteliales, bacterias y de manera excepcional glóbulos rojos. El núcleo es casi esférico y mide de 2 a 4µm de diámetro, provisto de una membrana revestida por gránulos de cromatina y un cariosoma central regular con fibrillas que se extienden hasta la membrana nuclear. Emite pseudópodos múltiples, algunos largos y lobulados, otros cortos y romos [11].

Trichomonas tenax fue descubierto en 1773 por Otto Friedlich Müller con el nombre de *Cercaria tenax*. En 1902, Prowazwek lo identifica en cavidad bucal y lo denomina *Trichomonas hominis*. Posteriormente, Goodey en 1917, lo nombra *Trichomonas buccalis*. Varios años después, luego de muchas discusiones entre los autores, el Comité Internacional de Nomenclatura lo denomina *Trichomonas tenax* [12]. Pertenece al Reino Protista, Subreino Protozoa, Phylum Sarcomastigophora, Subphylum Mastigophora, Clase Zoomastigophorea, Orden Trichomonadida, Familia Trichomonadidae. Es un flagelado piriforme al cual se le conoce sólo la fase de trofozoíto y mide de 4 a 16 µm de longitud. Presenta cuatro flagelos anteriores libres y un quinto flagelo que bordea la membrana ondulante y termina en la parte posterior del protozoario [10]. Posee 5 blefaroplastos de donde se originan los flagelos, un axostilo, un núcleo ovoide vesicular, un citostomo localizado cerca del polo anterior en el lado opuesto a la membrana ondulante y un citoplasma finamente granuloso [11].

Ambos protozoarios cumplen un ciclo de vida similar en la cavidad bucal, viven en el cálculo dentario, en el surco gingival en torno a los dientes, particularmente si existe supuración; pero también se desarrollan en bocas aparentemente higiénicas de sujetos sin lesión periodontal, en prótesis dentales y ocasionalmente en las amígdalas. Se transmiten de persona a persona por las gotitas de Flüggé, besos, uso común de vasos y demás utensilios contaminados [11,13,14].

Los trofozoítos de *E. gingivalis* pueden fagocitar eritrocitos y leucocitos lo cual indica que pueden afectar la ecología bucal y contribuir a la lesión gingival, pues podrían transportar activamente bacterias a la superficie celular o dentro de las vacuolas, cooperando con el progreso de la enfermedad periodontal. También elaboran una proteína proteolítica similar a una cisteinasa que aumenta la patogénesis de la periodontitis [15,16]. Por su parte *T. tenax*, aunque es considerado un flagelado comensal a juicio de algunos autores, requiere de una revisión de su patogenicidad, ya que hay evidencias de que sintetiza una fosfatasa ácida y una proteína de superficie semejante a la fibronectina que interviene en los mecanismos de adhesión y fagocitosis. Además se ha demostrado una importante actividad colagenolítica [17,18], la cual es mediada por la presencia de las cisteinasas, las cuales son responsables de hidrolizar distintos tipos de colágeno presentes en los tejidos periodontales [19-21]. En *T. tenax* también se ha demostrado actividad lítica sobre los glóbulos rojos de humanos, caballos, conejos y ovejas. Esto se debe a que este protozoario sintetiza dos tipos distintos de hemolisinas [21,22].

El método más común empleado en el diagnóstico de ambos protozoarios es el estudio de una muestra bucal fresca en solución salina para observar el movimiento característico de ambos parásitos [10].

En Venezuela, son pocos los trabajos que se han realizado sobre protozoarios bucales [4,23] y en el estado Bolívar no existe, hasta los momentos, ninguna investigación al

respecto. Además, la mayoría de los estudios realizados a nivel mundial han incluido personas adultas con alguna periodontopatía previa u otras enfermedades de base [5,24-27]. Debido a ello, se realizó un estudio en escolares matriculados en la Unidad Educativa Estatal Bolivariana “Blanca Sosa de Vargas” de Ciudad Bolívar, estado Bolívar, para determinar la prevalencia de *E. gingivalis* y *T. tenax* en la biopelícula dental y relacionar su presencia con caries dentales.

Materiales y métodos

Área de estudio: La Unidad Educativa Estatal Bolivariana (U.E.E.B.) “Blanca Sosa de Vargas” está ubicada en el sector Medina Angarita, en la zona central de Ciudad Bolívar, estado Bolívar. Se trata de una comunidad con condiciones socio-económicas media a bajas.

