



*Entamoeba gingivalis* :  
un pathogène  
dans les parodontites

# Entamoeba gingivalis : un pathogène dans les parodontites

par Mark Bonner

Docteur en médecine dentaire

La présence d'*Entamoeba gingivalis* dans les lésions parodontales des infections gingivales chez l'humain a été commentée à maintes reprises par de nombreux auteurs depuis plus d'un siècle. Sans faire l'unanimité sur ses capacités pathogènes ou son aspect commensal, la majorité des auteurs ont remarqué sa présence constante dans les parodontites à caractère pyogène. Après plus de 15 années d'observation de cette amibe, nous avons proposé son élimination comme but de la thérapie chez 20 nouveaux patients se présentant à notre cabinet pour des soins parodontaux. Les traitements pharmaceutiques locaux, systémiques et préventifs équivalents à d'autres infections parasitaires du même type ont été mis en œuvre afin d'éliminer ce parasite. Les résultats cliniques et microbiologiques après l'élimination de la flore pathogène et subséquemment l'ablation du tartre résiduel sont clairs : ► disparition des saignements ► arrêt du processus inflammatoire ► fermeture des poches ► retour à une flore microbienne typique de la santé. Toutes les activités rencontrées chez l'amibe lui donnent un caractère essentiellement pathogène : adhésion aux cellules, inactivation et phagocytose des neutrophiles, reproduction en masse et motilité. Son élimination complète, à l'aide du suivi microscopique, amène une guérison rapide des parodontites chroniques et agressives. *E. gingivalis* agit comme un pathogène envahissant et devrait être considéré comme tel.

## Historique

Les connaissances sur les organismes parasites et leur relation avec les maladies humaines sont beaucoup moins connues que celles des bactéries. Les auteurs du début du siècle (10) relatent les énoncés suivants : Gross a été le premier à attirer notre attention sur l'amibe de la bouche humaine et lui a donné le nom de *Amoeba gingivalis* ; Grassi, en 1879, note qu'il trouve l'amibe *Amoeba dentalis* dans l'inflammation gingivale et qu'elle ressemble à *Amoeba Coli* de l'intestin humain ; Barret, en 1914,

## MOTS CLÉS

- Entamoeba gingivalis
- Amibe
- Parodontite
- Neutrophile
- Pathogène
- Microscope

annonce plus spécifiquement qu'il trouve *Entamoeba gingivalis* dans presque tous les cas de pyorrhée alvéolaire qu'il a examinés. Il avance l'hypothèse que sa présence est d'une importance significative dans cette maladie. Chiavaro, la même année, publie que dans 100 % de 22 cas de pyorrhée classique accompagnée de production de pus macroscopique, le parasite est trouvé sans exception. Toujours la même année, Bass et Johns rapportent la présence d'*Entamoeba gingivalis* dans 86 cas de pyorrhée et leur absence chez de nombreux individus normaux. Les résultats bénéfiques, à la suite de l'administration d'émétine hydrochloride, les mènent à assigner un rôle pathologique à cet organisme. L'année suivante, ils étendent leur étude et confirment ces observations sur 300 cas. Dans leur travail, ils affirment continuellement que les parasites vivent à l'intérieur et aux dépens du tissu gingival et de l'os alvéolaire. Ils rapportent aussi que l'amibe est retrouvée en plus grande quantité à l'extrémité la plus profonde de la poche alvéolaire.

La présence d'*Entamoeba histolytica* ayant été rapportée en 1924 par Kofoid et Sivezy dans la moelle osseuse de malades atteints de cas d'arthrite déformante, il est apparu que la bouche représentait une source possible d'amibes parasites. Quelques années plus tard, dans une étude intitulée "Les animaux parasites de la bouche et leur relation avec les maladies dentaires", Kofoid et collaborateurs présentent la morphologie détaillée d'*E. gingivalis* dans son état vivant : le protoplasme est d'apparence verdâtre, cirreuse et réfractile. Lorsqu'elle est en forme arrondie, l'ectoplasme n'est pas différent de l'endoplasme et, pendant la locomotion active, dans la forme trophozoïte, la distinction entre ces couches est claire, l'ectoplasme étant remarquablement hyalin. Dans leurs spécimens fixés, l'endoplasme contient des vacuoles de nourriture leucocytiques intensément colorées.

