

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT
UNIDAD ACADÉMICA DE ODONTOLOGÍA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



**CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS, EPIDEMIOLÓGICAS Y VIROLÓGICAS DE
PACIENTES DE YAXHACHÉN, YUCATÁN, CON HIPERPLASIA EPITELIAL
MULTIFOCAL**

TESIS

Que para obtener el grado de:
MAESTRO EN ODONTOLOGÍA

Presenta:

MARÍA EUGENIA LÓPEZ VILLANUEVA

Directores de Tesis

M.S.P. SAÚL HERNÁN AGUILAR OROZCO
DRA. MARÍA DEL REFUGIO GONZÁLEZ LOSA

Tepic, Nayarit, diciembre de 2010



DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACION

Tepic, Nayant, 6 de diciembre de 2010
Oficio No144/10.

C.D. Maria Eugenia López Villanueva
Candidata a Maestra en Odontología
Presente.

En virtud de haber recibido información de los revisores asignados por esta Comisión acerca de que el trabajo de tesis de Maestría titulado: **Características Clínicas, Epidemiológicas y Viroológicas de Pacientes de Yaxhachén, Yucatán, con Hiperplasia Epitelial Multifocal**, en la cual participan como Directores: M.S.P. Saúl Hernán Aguilar Orozco y Dra. María del Refugio González, ha sido revisada y se han extendido en forma escrita las recomendaciones que ellos han considerado necesarias, en nuestra calidad de cuerpo colegiado, estamos otorgando autorización para que se proceda a la impresión de dicho trabajo.

Una vez concluidos los trámites administrativos correspondientes, le serán notificados lugar, fecha y hora, donde se llevará a cabo el examen de grado defendiendo su tesis con réplica oral.

ATENTAMENTE
"POR LO NUESTRO A LO UNIVERSAL"


M. C. Rogelio Díaz Peña

Por la Comisión Asesora Interna de la División de Estudios
de Posgrado e Investigación.



C.c.p. - Interesado
C.c.p. - Archivo.

CONTENIDO

	PÁGINA
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MATERIAL Y MÉTODOS	18
III. RESULTADOS	22
IV. DISCUSIÓN	24
V. CONCLUSIONES	30
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
VII. ANEXOS	

AGRADECIMIENTOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT



SISTEMA DE BIBLIOTECAS

A la Universidad Autónoma de Nayarit

Al departamento de virología del Centro de Investigaciones Regionales Dr Hideyo Noguchi

A la Universidad Autónoma de Yucatán

Al Centro de Salud de Yaxhachén, Yucatán

Al Centro Dermatológico de Yucatán

A mis maestros y a todas las personas que colaboraron en este estudio

Y muy especialmente a mis directores de tesis:

Dra. María del Refugio González Losa y M. S.P. Saúl Hernán Aguilar Orozco, por su dedicación y apoyo para la realización de esta tesis.

I INTRODUCCIÓN

La Hiperplasia Epitelial Multifocal (HEM) ha recibido diversas denominaciones, enfermedad de Heck porque es quien la dio a conocer, la de papiloma, por la asociación con los papilomas bucales, la de verrugas vulgares, papilomatosis que también es equivocada, ya que el término sugiere degeneración la cual no ocurre, al parecer el término más adecuado es el de HEM ya que corresponde a los hallazgos histológicos y morfológicos de la alteración.

Se considera que es la HEM es una patología de origen multifactorial, con factores de riesgo no bien identificados. La deficiencia de ciertas vitaminas, factores genéticos, estilo de vida (pobreza extrema, mala higiene, desnutrición, hacinamiento), la presencia de corrientes galvánicas son algunos factores que se han involucrado en su génesis. Se ha identificado la presencia de los genotipos de 13 y 32 del virus del Papiloma humano (VPH) en las lesiones. Esto ha sido posible, mediante técnicas de biología molecular, principalmente la reacción en cadena de la polimerasa, conocida como PCR.

Los reportes en la literatura mundial son escasos y están limitados a ciertos grupos étnicos.

En México se han realizado pocos estudios sobre este padecimiento, en Yucatán desde el año 2005 se han presentado casos en diversas localidades del interior del estado, por lo que el objetivo del presente estudio es identificar las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes con HEM de una comunidad, así como la identificación y tipificación de los VPH que se encuentren presentes en las lesiones.

