

Microorganismos fosilizados en cálculo dental de una población antigua (siglos XV-XIX) de Mucuchíes, Edo. Mérida, Venezuela

Sosa, Darío 

Departamento de Investigación, Facultad de Odontología, ULA, Venezuela

Correo electrónico: dario.sosa@gmail.com

Salas Osorio, Elaysa 

Departamento de Biopatología, Facultad de Odontología, ULA, Venezuela

Correo electrónico: Elaysalas72@gmail.com

Varela Rangel, Yasmin Yinec 

Departamento de Biopatología, Facultad de Odontología, ULA, Venezuela

Correo electrónico: yinecster@gmail.com

Rincón, Fernando 

Departamento de Biopatología, Facultad de Odontología, ULA, Venezuela

Correo electrónico: fernandorz14@gmail.com

García Sívoli, Carlos 

Departamento de Odontología Restauradora, Facultad de Odontología, ULA, Venezuela

Correo electrónico: sivolig@gmail.com

RESUMEN

El presente artículo busca identificar los microorganismos fosilizados que se puedan encontrar en el cálculo dental de 15 muestras (2 cráneos, 3 maxilares y 10 mandíbulas), provenientes de la necrópolis Antigua de Santa Lucía de Mucuchíes (Siglos XV-XIX), Mucuchíes, estado Mérida, Venezuela.

PALABRAS CLAVE: cálculo dental antiguo, microorganismos, Mucuchíes, Mérida, Venezuela

PRESENCE OF FOSILIZED MICROORGANISMS IN DENTAL CALCULOUS OF AN ANCIENT POPULATION (XV-XIX CENTURY) OF MUCUCHÍES, EDO. MERIDA

ABSTRACT

The present article seeks to identify the fossilized microorganisms present in the dental calculus in 15 samples (2 skulls, 3 maxillae and 10 mandibles), from the Ancient necropolis of Santa Lucía de Mucuchíes (XV-XIX centuries), Mucuchíes, Mérida state, Venezuela.

KEY WORDS: Cancien dental calculus, microorganisms, Mucuchíes, Mérida, Venezuela

*Fecha de recepción: 29-03-2020. Fecha de aceptación: 17-11-2020.

1. INTRODUCCIÓN

Uno de los detalles anatómicos que puede aportar información valiosa al campo de la bioantropología es el aparato estomatognático. Tanto los huesos maxilares como los dientes ofrecen información acerca de aspectos culturales relacionados con actividades en las poblaciones antiguas. La antropología dental ha tenido un gran auge en la antropología física desde hace más de 30 años, siendo los maxilares un importante objeto de estudio ya que se conservan bien con el pasar de los años e incluso de las condiciones ambientales bajo las cuales han estado sometidas (Reyes et al. 2010; Adler et al. 2013; Sassi et al. 2016).

Las características somáticas se han tomado como factor diferencial durante el proceso de hominización para describir a las especies según sus rasgos dentales. Los dientes no solo revelan la especie, sino también sus hábitos alimenticios y de vida (Reyes et al. 2010; Sassi et al. 2016). Los cambios ocurridos en los patrones alimenticios hace aproximadamente 10.000 años, motivados a la inclusión de granos y otros alimentos ricos en carbohidratos, sin dejar a un lado los propiciados por la revolución industrial, provocaron cambios importantes en el ecosistema bucal afectando sustancialmente su conformación con énfasis en la composición de la biopelícula, la formación de cálculo dental y la aparición de caries.

La biopelícula dental, al mineralizarse, se convierte en fosfato cálcico, originando al cálculo dental. Tomando en cuenta que la formación de biopelícula y cálculo dental es un proceso dinámico, de depósito constante, y entendiendo los factores etiológicos de su formación, es posible diferenciar su composición de acuerdo a los alimentos consumidos, entendidos como elementos externos y, la composición de la saliva como elemento interno, ya que los elementos químicos que la componen contribuyen en la formación de la biopelícula y el cálculo dental (Lalueza, Juan, y Albert 1996). Es así como el cálculo dental,

por sus características particulares, logra mantenerse en el tiempo y preservarse parcialmente por factores externos. Autores como Ozga et al. (2016) hacen referencia a que el análisis de cálculo dental en restos humanos antiguos es considerado como no invasivo, a diferencia de realizar análisis sobre esqueletos o huesos, lo que aventaja sobre cualquier tipo de conflicto de intereses que pueda existir al momento de procesar muestras con organizaciones protectoras de cualquier tipo.