Du fait de cet appétit vorace, peut-on considérer cette amibe comme un animal commensal dans son habitat naturel ? En cette matière, tous les stades de l'ingestion des leucocytes vivants normaux par les

amibes sont démontrés (4). Le cytoplasme est visualisé, transpercé et le noyau des leucocytes liquéfié en tant qu'aliment. En pleine activité *in situ*, elles sont habituellement remplies de leucocytes plutôt que de bactéries ou de globules rouges. L'amibe est chimiotactile pour les leucocytes et les érythrocytes, ingérant les deux en culture et *in vivo*. Tout ceci rend l'amibe possiblement pyogène. Kofoid mentionne que selon Hinshaw et Sinonton, l'amibe n'est jamais présente en l'absence de l'exsudat leucocytaire, cependant que plusieurs espèces de bactéries sont retrouvées dans les gencives qui ne sont pas inflammées. L'hémolyse extracellulaire *in vitro* de cellules rouges sanguines humaines a été observée tout près de l'amibe (8, 9). Tout cela suggère un pouvoir enzymatique intracellulaire et extracellulaire capable d'attaquer les cellules des tissus humains. *E. gingivalis* est facilement transmis par des gouttelettes d'infection et une partie infime de salive portant cet organisme peut être infectieuse (11). Il devient alors possible de transmettre cet organisme depuis le partage d'ustensiles et de produits cosmétiques aussi bien que par contact direct. Dans le même ordre d'idée, Kofoid cite Hinshaw et Sinonton qui concluent en affirmant que l'amibe n'a jamais été trouvée dans une bouche strictement normale et est invariablement trouvée dans une parodontite typique de ses tous débuts jusqu'à sa fin. L'existence et l'approfondissement de la poche gingivale accompagnent invariablement ce type d'inflammation. Ceux-ci ajoutent aussi que le pus microscopique peut toujours être démontré même lorsque celui-ci n'est pas observable macroscopiquement et que le rougissement gingival est minime. Une stase veineuse pourpre caractérise les cas plus avancés. Peu de signification peut être associée à la présence et à l'absence de calcul sous-gingival parce que la plupart de leurs patients les ont fait enlever à intervalles réguliers. Les débris abondants semblent aussi inhiber la croissance de l'amibe dans la bouche. L'amibe ne tolère pas l'association avec les bactéries des débris carieux et ne doit pas être prise pour un organisme nécrophage ou impliqué dans la carie. De plus, les patients qui prennent soin de leur bouche semblent tout aussi susceptibles de présenter l'infection amibienne. Augmentant avec l'âge, l'incidence de l'infection amibienne progresse rapidement jusqu'à ce qu'au-delà de 40 ans, l'incidence soit de 75 % ou plus.

Des centaines d'amibes en amas ont été trouvées parmi les bandes calcifiées terminales de bactéries filamenteuses et de leptotrices formant le tartre. Les amibes s'étendent dans la profondeur extrême de la poche paro-

## MÉMO

La présence de l'amibe *Entamoeba gingivalis* dans les parodontites a été mise en évidence par de nombreux auteurs. Son élimination entraîne la guérison des tissus parodontaux.

dentale et sont plus nombreuses dans les portions profondes conjointes aux dépôts de tartre. Chez les chiens inoculés avec du matériel de culture contenant *E. gingivalis*, l'infection se produisait seulement chez les animaux démontrant des signes d'inflammation gingivale (7). Les chiens ayant une bouche en excellente condition n'étaient pas infectés. Dans le même ordre d'idée, selon Hinshaw, 90% des cas de pyorrhée alvéolaire de la prison de San Quentin démontrent étonnamment l'infection généralisée des prisonniers par *Trichomonas tenax*. Les conditions de vie rapprochées, la multiplicité des contacts et une diète déficiente seraient les responsables. L'âge devient aussi un facteur prédisposant important dans ce type d'infection. Peu de cas de trichomoniasis par contre sont retrouvés dans les études confinées à des étudiants des milieux universitaires. Kofoid conclut qu'une corrélation définitive existe entre les protozoaires de la bouche et les parodontites.