ASPECTOS CLÍNICOS

La HEM es una patología inusual de la mucosa bucal, las lesiones características son lesiones de tipo nodular o papular (Leonardo *et al.* 1996, De Andrade *et al.* 2007, Guerra *et al.* 2007). Aparecen principalmente como elevaciones sésiles, de forma redondeada u ovoidea, de superficie lisa o ligeramente verrugosa, no queratinizadas (Guevara *et al.* 2003, Córdova y Jiménez 2006)

Presentan un fino patrón de aspecto verrugoso ó de empedrado, las lesiones son blandas a la palpación, no ulceradas, puede haber presencia de pápulas únicas o múltiples, circunscritas, y brillantes (Rosa *et al.* 2003, Córdova y Jiménez 2006, Navarro *et al.* 2006) Tienen a desaparecer al distender la mucosa y aparecen nuevamente al volver la mucosa a su posición original (Ledesma *et al.* 2005, De la Teja *et al.* 2008)

Son blancas o de coloración igual a la mucosa, aunque en ocasiones presentan diferentes niveles de pigmentación o moteado (Leonardo *et al.* 1996, Guerra *et al.* 2007)

El tamaño varía de 1 a 5mm, y pueden llegar a medir hasta 1cm cuando coalescen, ya que cuando son múltiples tienen tendencia a confluir (Villarreal *et al.* 2001, Guevara *et al.* 2003, Méndez 2003, Segura *et al.* 2005, Guerra *et al.* 2007, De la Teja *et al.* 2008).

Su localización característica es en la mucosa de los labios (principalmente en el inferior), carrillos, lengua y con menos frecuencia en encías y mucosa palatina, no afecta el piso de la boca ni la orofaringe (Jiménez *et al.* 2001, Guevara *et al.* 2003, Segura *et al.* 2005, Navarro *et al.* 2006). Las lesiones aparecen generalmente en áreas con trauma debido a la dentición (Córdova y Jiménez 2006).

Desde el punto de vista clínico, las lesiones son asintomáticas (Villarreal *et al.* 2001, Guevara *et al.* 2003, Méndez 2003, Segura *et al.* 2005, Guerra *et al.* 2007, De la Teja *et al.* 2008). Son lesiones benignas (Córdova y Jiménez 2006), de crecimiento lento (Rosa *et al.* 2003, Navarro *et al.* 2006, Córdova y Jiménez 2006), pueden progresar, remitir espontáneamente o permanecer sin modificaciones, es difícil verlas en el adulto (Segura *et al.* 2005, Borborema *et al.* 2006).

La única complicación ocurre por la frecuencia de posibles traumatismos durante la masticación o cuando se involucra la estética (Córdova y Jiménez 2006), la fonación o la deglución (De la Teja *et al.* 2008).

Entre el contagio y la aparición de alguna lesión, puede existir un período que oscila entre 3 meses y varios años, incluso se han reportado casos donde hay presencia del virus y no de alguna lesión (Millán y Ronald 2006).

La HEM se considera una entidad benigna con un pronóstico favorable, ya que la mayoría de las lesiones remiten espontáneamente. Sin embargo hay algunos autores que consideran que es necesaria una evaluación periódica, para evitar la posible malignización de las lesiones si persisten y se asocian con hábitos que puedan afectar las mucosas (fumar, alcohol, relaciones orogenitales) (Córdova y Jiménez 2006).

Los aspectos histológicos de la HEM son característicos, las lesiones muestran una proliferación epitelial exofítica, hiperplasia del epitelio irregular y focal, con o sin papilomatosis, hiperparaqueratosis, redes de crestas elongadas y gruesas que pueden confluir en la base, diferentes grados de acantosis, núcleos epiteliales alargados, áreas con licuefacción, presencia de células edematosas y aumentadas de tamaño en el estrato espinoso, presencia de coilocitos, áreas con cierto grado de actividad mitótica (Méndez 2003, Navarro *et al.* 2006).

El tejido conjuntivo suele ser laxo y estar bien vascularizado, presentando un infiltrado variable de linfocitos (Córdova y Jiménez 2006).

La HEM es una patología de origen multifactorial, entre los factores hasta ahora identificados están la pobreza, la fricción, factores genéticos, irritación por corrientes galvánicas asociadas a amalgamas dentales, masticar tabaco y la falta de algunas vitaminas como la A y la K y la infección por VPH (Leonardo *et al.* 1996, Córdova y Jiménez 2006)

Aunque la infección por el papilomavirus humano (VPH) ha sido bien establecida como el agente etiológico de neoplasias cervicales, poco se sabe acerca de los co-factores involucrados en el desarrollo o la progresión de estas lesiones (Ho *et al.* 1998).

Existen estudios que han probado formalmente la interacción del VPH (tipo 16) y el tabaquismo en el desarrollo de cáncer cervicouterino (Gunnell *et al.* 2006) Las

sustancias cancerígenas que posee el tabaco, son capaces de producir daño genómico y también se ha sugerido que fumar, induce la supresión de respuestas inmunes locales y de esta manera se facilita la infección por VPH (Ho *et al.* 1998)

La Hiperplasia Epitelial Multifocal afecta prácticamente en forma exclusiva a los niños que pertenecen a grupos socioeconómicos que viven en situación de pobreza extrema (Guevara *et al.* 2003). Otros elementos de importancia etiológica relacionados con este estilo de vida son mala higiene, mal nutrición y hacinamiento (Córdova y Jiménez 2006).