En tal sentido, el cálculo dental o tártaro, representa una información biológica de suma importancia en la determinación de los hábitos alimenticios en poblaciones antiguas, estructura organizativa de grupos humanos, patrones culturales y de migración, intercambios culturales, entre otros; así como la información arqueológica aportada por los yacimientos donde se encuentran estas muestras para el mejor entendimiento de las poblaciones pretéritas (Linossier, Aspillaga, y Gajardo 1988; Henry, Brooks, y Piperno 2011; Adler et al. 2013; Radini et al. 2016).

Cuando la biopelícula madura sufre el proceso de mineralización, los microorganismos quedan atrapados en una matriz cristalina, ubicada sobre los dientes, por encima o debajo de la encía (Adler et al. 2013). Se estima que dentro del cálculo dental quedan atrapados más de 200.000.000 microorganismos por gramo (2×10^8 microorganismos/g), lo cual realza la importancia del cálculo como fuente de información microbiológica y genética no invasiva (Ozga et al. 2016). La presencia de microorganismos dentro del cálculo dental permite obtener información sobre la salud bucal en poblaciones antiguas. La presencia de microorganismos dentro del cálculo dental puede determinarse mediante análisis microscópicos, proteicos y genéticos que permiten evidenciar la evolución, especies predominantes, morfología, entre otros, tanto de microorganismos de microbiota habitual como patógenos. Tales hallazgos proporcionan información importante sobre salud bucal de poblaciones antiguas, al igual que hábitos alimenticios,

entre otros. (Solórzano et al. 2009; Weyrich, Dobney, y Cooper 2015)

En el continente Americano se han realizado distintos estudios, desde el punto de vista bioantropológico, valiéndose de metodologías propias del área (antropología dental y características somáticas propias del aparato estomatognático, análisis de patologías bucales, identificación genética a través de microorganismos fosilizados y hallazgos de paleodieta) con muestras de poblaciones originarias (Linossier, Aspillaga, y Gajardo 1988; Solórzano et al. 2009; Morales 2016; Sassi et al. 2016; Castellón, López, y Igareta 2018). Así mismo, Linossier, Aspillaga, y Gajardo 1988 estudiaron el cálculo dental en restos óseos bien preservados mediante la microscopía electrónica y tinción Gram para confirmar la presencia de microorganismos.

En el caso particular de Venezuela, se han realizado diferentes estudios bioantropológicos en el estado Mérida, específicamente en el municipio Rangel, en Mucuchíes, tanto con poblaciones contemporáneas (Díaz, García-Sívoli, y Premoli de Percoco 1999) como en muestras arqueológicas (García-Sívoli 1997a, 1997b; Reyes et al. 2013) determinaron la presencia de patologías dentales en restos óseos humanos de la cordillera andina de Mérida, así como la composición química del cálculo dental de un caso de momificación en la población de La Ovejera, en los Pueblos del Sur (García-Sívoli 1997)

Los restos óseos antiguos encontrados en la iglesia de Santa Lucía de Mucuchíes, edo. Mérida-Venezuela durante su restauración en el año 2003. Los restos "...formaban parte de una antigua necrópolis, sin elementos votivos asociados, en los terrenos colindantes a la pared izquierda de la iglesia." (David 2018). Actualmente pertenecen al Museo Arqueológico "Gonzalo Rincón Gutiérrez" de la Universidad de Los Andes (Mérida, Venezuela), obtenido a través de un convenio entre la iglesia católica y la Universidad. Sin embargo, cabe destacar que no fueron recolectados de manera sistemática por presión de los arquitectos para la finalización de la obra, por lo cual la muestra

se encuentra descontextualizada parcialmente.

En los últimos 10 años, dichas muestras han sido estudiadas por Canelón (2012) en Mérida, Venezuela, quien valiéndose de herramientas y técnicas bioantropológicas, determinó las enfermedades bucodentales que presentaba esta población antigua. A su vez, David (2018) en la misma ciudad realizó abordajes desde el punto de vista de la antropología dental, características dentales y morfométricas de mandíbula. Por otra parte, Murzi et al, (2019) realizaron un estudio para determinar la variabilidad morfogeométrica en primeros molares permanentes: Colonia (Siglos XVI y XIX) y contemporáneas. Finalmente, Pineda et. al, (2019) determinaron la frecuencia de presencia del segundo conducto radicular en incisivos laterales inferiores, en una muestra esquelética de los siglos XV-XIX.