Il devient clair que, pour les auteurs des années 1913 à 1930, toutes ces investigations démontrent une corrélation entre *E. gingivalis* et la maladie parodontale destructrice. Il faut attendre les années 1980 pour qu'un chirurgien-dentiste canadien (13, 14, 15, 16), suite à l'observation microscopique du biofilm creviculaire de sa clientèle pendant plus de 10 ans, remarque l'évidence de l'invasion du sillon parodontal par *E. gingivalis*. Son mode de diagnostic et de traitement est basé sur l'approche médicale diagnostique et thérapeutique du parasite intestinal *E. histolytica*. À l'aide d'une caméra fixée au microscope à contraste de phase, le patient a l'opportunité d'observer les microorganismes associés à la pathologie. Cette approche stimulante permet une participation optimale dans le traitement prescrit. L'utilisation de la salive sublinguale comme médium de montage plutôt que le sérum physiologique ou l'eau du robinet permet une meilleure conservation de l'amibe, reproduisant l'environnement particulier de l'hôte porteur. Ce clinicien rapporte aussi que les parasites oraux sont trouvés dans tous les cas de parodontites et qu'une amélioration clinique notable est invariablement obtenue par leur élimination. Puisque les amibes, lorsqu'elles sont présentes, sont trouvées de façon constante à la base de la poche infectée, les échantillons sont collectés essentiellement dans ces endroits spécifiques. Les parasites oraux sont trouvés seulement dans les sites malades. Il en conclut que,

malgré la possibilité que *E. gingivalis* ne soit pas pathogène, le poids de l'évidence démontre qu'il s'agit là d'un pathogène agressif. Il apparaît donc, selon lui, que la vaste majorité des patients touchés par la maladie parodontale sont infectés par les parasites oraux et que l'élimination des protozoaires est suivie par l'arrêt de la maladie et sa résolution. L'infection bactérienne demande un traitement topique, tandis que l'infection parasitaire accompagnée de destruction de l'os alvéolaire, requiert un suivi à long terme topique et systémique à base de métronidazole pour enrayer définitivement l'infection.

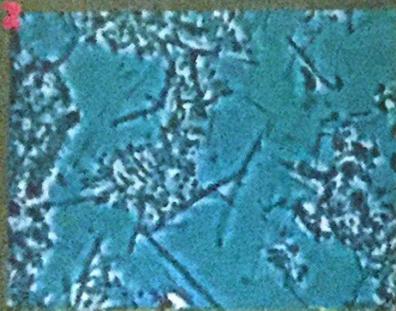
**E**ependant, certains auteurs (20) relatent que *E. gingivalis* est un habitant commensal de la cavité buccale. Par contre ils stipulent qu'environ 10% des gens en bonne santé buccale sont porteurs, contre 90% chez les sujets atteints de parodontite. De la même façon, ils dénotent que *Trichomonas tenax* est un organisme associé aux maladies parodontales et que sa

présence indique une hygiène insuffisante. La question que nous posons demeure donc : **lorsque l'hygiène est améliorée et parfaitement adéquate, le patient peut-il se débarrasser de ces protozoaires ?**

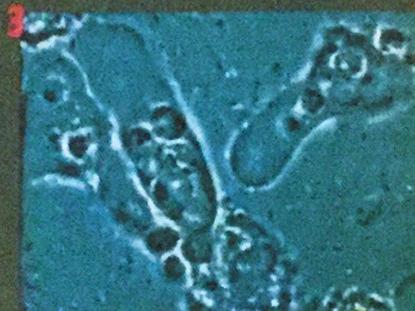
L'expérience clinique de Bonner (2, 3) semble démontrer le contraire. Bien que des facteurs locaux puissent augmenter les signes de parodontite, l'âge est un facteur déterminant. Les risques de parodontites (6) sont augmentés par 1,72 dans la tranche de 35-44 ans ; de 9,01 entre 65-74 ans ; le diabète multiplie les risques par 2,32 ; fumeur léger : 2,05 ; gros fumeur : 4,75 ; présence de porphyromonas : 1,59 ; bacteroides : 2,45. Pourtant la présence de l'amibe est, elle, constante. Dans une étude (12) conduite chez 10 patients atteints de parodontite avancée, tous les sujets arborent *E. gingivalis*. Ces derniers recommandent de prendre plusieurs sites chez le même patient afin d'éviter les faux négatifs. Leur conclusion est que les données rapportées en général dans la littérature sur l'incidence de *E. gingivalis* après un seul échantillon par patient est beaucoup trop basse et doit être ainsi interprétée avec précaution. *E. gingivalis* est présent dans 65,4% des sujets de 30 à 34 ans (5). Ceux-ci notent que la prévalence du protozoaire est