Universo y muestra: El universo estuvo representado por los 428 estudiantes matriculados en la U.E.E.B. “Blanca Sosa de Vargas” durante el período 2008-2009, distribuidos en educación inicial (4 secciones) y básica (2 secciones en cada grado). La muestra debía estar formada por al menos el 20% del universo. Para garantizar esto se seleccionaron de forma aleatoria siete niños de ambos géneros de cada grado y sección. Finalmente la muestra estuvo conformada por 105 niños (24,5%). La edad de los niños evaluados osciló entre 3 y 14 años. Las muestras fueron recolectadas en marzo de 2009.

Recolección de datos:

a. Datos de identificación. En primer lugar se informó de la importancia del estudio, se solicitó el aval y colaboración a las autoridades de la institución. Posteriormente se realizó la recolección de datos mediante una ficha de control después de obtener el consentimiento informado por escrito de cada uno de los padres o representantes de los participantes.

b. Toma de muestra. Previamente se dictó una charla sobre higiene bucal en la cual se les dieron las indicaciones respectivas a los estudiantes. Los niños seleccionados fueron citados y debían acudir a clases luego de realizada la limpieza bucal rutinaria. Para realizar la toma de la muestra, se seleccionaron los dientes posteriores superiores (cara vestibular) y los incisivos centrales (cara vestibular), por ser estas zonas donde hay mayor cantidad de biopelícula o placa dental supragingival localizada alrededor de los cuellos [23]. La toma se realizó empleando hisopos estériles, haciendo un barrido mecánico de las zonas antes mencionadas. Los hisopos con las muestras fueron colocados en tubos de ensayo con tapa de bakelita previamente rotulados que contenían 1 mL de solución salina estéril y llevados al laboratorio para su análisis.

Por razones éticas, se realizó el examen a todo niño y/o representante que lo solicitara aunque no hubiera sido seleccionado. Estos niños no fueron incluidos en el estudio.

c. Análisis de las muestras: Dentro de las 2 horas siguientes

a la toma de las muestras se procedió al análisis de las mismas. Para ello cada muestra se agitó vigorosamente y una vez retirado el hisopo se tomó una gota del líquido y se examinó entre lámina y laminilla (examen directo). El estudio se realizó con microscopio óptico compuesto empleando sucesivamente objetivos de 10X y 40X. El resto del líquido se centrifugó a 1500 rpm por 5 minutos, se descartó el sobrenadante y el sedimento se examinó microscópicamente con solución salina como en el caso del examen directo. Otra porción del sedimento se utilizó para realizar coloración tricrómica [10,23].

Análisis de datos: Con los resultados obtenidos se construyó una base de datos con la ayuda del programa SPSS versión 15.0 para Windows. Para el análisis correspondiente se utilizaron frecuencias relativas (%). También se usó la prueba Ji al cuadrado (χ^2) con un margen de seguridad de 95% para demostrar la independencia entre las variables estudiadas.

Resultados

Se evaluaron 105 muestras provenientes de igual número de estudiantes, lo que representó el 24,5% de la población matriculada en dicha institución. Un total de 57 muestras pertenecían a estudiantes del género femenino (54,3%) y 48 (45,7%) al masculino. El grupo de edad más frecuente fue el de 5-6 años con 29 escolares (27,6%), seguido del grupo de 9-10 años con 24 niños (22,9%) (Tabla 1). De estos 105 estudiantes, 27 pertenecían a educación inicial (25,7%) y el resto (74,3%) de primero a sexto grado. De todos los evaluados, 81 (77,1%) presentaron caries dental en diversos grados.

El único protozooario bucal diagnosticado fue *E. gingivalis* en 32 casos para una prevalencia de 30,5%. De ellos, 20

Tabla 1. Alumnos evaluados según edad y género, U.E.E.B. "Blanca Sosa de Vargas", Ciudad Bolívar, estado Bolívar, Venezuela. 2009.

Grupos de edades (años)	Género				Total	
	Femenino		Masculino		n	%
	n	%	n	%		
3-4	8	7,6	3	2,9	11	10,5
5-6	13	12,4	16	15,2	29	27,6
7-8	7	6,7	13	12,4	20	19,0
9-10	19	18,1	5	4,8	24	22,9
11-12	8	7,6	10	9,5	18	17,1
13-14	2	1,9	1	0,9	3	2,9
Total	57	54,3	48	45,7	105	100,0

casos se diagnosticaron en el examen directo (19%), 15 en el sedimento (14,3%) y 10 en la coloración tricrómica (9,5%).