Luego de una extensa revisión de la literatura, no se encontraron estudios microbiológicos que analicen cálculo dental de poblaciones antiguas en Venezuela; Asimismo, no se han realizado investigaciones que involucren el análisis del cálculo dental ubicado en los maxilares de las muestras de estudio. De acuerdo con lo anteriormente dicho, se plantea como objetivo describir los microorganismos en el cálculo dental de la población antigua de Mucuchíes, edo. Mérida (Siglo XV-XIX) a partir de los hallazgos en cálculo dental.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se enmarca dentro del alcance descriptivo. En cuanto al diseño de investigación, se adoptará el diseño no experimental, transeccional. Se seleccionaron en total 15 muestras (2 cráneos, 3 maxilares y 10 mandíbulas) que presentaban depósitos de cálculo dental en por lo menos un diente (Figura 1). Todas las piezas arqueológicas eran provenientes de la necrópolis de Santa Lucía de Mucuchíes, las cuales pertenecen

al sistema de registro de yacimientos arqueológicos del Museo “Gonzalo Rincón Gutiérrez” de la Universidad de Los Andes bajo el código MR-206 con el sufijo correspondiente (C=cráneo; M=Maxilar; m=mandíbula) y su número de serie. Para el estudio, fueron trasladadas al Laboratorio de Anatomía Dentaria y el Centro de Investigaciones Odontológicas de la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes.



Figura 1. Cálculo dental antiguo en la cara lingual de un primer molar inferior izquierdo (U.D. 36).

Una vez seleccionada, la muestra fue limpiada cuidadosamente con agua destilada evitando desprender el cálculo dental y así perder material para la investigación, solo se eliminaron restos de tierra y algún otro contaminante. El cálculo dental antiguo fue removido mecánicamente de cada diente seleccionado con instrumental odontológico especializado (Tartréctomos anteriores y posteriores marca Hu-Friedy®) y conservado en un mortero de vidrio estéril (Figura 2).

La muestra de cálculo dental fue triturada en un mortero estéril y conservado en microtubos (Eppendorf®) debidamente rotulados (Linossier et al., (1988) (Figura 3). A cada muestra obtenida se le colocó 1 ml. de agua destilada estéril y se agitó durante 1 minuto. Posteriormente, se recolectaron 10 µl. de la

suspensión y se prepararon frotis sobre láminas portaobjetos. Se procedió a realizar la técnica de tinción de Gram (Madigan, M. T; Martinko J., Parker J., 2004). Las láminas obtenidas fueron observadas al microscopio óptico, evaluando la totalidad del frotis.



Figura 2. Remoción del cálculo dental antiguo encontrado en una mandíbula.

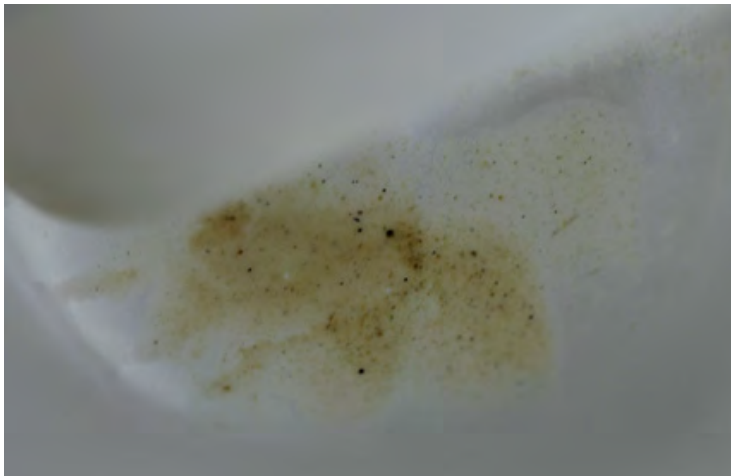


Figura 3. Cálculo dental antiguo con agua destilada macerado.

La observación de las láminas procesadas con tinción Gram fueron realizadas en el Laboratorio de Diagnóstico e Investigaciones Microbiológicas “Prof. Celina Araujo de Pérez” del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, utilizando un microscopio marca Nikon modelo Eclipse E100. Las imágenes fueron obtenidas a través de microscopía óptica convencional. Las placas fueron escaneadas en su totalidad con un aumento de 100X, Todas las imágenes fueron captadas con un teléfono celular iPhone 4S, colocando la cámara del dispositivo móvil en el visor del microscopio.