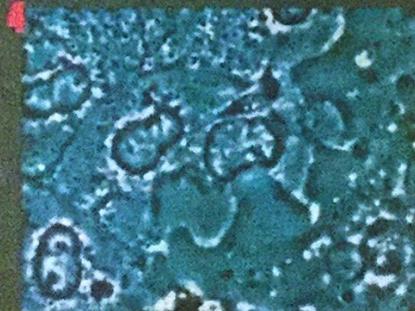
**1** Amibe typique entourée de polymorphocytaires neutrophiles, bacilles et spirillies. *Entamoeba gingivalis* se distingue par son noyau arrondi au centre, le karyosome et la chromatine du noyau. Un pseudopode est bien formé sur la gauche et des pseudopodes accessoires au pourtour du cytoplasme. De nombreuses vacuoles semblent rappeler l'ingestion récente de bactéries. Notez le chemin parcouru laissé par l'espace vide supérieur gauche. Une formation semblable plus petite au dessus, rappelle l'amibe de type minuta, un précurseur de *E. histolytica*.



**2** Flore normale chez un patient en bonne santé parodontale. Bactéries non motiles de forme coccide, accompagnées de filaments de diverses longueurs. Sur la gauche un filament entouré de cocci rappelle *Corynebacterium matruchoti*. Notez l'absence de cellules inflammatoires.



**3** Trois amibes d'allure plutôt vivace, accompagnées de spirochètes, convergent vers une cellule granulocyte. Les vacuoles digestives sont de bonnes dimensions et bien visibles.



**4** *Entamoeba gingivalis* en contact intime avec trois cellules granulocytes sanguines, indiquent une forte adhésion. On distingue la disparition des granules dans le cytoplasme de la cellule centrale, rappelant un effet de l'attaque amibienne et premier signe d'une lyse cellulaire.

beaucoup plus importante en cas de parodontolyse destructrice que chez les sujets apparemment indemnes. Ils en concluent qu'il existe une corrélation entre l'atteinte des tissus parodontaux et l'infestation par des protozoaires buccaux. Comme d'autres amibes, elles possèdent une protéine de surface apparentée à la fibronectine.

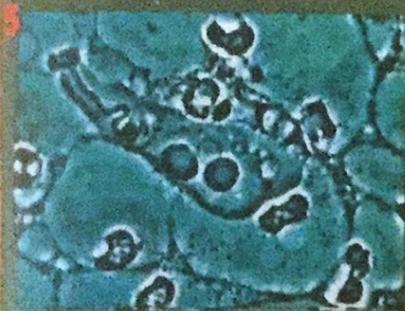
Celle-ci intervient dans les mécanismes d'adhésion et de phagocytose, ce qui l'impliquerait dans les premières phases de destruction des tissus parodontaux. Pire encore, diverses formes d'amibes se retrouvent couramment dans la tubulure des unités dentaires (1) et certains de ces protozoaires pourraient être pathogènes.

### Méthode et résultats

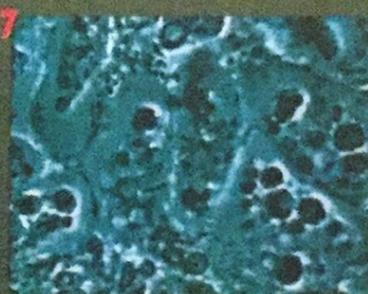
**En tant que clinicien, il va de soi que notre rôle est de parvenir à restaurer une flore saine à l'intérieur du sillon parodontal.** Nous avons donc procédé pendant plus de 15 années, à l'instar des recommandations de Lyons, à l'observation des frottis de plaque dentaire tirés à l'état frais des sillons parodontaux. L'observation au microscope à contraste de phase permet rapidement de constater que **tous les patients présentant l'amibe *E. gingivalis* sem-**

**blent être affectés à un degré minimal de maladie parodontale** (fig. 1). Les patients en parfaite santé parodontale exempts de saignement gingival ne présentent pas de parasites mais essentiellement des bactéries de formes coccoïdes et filamenteuses peu mobiles (fig. 2). Les capacités de motilité de cette amibe sont importantes (fig. 3).