Ambos géneros fueron afectados por igual ($p>0,05$); de 57 niñas, 18 (31,6%) tenían al protozooario y de los 48 niños 14 (29,2%) eran portadores del microorganismo. En todos los grupos de edad se diagnosticaron casos por lo que no hubo diferencias estadísticamente significativas ($p>0,05$)

(Tabla 2).

Con relación a la caries dental, de los 81 que la padecían, 25 portaban al protozooario en sus cavidades bucales

Tabla 2. Alumnos con *Entamoeba gingivalis* según edad, U.E.E.B. "Blanca Sosa de Vargas", Ciudad Bolívar, estado Bolívar, Venezuela. 2009.

Grupos de edades (Años)	Alumnos				Total	
	Con <i>E. gingivalis</i>		Sin <i>E. gingivalis</i>		n	%
	n	%	n	%		
3-4	3	2,9	8	7,6	11	10,5
5-6	10	9,5	19	18,1	29	27,6
7-8	3	2,9	17	16,2	20	19,0
9-10	8	7,6	16	15,2	24	22,9
11-12	7	6,7	11	10,5	18	17,1
13-14	1	0,9	2	1,9	3	2,9
Total	32	30,5	73	69,5	105	100,0

(23,8%), mientras que de los 24 alumnos sin caries, sólo 7 lo presentaban (6,7%). La prevalencia de *E. gingivalis* aunque fue mayor en términos absolutos en el grupo con caries dental, no fue estadísticamente significativa comparada con el grupo sin caries ($p>0,05$) (Tabla 3).

Tabla 3. Alumnos con y sin *E. gingivalis* según presencia de caries dental, U.E.E.B. "Blanca Sosa de Vargas", Ciudad Bolívar, estado Bolívar, 2009.

Caries Dental	Alumnos				Total	
	Con <i>E. gingivalis</i>		Sin <i>E. gingivalis</i>		n	%
	n	%	n	%		
Sí	25	23,8	56	53,3	81	77,1
No	7	6,7	17	16,2	24	22,9
Total	32	30,5	73	69,5	105	100,0

Discusión

En marzo de 2009 se realizó un estudio en estudiantes inscritos en la U.E.E.B. "Blanca Sosa de Vargas" de Ciudad Bolívar, para determinar la prevalencia de protozoarios bucales en la biopelícula dental. Solamente fue detectado el protozooario *E. gingivalis* en las muestras evaluadas. Los pocos estudios disponibles señalan que esta amiba es el protozooario bucal más común en escolares [28]. La prevalencia de *E. gingivalis* aquí encontrada es similar a la señalada en Guatemala [29] así como en otro estudio realizado en nuestro país [23]. Se trata de una prevalencia relativamente alta, aunque prevalencias mayores han sido encontradas en adultos y/o en pacientes con problemas periodontales, metabólicos y de inmunosupresión tanto en Venezuela como en otros países [2,4,5,25-27,30,31].

Sosa *et al.* [23] investigaron la presencia de *T. tenax* en biopelícula dental de escolares y no lograron diagnosticar ningún caso, resultados que coinciden con el presente estudio. En personas adultas, con algún factor predisponente bucal o general, *T. tenax* si ha sido encontrada incluso con valores superiores al 30% [4]. Este protozooario suele ser más común en pacientes con cálculo dental, respiradores bucales o que presenten hipertrofia de las papilas de la lengua, así

como otras patologías periodontales e incluso pulmonares [5,8,32-35]. El hecho de tratarse de niños, donde estas afecciones son menos comunes, justifican la ausencia del flagelado en la muestra estudiada.

Con relación al género y a la edad, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los escolares con *E. gingivalis*, lo cual coincide con otro estudio realizado en escolares de Venezuela [23].

De la población evaluada, 77,1% presentó caries dental. En Venezuela, la caries representa un problema de salud pública y la población más vulnerable tiende a ser la infantil debido, fundamentalmente, a la falta de educación sanitaria de estos grupos, ausencia de políticas o programas establecidos en las aulas y la falta de preocupación por parte de los representantes con respecto a la atención odontológica de sus hijos. Tanto *T. tenax* como *E. gingivalis* son más comunes en personas con caries que en aquellas que están libres de ella [23]. Sin embargo, en el presente estudio, aunque se observó un mayor número de casos en el grupo con caries también se diagnosticaron casos en el grupo que no presentó la afección. Se requiere evaluar un mayor número de casos para verificar si la presencia del protozoario es un factor de riesgo para padecer de caries dental.