Con el fin de establecer controles, también se realizaron montajes de cálculo dental contemporáneo extraído de dientes anteriores y posteriores de un paciente con cálculo dental visible atendido en el Centro de Investigaciones Odontológicas (CIO) de la Facultad de Odontología, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. La muestra de cálculo dental extraída fue manipulada siguiendo la misma metodología anteriormente mencionada.

3. RESULTADOS

Se extrajo cálculo dental de cada muestra esquelética. Se eligieron los dientes que tuvieron mayor cantidad de cálculo dental, de lo cual se obtuvo lo siguiente:

| Cara del diente | Especimen | | Total |
|-----------------|-----------|----------------|-----------|
| | Mandíbula | Maxilar/Cráneo | |
| D | 5 | 1 | 6 |
| L | 5 | | 5 |
| M | 3 | 2 | 5 |
| V | 2 | 2 | 4 |
| Total | 15 | 5 | 20 |

Tabla 1. Ubicación las caras de dientes por tipo de hueso.

Como puede observarse en la Tabla 1, la cara del diente donde más se presentó cálculo dental fue en la cara distal en al menos 6 individuos. La mayoría de los especímenes presentaban espacios edéntulos relacionados, lo cual propicia la acumulación de biopelícula dental, aunado a la falta de higiene. En todos los casos, los 6 dientes eran posteriores, lo que puede relacionarse con la desembocadura de los conductos de las glándulas salivares. (Newman et al. 2003)

Con el fin de establecer aleatorización en las muestras y agregar mayor confiabilidad en los resultados de la presente investigación, fueron seleccionadas al azar 5 láminas para su observación. Además, hizo una comparación con una muestra de cálculo dental contemporáneo como control (Figura 4) (Linossier, Aspillaga, y Gajardo 1988; De La Fuente, Flores, y Moraga 2012; Adler et al. 2013).

Se observa claramente que en la muestra contemporánea hay mayor cantidad y diversidad de microorganismos, comparando con las muestras de cálculo dental antiguo.

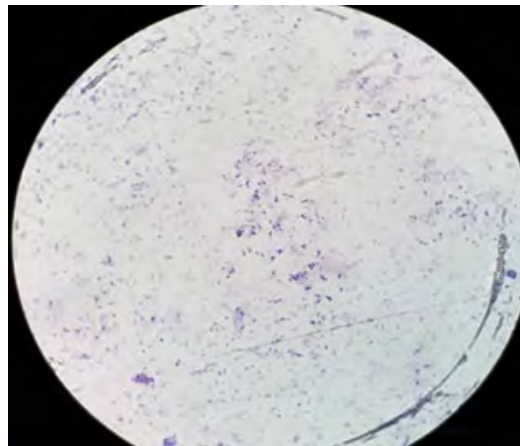


Figura 4. Muestra cálculo dental contemporáneo con tinción Gram. Se pueden observar formas cocoides tanto Gram positivos como Gram negativos dispuestos en racimos e individuales. Aumento de 100X en microscopio óptico.

Luego de una observación exhaustiva de las láminas, fue posible determinar la presencia gran cantidad de detritus calcificados de microorganismos Gram positivos con formas cocoides, dispuestos cadenas cortas en racimos y pares (Figuras 5,6,7,8,9).

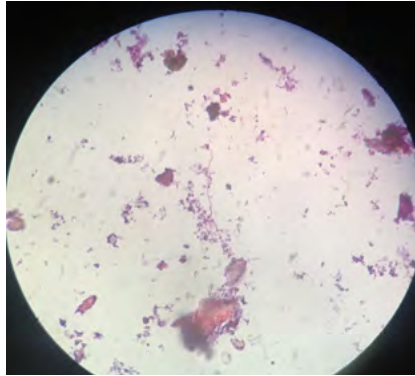


Figura 5. Muestra de cálculo dental antiguo con tinción Gram. Se pueden observar formas cristalinas abundantes y predominio de cocos Gram positivos dispuestos en racimos e individuales. Aumento de 100X en microscopio óptico.

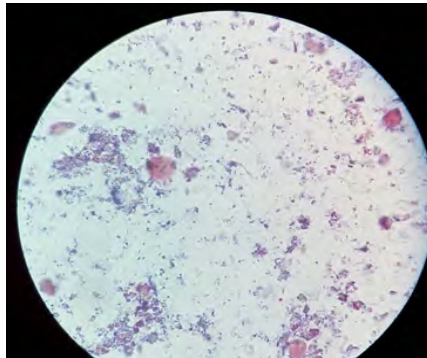


Figura 6. Muestra de cálculo dental antiguo con tinción Gram. Se pueden observar formas cristalinas de gran tamaño y predominio de cocos Gram positivos dispuestos en racimos e individuales. Aumento de 100X en microscopio óptico.