L'adhésion (fig. 4) et la phagocytose (fig. 5), deux facteurs importants vis-à-vis du concept de pathogénicité, sont facilement observables. Leur dénombrement important (fig. 6) et les nidifications intra-sulculaires (fig. 7) sont aussi évocateurs. La thérapie utilisée vise essentiellement à éliminer l'amibiase parodontale. Nous avons donc procédé à des contrôles mensuels en traitant par thérapie locale à l'aide d'eau hydrogénée et de poudre salée de bicarbonate de soude en guise de dentifrice, puis utilisé une crème de métronidazole 10% en application topique pour une période de quelques mois, et enfin complété en dernier ressort par le métronidazole systémique afin d'éliminer définitivement l'amibiase. Invariablement, les signes



**5** Début de la phagocytose du noyau du leucocyte polymorphonucléaire neutrophile par une amibe dans un cas de parodontite de grosseur. Notez la formation intracytoplasmique plus dense rappelant faussement l'aspect d'un érythrocyte alors qu'il s'agit bien du noyau du granulocyte qui est ingéré. Deux autres vacuoles de noyaux déjà phagocytés sont aussi visibles.



**6a** Présence nombreuses d'amibes sous une magnification de 100x sur un champ à fond noir. Les portions plus foncées démontrent l'aspect des pseudopodes alors que la partie plus pâle concentre la portion digestive et vacuolaire.

**6b** Amibes sur le même frottis sous une magnification de 1000x

**7** Amas de parasites dans un cas de parodontite à progression rapide suggérant une nidification importante d'*E. gingivalis*. Huit amibes baignent sur un fond de neutrophiles.

cliniques de guérison apparaissent et la flore infectieuse s'estompe pour laisser place à une flore normale exempte de neutrophiles et de parasites. Une fois celle-ci éliminée et les saignements disparus, la rétraction de la gencive s'effectue rapidement, puis le tartre résiduel facilement observable cliniquement est aisément éliminé (fig. 8). Nous avons obtenu (tableau I) chez un groupe de 20 nouveaux patients atteint de parodontite avancée et agressive ayant accompli cette thérapie progressive, l'élimination de 95% des poches parodontales excédant 3 mm après la première année (tableau II). La perte des saignements et l'élimination de l'halitose, mesurée à l'appareil Interscan modèle RH17E, sont obtenues aisément dans tous les cas. La flore initiale composée de parasites, neutrophiles, spirochètes et bactéries motiles est remplacée par une flore exempte de globules blancs, à base de bactéries coccoïdes et filamenteuses immobiles comme dans tous les cas de santé parodontale. La guérison est stable dans le temps et les facteurs de réinfection sont contrôlés dans la thérapie : conjoints, famille proche, animaux de compagnie, vecteurs de transmission, à l'instar de toute évaluation parasitaire de même nature.

### Discussion

En terme épidémiologique, il ne fait pas de doute que la parasitologie est évidente et entièrement corrélée à la maladie parodontale osseuse destructrice. Elle fait figure de maladie familiale par contact plutôt que de provenance génétique. Elle est un facteur plus évident que toutes les données actuelles infectieuses d'agression bactérienne. En terme d'étiologie, *E. gingivalis* possède toutes les caractéristiques d'un pathogène agressif : appel des neutrophiles, phagocytose des érythrocytes et des noyaux des neutrophiles. Elle explique même l'altération de fonction des polynucléaires neutrophiles en procédant à l'adhésion puis à l'arrêt de fonction par l'engourdissement des granules à l'intérieur des leucocytes préalable à leur phagocytose. En terme clinique, l'élimination des parasites buccaux résulte en une guérison quasi instantanée. La maladie apparentée la plus proche est sans doute l'amibiase intestinale, pour laquelle *E. histolytica*, de forme très semblable, est reconnu comme un pathogène agressif à partir de ses propriétés d'adhésion aux cellules cibles et de ses capacités de phagocytose. Les facteurs de pathogénicité (17, 18, 19) sont les suivants ► adhésion ► phagocytose ► exportation de substances toxiques par exocytose ► phénomène de capping vers l'uropode ► évitement des mécanismes de défense. Cependant, *Entamoeba dispar*,



**8a** Parodontite typique avec présence d'inflammation gingivale, saignement et tartre supra et sous-gingival.

**8b** Après les premiers mois de thérapie locale, la gencive présente parfois une apparence irritée suite à l'utilisation des désinfectants locaux, malgré la diminution de l'inflammation.