Además de la caries dental, no se evaluaron otras manifestaciones clínicas en el grupo afectado. Cabe resaltar que se trata de una muestra pequeña, por lo que este estudio pudiera ser el punto de partida para futuras investigaciones donde no sólo se evalúe la epidemiología sino la clínica de los portadores de estas dos especies, y de esta forma llegar a determinar la relevancia clínica de estos dos protozoarios en niños en edad escolar.

Conclusiones

El único protozoario bucal diagnosticado en muestras de biopelícula dental de escolares de la U.E.E.B “Blanca Sosa de Vargas” de Ciudad Bolívar, estado Bolívar, fue *E. gingivalis* con una prevalencia relativamente alta de 30,5%. Se diagnosticó un mayor número de casos de *E. gingivalis* en los niños con caries dental, sin embargo, la diferencia no fue estadísticamente significativa cuando se compararon con los casos encontrados en el grupo sin caries.

Agradecimientos

A los odontólogos Alfonso Rodríguez y Minerva Ruíz, por su asesoría. A los docentes y estudiantes de la Unidad Educativa Estatal Bolivariana “Blanca Sosa de Vargas” por la colaboración prestada durante la elaboración de este trabajo. A Aidlewise L. Jugeshuarsingh por la traducción del resumen.

Referencias

- Menéndez B. Principales parásitos de la cavidad bucal. *Odont Moder.* 2005; 2:11-5.
- Nocito-Mendoza I, Vasconi-Correas M, Ponce P, Zdero M. *Entamoeba gingivalis* y *Trichomonas tenax* en pacientes diabéticos. *RCOE.* 2003; 8:19-23.
- Pardi G, Perrone M, Mazzali R. *Trichomonas tenax*: Protozoario flagelado de la cavidad bucal. Consideraciones generales. *Acta Odontol Venezol.* 2002; 40:1-10.
- Pardi G, Perrone M, Mazzali R. Incidencia de *Trichomonas tenax* en pacientes con Periodontitis Marginal Crónica. *Acta Odontol Venezol.* 2002; 40:26-32.
- Porcheret H, Maisonneuve L, Jagot L, Pennec M. Trichomoniasis pleural debido a *Trichomonas tenax*. *Rev Mal Respir.* 2002; 19:97-9.
- Mallat H, Podglajen I, Lavarde V, Mainardi JL, Frappier J, Cornet M. Molecular characterization of *Trichomonas tenax* causing pulmonary infection. *J Clin Microbiol.* 2004; 42:3886-7.
- Kutisova K, Kulda J, Cepicka I, Flegr J, Koudela B, Teras J. Tetratrichomonads from the oral cavity and respiratory tract of humans. *Parasitology.* 2005; 131:1-11.
- Wang H, Jerng J, Su K, Chang S, Yang P. Case report: *Trichomonas empyema* with respiratory failure. *Am J Trop Med Hyg.* 2006; 75:1234-6.
- Craig F. *Parasitología Clínica.* Barcelona: Edit. Salvat, S.A.; 1976.
- Botero D, Restrepo M, editores. *Parasitosis Humanas.* 4^a ed. Medellín: Edit. Corporación para Investigaciones Biológicas; 2003
- Beaver P, Clifton R, Wayne E, editores. *Parasitología Clínica.* 3^a ed. México: Edit. Masson Doyma; 1990.
- Dobell C. The common flagellate of the mouth *Trichomonas tenax* (O.F.M): its discovery and its nomenclature. *Parasitology.* 1939; 31:148-56.
- Vrablic J, Tomova S, Catar G. Occurrence of the protozoa *Entamoeba gingivalis* and *Trichomonas tenax* in the mouths of children and adolescents with hyperplastic gingivitis caused by phenytoin. *Bratislav Listy.* 1992; 93:136-40.
- Zdero M, Ponce de Leon P, Vasconi MD, Nocito I. Parásitos bucales: hallazgos de *Entamoeba gingivalis* y *Trichomonas tenax*. *Acta Bioq Clín Latinoamer.* 1996; 30:23-7.
- Feki A, Molet B. Importance des protozoaires *Trichomonas tenax* et *Entamoeba gingivalis* dans la cavité buccale humaine. *Rev Odontol Stomatologie.* 1990; 19:37-45.
- El Hayawan IA, Bayoumy MM. The prevalence of *Entamoeba gingivalis* and *Trichomonas tenax* in periodontal disease. *J Egypt Soc Parasitol.* 1992; 22:101-5.
- Bouisson, P. Contribution a l'étude enzymatique de *Trichomonas tenax*. Mise en évidence de la phosphatase acida. *Recherche de l'activité collagénolytique.* *Therap Chirurg Dent Lyon* 1979; 42: 97-9.
- Ribaux CL, Magliore H, Joffre A, Herbage D. Collagenolytic activity of Oral Flagellate *Trichomonas tenax*: an ultrastructural study. *J Dent Res.* 1980; 59:1868.
- Bozner P, Demes P. Degradation of collagen types I, III, IV and V by extracellular proteinases of an oral flagellate *Trichomonas tenax*. *Arch Oral Biol.* 1991; 36:765-70.
- Segovic S, Buntak-Kobler D, Galic N, Katunarić M. *Trichomonas tenax* proteolytic activity. *Coll Antropol.* 1998; 22 (Suppl):45-9.
- Yamamoto A, Asaga E, Nagao E, Igarashi T, Goto N. Characterization of the cathepsin B-like proteinases of *Trichomonas tenax* ATCC 30207. *Oral Microbiol Immunol.* 2000; 15:360-4.