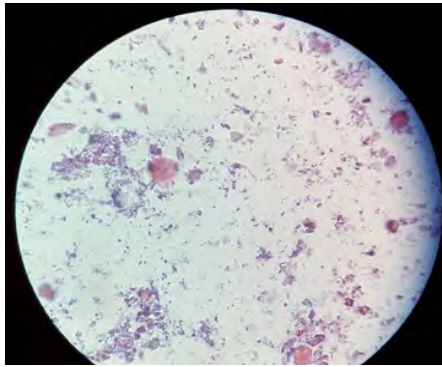


Figura 7. Muestra de cálculo dental antiguo con tinción Gram. Se pueden observar formas cristalinas abundantes, algunas de tamaño medio y predominio de cocos Gram positivos dispuestos en racimos e individuales. Aumento de 100X en microscopio óptico.

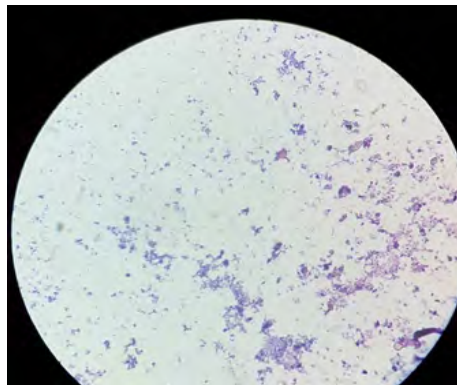


Figura 8. Muestra de cálculo dental antiguo con tinción Gram. Se pueden observar formas cristalinas abundantes, algunas de tamaño medio y predominio de cocos Gram positivos dispuestos en racimos e individuales. Aumento de 100X en microscopio óptico.

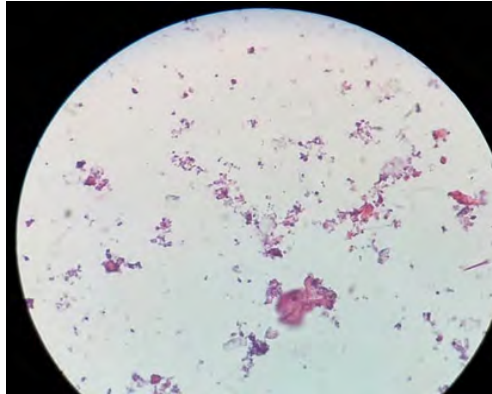


Figura 9. Muestra de cálculo dental antiguo con tinción Gram. Se pueden observar formas cristalinas abundantes de diferente tamaño, y predominio de cocos Gram positivos dispuestos en racimos e individuales. Aumento de 100X en microscopio óptico.

Al observar la tabla 2, puede destacarse que en todas las muestras fue posible la observación de formas cocoides Gram positivas en distintas presentaciones, destacando su organización en cadenas cortas entre 2 y 4 microorganismos. A pesar de haber sido pocas, como se observa en las fotografías, fue posible su observación ya que lograron preservarse a través del tiempo.

4. DISCUSIÓN

Los aportes de la presente investigación, al igual que los estudios de Linossier, Aspillaga, y Gajardo, (1988) y Moolya et al., (2010) demuestran que es posible la observación de microorganismos en cálculo dental antiguo. Los hallazgos del presente estudio concuerdan con Linossier, Aspillaga, y Gajardo, (1988) y Moolya et al., (2010), evidenciando un predominio de presencia de cocos gram positivos incluidos en el estroma del cálculo dental antiguo. Esto pudiese atribuirse a las diferencias de composición y conformación de la pared celular de las bacterias. Las bacterias gram positivas, presentan una pared celular muy

desarrollada formada por una red de mureína, también llamada trama glucopeptídica, que llega a tener hasta 40 capas y envuelve a las membranas plasmáticas, a diferencia de las bacterias gram negativas cuya pared celular es poliestratificada caracterizada por un espacio periplasmático entre la superficie externa de la membrana citoplasmática y la interna de la membrana externa