**8c** Amélioration de l'apparence gingivale au stade de la lithotritie une fois l'amibiase contrôlée.

**8d** Aspect typique de la guérison au premier contrôle, trois mois suivant la thérapie et la fermeture des poches parodontales.

présente dans 90% des cas de cette maladie, causerait peu de problèmes et posséderait des caractères génétiques moins pathogènes, laissant les porteurs relativement asymptomatiques. Cette observation est justifiée en regard des formes agressives versus chroniques des parodontites que nous rencontrons.

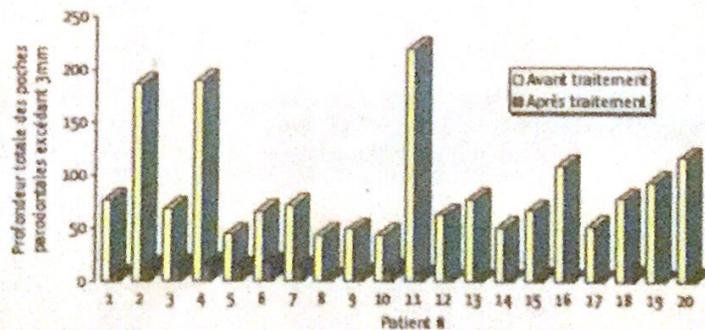
La maladie parodontale occupe toujours l'attention des chercheurs médicaux et dentaires. Bien que les facteurs



TAB I Présence de l'amibe, halitose, neutrophiles, saignement gingival et motilité bactérienne, avant et après traitement, chez 20 nouveaux patients atteints de parodontite chronique et agressive.

Patient #	Amibe Avant	Amibe Après	Haléine Avant	Haléine Après	LPN Avant	LPN Après	Saigne Avant	Saigne Après	Motilité Avant	Motilité Après
1	+++	0	+	0	+++	0	+++	0	++	0
2	+++	0	0	0	+	0	+	0	+++	0
3	+++	0	+	0	++	0	+	0	+++	0
4	+	0	+	0	+++	0	+	0	+	0
5	+	0	+	0	+++	0	+	0	+++	+
6	++	0	0	0	+++	0	+++	0	++	0
7	+++	0	0	0	+++	0	+++	0	+++	0
8	+++	0	+++	0	++	++	+++	0	+++	0
9	++	0	0	0	+++	0	+++	0	++	+
10	+++	0	0	0	+++	0	+++	0	++	0
11	0	0	+	0	+++	0	+	0	+	0
12	+++	0	0	0	+++	0	+++	0	+	0
13	+++	0	0	0	+++	0	+++	0	++	0
14	+++	0	0	0	+++	0	+	0	++	0
15	+++	0	+++	0	+++	0	+	0	+++	0
16	+++	0	0	0	+++	0	+++	0	+++	0
17	+++	0	+	0	++	+	++	0	++	0
18	+++	0	+++	0	+++	0	+++	0	+++	0
19	++	0	+	0	++	0	+	0	++	0
20	+++	0	+	0	+++	+	+	0	++	0

TAB II Valeur totale des profondeurs parodontales en 6 points excédant 3 millimètres pour toutes les dents chez les mêmes 20 patients avant et après la thérapie.



locaux, les facteurs systémiques, les habitudes comme celles du fumeur, aient été impliqués dans le processus de la maladie parodontale, le succès global dans les thérapies parodontales a souvent été décevant. Aujourd'hui encore, la modalité prédominante de traitement est encore mécanique et encourage l'ablation d'une partie des tissus oraux. Le résultat initial apparaît favorable, cependant, la déception est souvent inévitable.

**Le dénominateur le plus commun dans toutes les parodontites chroniques et agressives demeure sans conteste la présence des parasites buccaux.** Leur élimination scrupuleuse et complète amène une guérison rapide et indolore, fiable dans le temps et permet de compléter la lithotritie résiduelle avec aisance. Le réattachement du ligament parodontal se fait à la façon de toute guérison semblable du corps humain. La dernière ligne conductrice de la guérison parodontale demeure la prévention de la réinfection en éliminant les vecteurs de transport incluant les habitudes orales et l'entourage familial.