22. Nagao E, Yamamoto A, Igarashi T, Goto N, Isasa R. Two distinct hemolysins in *Trichomonas tenax* ATTC 30207. Oral Microbiol Immunol. 2000; 15:355-9.
23. Sosa L, Gonzáles M., Naranjo B, Navas I, Quintana B. Levantamiento epidemiológico bucal en escolares de 1º y 2º etapa. Tesis de Grado. Hospital Victorino Santaella Ruiz. Universidad Central de Venezuela; 2003.
24. Cechova L, Leifertova I, Lisa M. The incidence of *Entamoeba gingivalis* in the oral cavity. Acta Univ Carol. 1987; 33: 549-59.
25. El Azzouni M, Badry A. Frequency of *Entamoeba gingivalis* among periodontal and patients under chemotherapy. J Egypt Soc Parasitol. 1994; 24:649-55.
26. Chomicz L, Piekarczyk J, Fiedor P, Starosciak BJ, Szubinska D, Wojtowicz A. Screening evaluation of oral cavity microorganisms in dialyzed and kidney allograft recipients under chronic immunosuppression. Transplant Proc. 2002; 34:675-6.
27. Piekarczyk J, Fiedor P, Chomicz L, Szubinska D, Starosciak B, Piekarczyk B, et al. Oral cavity as a potential source of infections in recipients with diabetes mellitus. Transplant Proc. 2003; 35:2207-8.
28. De Carneri. Frequenza delle infezioni de *E. gingivalis* e *T. tenax* in un campioni della polazione attiva di Milano. Parassitologia. 1961; 3:151-4.
29. Pomes C, Bretz W, Leon A, Aguirre R, Milian E, Chavez E. Risk indicators for periodontal disease in Guatemalan adolescents. Braz Dent J. 2000; 11:49-57.
30. Sefer M, Boanchis AI, Chaouki SH, Ganescu V, Constantin P. Periodontal diseases with *Entamoeba gingivalis*. Rev Chir Oncol Radiol. 1989; 36:279-85.
31. Lucht E, Evengard B, Skott J, Pehrson P, Nord C. *Entamoeba gingivalis* in human immunodeficiency virus type I-infected patients with periodontal disease. Clin Infect Dis. 1997; 27:471-3.
32. Hersh S. Pulmonary trichomoniasis and *Trichomonas tenax*. J Med Microbiol. 1985; 20:1-10.
33. Shiota T, Arizona N, Morimoto T, Shimatsu A, Nakao K. *Trichomonas tenax* empyema in an immunocompromised patient with advanced cancer. Parasite. 1998; 5:375-7.
34. Jongwutiwes S, Silachamroon A, Putaporntip C. *Pentatrachomonas hominis* in empyema thoracis. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2000; 94:185-6.
35. Lewis KL, Doherty D, Ribes J. Empyema caused by *Trichomonas*. Chest. 2003; 123:291-2.