| Ubicación | Código | Diente | Cara | Gram+ | Gram- | Detritus | Formas | Disposición |
|--------------------|--------|--------|------|-------|-------|----------|--------|----------------|
| Mandíbula | M 2 | 37 | D | SI | 0 | SI | Cocos | Cadenas cortas |
| Mandíbula | M 5 | 36 | D | SI | 0 | SI | Cocos | Racimos |
| Mandíbula | M 7 | 44 | M | SI | 0 | SI | Cocos | Pares |
| Mandíbula | M 11 | 36 | L | SI | 0 | SI | Cocos | Racimos |
| Mandíbula | M 19 | 34 | L | SI | 0 | SI | Cocos | Racimos |
| Mandíbula | M 20 | 47 | D | SI | 0 | SI | Cocos | Racimos |
| Mandíbula | M 28 | 47 | D | SI | 0 | SI | Cocos | Racimos |
| Mandíbula | M 23 | 33 | M | SI | 0 | SI | Cocos | Pares |
| Mandíbula | M 25 | 31 | M | SI | 0 | SI | Cocos | Cadenas cortas |
| Mandíbula | M 30 | 31 | V | SI | 0 | SI | Cocos | Cadenas cortas |
| Mandíbula | M 33 | 36 | V | SI | 0 | SI | Cocos | Cadenas cortas |
| Mandíbula | M 42 | 43 | L | SI | 0 | SI | Cocos | Racimos |
| Mandíbula | M 46 | 45 | L | SI | 0 | SI | Cocos | Racimos |
| Mandíbula | M 50 | 48 | D | SI | 0 | SI | Cocos | Racimos |
| Mandíbula | M 59 | 3 | L | SI | 0 | SI | Cocos | Pares |
| Maxilar/ Cráneo | C 11 | 16 | V | SI | 0 | SI | Cocos | Cadenas cortas |
| Maxilar/ Cráneo | C 8 | 17 | D | SI | 0 | SI | Cocos | Cadenas cortas |
| Maxilar/ Cráneo | M 2 | 17 | V | SI | 0 | SI | Cocos | Cadenas cortas |
| Maxilar/ Cráneo | M 3 | 24 | M | SI | 0 | SI | Cocos | Pares |
| Maxilar/ Cráneo | M 5 | 27 | M | SI | 0 | SI | Cocos | Cadenas cortas |

Tabla 2. Resumen de la muestra. Ubicación del cálculo, diente y cara involucrada, presencia, forma y disposición de microorganismos.

y una delgada capa de mureina, conformación que pudiera ser afectada durante los procesos de mineralización y posterior fosilización.

Por otra parte, es importante recordar que un amplio número de bacterias gram positivas forman parte de los microbiomas comensales humanos, donde la boca no es la excepción, de allí que su representación en número y especies supera a las bacterias gram negativas, quienes a pesar de ser consideradas mucho más patógenas no logran resistir los embates del tiempo y las condiciones a las que se sometieron las muestras en el sitio de enterramiento. Sin embargo, tal como lo expone (Mann et al., 2018), es necesario realizar investigaciones de mayor envergadura y con técnicas más avanzadas para confirmar tal afirmación.

La alta presencia de estructuras cristalinas propias del cálculo dental y acentuadas luego del paso del tiempo fueron evidentes en la observación al microscopio. Esto concuerda con el estudio de García-Sívoli (1997c), quien realizó un estudio químico de muestras de cálculo dental antiguo extraído de una momia encontrada en el estado Mérida, Venezuela, evidenciando un predominio de elementos inorgánicos.

De acuerdo con Moolya et al., (2010) la tinción Gram es un medio diagnóstico limitado, por lo que puede solo especularse desde el punto de vista morfológico, qué tipo de microorganismos están presentes en las muestras. Adicionalmente, en su estudio se utilizaron diferentes medios para observar la motilidad y crecimiento bacteriano en muestras contemporáneas, demostrando que pueden preservarse dentro de la matriz calcificada del cálculo dental. En el caso de la presente investigación, fue posible realizar observaciones de microorganismos que quedaron atrapados dentro del cálculo dental, en menor número. En cuanto a la disposición de los cocos Gram positivos, fue característica pero variada, encontrándose una tendencia a cadenas cortas entre 2 a 4 cocos.

Por último, de acuerdo a estas observaciones preliminares y básicas de la muestra, pudiese decirse que la microbiota antigua

no se conserva tan variada y numerosa como la contemporánea, concordando con los resultados de (Adler et al., 2013) quienes, al comparar muestras de cálculo dental antiguo con fragmentos extraídos de individuos contemporáneos, demostraron que existe mayor variedad de microorganismos encontrados en cálculo dental moderno.

5. CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta la gran relevancia y riqueza de información que posee el cálculo dental, como fue mencionado al inicio de este artículo, permiten un acercamiento al entendimiento de la microbiota bacteriana que poseían, abriendo así un nuevo campo de investigación. Los resultados tanto de las muestras confirman la factibilidad del uso del cálculo dental como fuente de información bioantropológica.