*E. gingivalis*, responsable il faut le dire de l'amibiase parodontale, possède une forte motilité, des capacités de phagocytose et des caractéristiques typiques pathogènes. Cette amibe est associée à la destruction osseuse des maxillaires. Sa présence est une constante dans les maladies parodontales et a été pratiquement oubliée par la profession dentaire depuis plus d'un siècle. Son élimination assure une guérison rapide et facile de la parodontite chronique et agressive. De nombreux aspects cliniques et biomoléculaires similaires à *E. histolytica* et *E. dispar* responsables de l'amibiase intestinale doivent mériter l'attention de tous les chercheurs face à des caractères typiquement pathogènes. *E. gingivalis* agit dans diverses formes de parodontites comme un pathogène envahissant et doit être considéré comme tel.

Adresse de l'auteur : Institut International de Parodontie  
5775 Jean XXII Trois-Rivières-Ouest, Québec, G8Z 4J2, Canada  
e-mail : mark.bonner@tr.cgocable.ca

Article soumis le 13 janvier 2003  
Accepté pour publication le 20 février 2003

## BIBLIOGRAPHIE

- 1 Barbeau I, Buhler T. Biofilms augment the number of free-living amoebae in dental unit waterlines. *Res Microbiol* 2001 ; 152 : 753-760.
- 2 Bonner M. Lettre de Dr Bonner, Courrier. *Journal dentaire du Québec* 1999 ; 36 : 245-247.
- 3 Bonner M. *Entamoeba gingivalis* a pathogen. XI International congress of Protozoology ICOP, Salzburg, Austria, July 2001.
- 4 Child, Horace J., Studies on the Ingestion of Leucocytes, and on mitosis in *Endamoeba gingivalis*. *Univ Calif Publ Zool* 1926 ; 28 : 251-284.
- 5 Féki A, Motet B. Importance des protozoaires *Trichomonas tenax* et *Entamoeba gingivalis* dans la cavité buccale humaine. *Rev Odontostom* 1990 ; Tome 19, n° 1.
- 6 Grossi et al. Risk assessment for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss. *J Periodontol* 1994 ; 65 : 260-267.
- 7 Hinshaw - voir Kofoid et coll.
- 8 Howitt BF. Culture of *Endamoeba gingivalis* (Gros). *Univ. Calif Publ in Zool* 1925 ; 28 : 65-126.
- 9 Howitt BF. The Effect of Certain Drugs and Dyes upon the Growth of *Endamoeba gingivalis* (Gros) in vitro. *Univ Calif Publ Zool* 1926 ; 200 : 173-182.
- 10 Kofoid CA, Hinshaw HC, Johnstone HG. Animal Parasites of the Mouth and their Relation to Dental Disease. *JADA* 1929 : 1435-1455.
- 11 Koch DA. An Experimental Study of the Effects of Dyes, of Dye Mixtures, and of Disinfectants upon *Endamoeba gingivalis* (Gros) in vitro. *Univ Calif Publ Zool* 1926 ; 200 : 241-266.
- 12 Linke. Clinical survey of *Entamoeba gingivalis* by multiple sampling in patients with advanced periodontal disease. *Int J Parasitol* 1989 ; 19 : 803-808.
- 13 Lyons T. Oral amoebiasis: a new approach for the general practitioner in the diagnosis and treatment of periodontal disease. *Oral Health* 1980 ; 70 : 39-41, 108-110.
- 14 Lyons T. Oral amoebiasis: alternatives in oral disease. *Ontario dentist* 1982 ; 59 : 16-20.
- 15 Lyons T. Oral amoebiasis: the role of *Entamoeba gingivalis* in periodontal disease. *Quintessence Int* 1983 ; 14 : 1245-1248.
- 16 Lyons T. Introduction to Protozoa and Fungi in Periodontal Infections. Trevor Lyons Publications, Ontario, Canada 1989. ISBN 0-9693950-0-0
- 17 Martinez-Palomo A. Isoenzymes patterns of *Entamoeba histolytica* isolates from asymptomatic carriers. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1986 ; 35 : 1134-1139.
- 18 Martinez-Palomo A. The pathogenesis of amoebiasis. *Parasitology Today* 1987 ; 3 : 111-118.
- 19 Martinez-Palomo A. *Entamoeba dispar*: Ultrastructure, surface properties and cytopathic effect. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 1998 ; 45 : 265-272.
- 20 Nisengard R. J., Newman B.G. Oral microbiology and immunology. W.B. Saunders Company, 297. 1994.