De acuerdo a los hallazgos del presente estudio, fue posible determinar la presencia de microorganismos en el cálculo dental antiguo estudiado. A pesar de haber sido poca la presencia, se logró visualizar bacterias, específicamente cocos gram positivos agrupados en cadenas cortas, capaces de resistir el paso del tiempo.

Evidenciar la presencia de microorganismos en cálculo dental antiguo mediante este tipo procedimiento, puede sugerir algunos rasgos de la microbiota bucal relacionada con salud bucal, teniendo en cuenta que dentro de las patologías bucales que más afectan a los seres humanos son la caries y la enfermedad periodontal, tienen microorganismos específicos. Incluso, la presencia de ciertos microorganismo se relaciona con hábitos alimenticios, ya que la literatura refleja que de acuerdo a la alimentación, pueden predominar ciertos tipos de microorganismos.

6. RECOMENDACIONES

A. Realizar estudios que permitan determinar las especies

de microorganismos presentes en el cálculo dental antiguo, tales como pruebas de PCR o microscopía electrónica de barrido, para establecer patrones de semejanza o diferencia entre microbiota antigua y contemporánea.

B. Contrastar los hallazgos con registros históricos sobre alimentación, ya que el tipo de dieta puede determinar la presencia de ciertos microorganismos.

C. Estudiar a que se debe la mayor conservación de las bacterias gram positivos respecto a las gram negativas, al paso del tiempo y sometidos a condiciones ambientales de enterramiento.

D. Realizar estudios en otras muestras arqueológicas venezolanas, con el fin de establecer un patrón y ahondar más en el estudio de poblaciones pretéritas en nuestro país.

7. BIBLIOGRAFÍA

- AADLER, C; DOBNEY, K; WEYRICH, L; KAIDONIS, J; WALKER, A; WOLFGANG H; BRADSHAW, C et al. (2013). Sequencing ancient calcified dental plaque shows changes in oral microbiota with dietary shifts of the Neolithic and Industrial revolutions. *Nature Genetics* 45 (4): 450-55. <https://doi.org/10.1038/ng.2536>.
- CANELÓN, Magaly (2012). Paleodontología a través de un prisma etnológico: estudios basados en evidencias recabadas en el “Antiguo cementerio” de Mucuchíes (1601-1873) Municipio Rangel-Estado Mérida. Universidad de Los Andes.
- CASTILLÓN, V; LÓPEZ, M E IGARETA, A. (2018). Arquitectura y plantas. Análisis de microrrestos botánicos en argamasa en el sitio arqueológico El Shincal (Catamarca, Argentina) durante los siglos XV y XVI. *Ciencia y Medio Ambiente*, N° 1.
- DAVID, Carla. (2018). Morfometría Facial: estudio etnobiológico comparativo de los cambios morfológicos en la rama mandibular de poblaciones antiguas (Mucuchíes siglos XVI y

- XVIII y población del valle de Quíbor (siglos II a.C. y IV d.C.).
Universidad de Los Andes.
- DÍAZ, Nancy; GARCÍA-SÍVOLI, Carlos y PREMOLI DE PERCOCO, G. (1999). Estudio del dimorfismo sexual de la arcada dentaria superior aplicado a una población autóctona contemporánea del estado de Mérida-Venezuela (Mucuchíes-Municipio Rangel)". *Boletín Antropológico*, 54-75.
- GARCÍA-SÍVOLI, Carlos. (1997). "Antropología dental: estudio de un caso de momificación, La Ovejera, estado Mérida-Venezuela". *Boletín Antropológico* 39: 5-21.
- GARCÍA-SÍVOLI, Carlos. (1997a). "Estudio comparativo de patrones oclusales en molares inferiores en poblaciones prehispánicas y actuales de zonas andinas venezolanas: Mucuchíes y Lagunillas de Mérida". *Boletín antropológico* (Mérida), n.o 40: 94-116. <https://biblat.unam.mx/ca/revista/boletin-antropologico-merida/articulo/estudio-comparativo-de-patrones-occlusales-en-molares-inferiores-en-poblaciones-prehispanicas-y-actuales-de-zonas-andinas-venezolanas-mucuchies-y-lagunillas-de-merida>.
- GARCÍA-SÍVOLI, Carlos. (1997b). Patologías dentales en restos prehispánicos de la cordillera andina merideña (Venezuela). *Boletín antropológico* (Mérida), N° 41: 69-95. <https://biblat.unam.mx/ca/revista/boletin-antropologico-merida/articulo/patologias-dentales-en-restos-prehispanicos-de-la-cordillera-andina-meridena-venezuela>.
- HENRY, A; BROOKS, A Y PIPERNO, D. (2011). "Microfossils in calculus demonstrate consumption of plants and cooked foods in Neanderthal diets (Shanidar III, Iraq; Spy I and II, Belgium)". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108 (2): 486-91. <https://doi.org/10.1073/pnas.1016868108>.
- DE LA FUENTE, C.; FLORES, S. Y MORAGA, M. (2012). "Dna from human ancient bacteria: A novel source of genetic evidence from archaeological dental calculus". *Archaeometry* 55 (4):

- 767-78. <https://doi.org/10.1111/j.1475-4754.2012.00707.x>.
- LALUEZA, C; JUAN, J Y ALBERT, R. (1996). "Phytolith analysis on dental calculus, enamel surface, and burial soil: Information about diet and paleoenvironment". *American Journal of Physical Anthropology* 101 (1): 101-13. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8644\(199609\)101:1<101::AID-AJPA7>3.0.CO;2-Y](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8644(199609)101:1<101::AID-AJPA7>3.0.CO;2-Y).
- LINOSSIER, A; ASPILLAGA, E y GAJARDO, M. (1988). Hallazgo de bacterias comensales de la cavidad oral en tártaro dental de restos óseos de indígenas chonos. *Revista Chilena de Antropología*, n.o 7: 123-28.
- MORALES, Pablo (2016). Evidencias morfológicas bioantropológicas, paleopatológicas dentales y estado de bienestar de las poblaciones del antiguo Ecuador (10.000 a.C. - 1.500 d.C.). Universidad de Alicante.
- NEWMAN, M; TAKEI, H; KLOKKEVOLD, P Y CARRANZA, F. (2003). *Periodontología Clínica*. Editado por McGraw Hill Interamericana. 9.a ed. Mexico.
- OZGA, A; NIEVES-COLÓN, M; HONAP, T; SANKARANARAYANAN, K; HOFMAN, C; MILNER, G; LEWIS, C; STONE, A y WARINNER, C. (2016). "Successful enrichment and recovery of whole mitochondrial genomes from ancient human dental calculus". *American Journal of Physical Anthropology* 160 (2): 220-28. <https://doi.org/10.1002/ajpa.22960>.
- RADINI, A; BUCKLEY, S; ROSAS, A; ESTALRRICH, A; DE LA RASILLA, M; HARDY, K. (2016). "Neanderthals, trees and dental calculus: new evidence from El Sidrón". *Antiquity* 90 (350): 290-301. <https://doi.org/10.15184/aqy.2016.21>.
- REYES, Gerson; BONOMIE, Justo; GUEVARA, E; PALACIOS, M; MALGOSA, A; CHIMENOS, E; JORDANA, X y GARCÍA-SÍVOLI, C. (2010). El sistema dental y su importancia en el estudio de la evolución humana: Revisión bibliográfica. *Boletín Antropológico* 28 (78): 16-43.
- REYES, G, RODRÍGUEZ-FLÓREZ, C; BONOMIÉ, J; PALACIOS, M; GUEVARA, E; MARÍN, E y GARCÍA-SÍVOLI, C. (2013). Posible relación genética entre el Dens in dente o Dens

invaginatus y el rasgo incisivos en forma de pala: estudio exploratorio. *Boletín Antropológico* 31 (86). <https://www.redalyc.org/html/712/71229244006/>.

SASSI, C; PICAPEDRA, A; NASCIMENTO CORREIA L, LAÍSE; MASSA, F; GARGANO, V; FRANCESQUINI J, LUIZ Y DARUGE JÚNIOR, E. (2016). Contribución de la antropología dental en la determinación de la identidad uruguaya. *Actas Odontológicas* 10 (1): 29-45.

SOLÓRZANO, Eduvigis; DÍAZ, Nancy; MONTIEL, R Y MALGOSA, A. (2009). Análisis del ADN mitocondrial de tres series antiguas mexicanas. *Estudios en Antropología Biológica XIV* (1): 243-59.

WEYRICH, L; DOBNEY, K Y COOPER, A. (2015). Ancient DNA analysis of dental calculus. *Journal of Human Evolution* 79: 119-24. <https://doi.org/10.1016/j.jhevol.2014.06.018>. “