Algunos autores proponen que existe un factor de fricción traumática puede estar involucrada en la patogénesis de la HEM (Navarro *et al.* 2006).

Se desconoce si la predominancia de la enfermedad en poblaciones étnicas está relacionada con alguna predisposición genética en los individuos afectados (Córdova y Jiménez 2006). La mayor parte de los pacientes presentan al menos un familiar cercano con lesiones parecidas (Ledesma *et al.* 2005, Guerra *et al.* 2007, Rodríguez *et al.* 2008), por lo que algunos autores sugirieron que se trata de una enfermedad de carácter hereditario. Recientemente, se propuso que su transmisión familiar es directa a través de utensilios de uso común, como lo son los cubiertos para la comida (De la teja *et al.* 2008, Rodríguez *et al.* 2008).

Actualmente no existen dudas que los VPH 13 y 32 están involucrados en la génesis de la HEM, lo anterior ha sido demostrado por estudios inmunohistoquímicos y de biología molecular (Hernández *et al.* 1987, Jiménez *et al.* 2001, Borborema *et al.* 2006, Córdova y Jiménez 2006, Limongi y Jiménez 2006, Navarro *et al.* 2006, Mijares *et al.* 2007).

VPH

Los Papilomavirus infectan una gran variedad de especies y son especie- específicos, forman parte de la familia de los *Papillomaviridae*, son virus pequeños de 50 nm de

diámetro, carecen de membrana, y su cápside tiene forma icosaédrica compuesta por 72 capsómeros (Cortés y Leal 2001). Su genoma está compuesto por una sola molécula de DNA de doble cadena de aprox 8000 pb (Jiménez y Pérez 2002, Sapp *et al.* 2005).

El virus del papiloma se caracteriza por ser epiteliotrópico, es decir, tiene afinidad por los epitelios. Las superficies epiteliales son todas las zonas cubiertas por piel, mucosa o ambas (Limongi y Jiménez 2006). Los papilomavirus pueden dividirse en dos grandes grupos: los que comprometen piel, y los que comprometen mucosas (Larraide *et al.* 1999).

La organización del genoma es la misma para los diferentes tipos de VPH y consiste en tres regiones: E (*early*-temprana) contiene genes para la codificación de proteínas reguladoras, transformadoras y replicadoras, L (*late*-tardia): contiene genes para la codificación de proteínas estructurales de la cápside y la región LCR que no codifica para ninguna proteína, pero contiene elementos reguladores del ciclo viral (Concha 2007).

La clasificación vigente del VPH se basa en forma exclusiva en la caracterización del genoma; se considera que se trata de un nuevo tipo si la región L1 -la parte menos variable del genoma del VPH- presenta una homología menor de 90% con otros tipos conocidos de VPH. Cuando la homología se sitúa en el rango de 90 a 98% indica un subtipo, y cuando la identidad es mayor de 98%, se considera que es una variante. Los tipos son designados por números y los subtipos con letras, siguiendo un orden cronológico con respecto a su descripción. Actualmente se han identificado más de 200 tipos diferentes de PVH, sin embargo solo aproximadamente en 100 de ellos se ha secuenciado completamente el genoma (Burd 2003). Los que más comúnmente se han encontrado en lesiones orales son VPH-1, 2, 3, 4, 6, 7, 10, 11, 13, 16, 18, 31, 32, 33, 35, 40, 45, 52, 55, 57, 58, 59, 69 ,72 y 73) (Larraide *et al.* 1999, Jiménez *et al.* 2001).



La replicación de los virus papiloma depende del grado de diferenciación de los queratinocitos; las partículas virales maduras sólo se detectan en los núcleos de los estratos granuloso y córneo. Los efectos citopáticos que se observan en el epitelio, tales como la presencia de inclusiones intracitoplasmáticas o nucleares, o la vacuolización peri-nuclear que caracteriza a las células coilocíticas, son secundarios a la interferencia ocasionada por el virus en la diferenciación de la célula huésped. Para que haya proceso infeccioso debe haber microlesiones que permitan que los virus se pongan en contacto con las células basales del epitelio. Se sospecha que los microtraumas facilitan su acceso a las capas más profundas de piel y mucosas (Concha 2007).

Para que los VPH puedan penetrar e iniciar un proceso infeccioso se requiere una continuidad de tejidos, de manera que el virus pueda ponerse en contacto con las células permisivas, que son las células basales de los epitelios. Una vez que han infectado las células basales se inicia la replicación viral en las células espinosas. El ensamble de los viriones se lleva a cabo en estratos superiores de los epitelios cuando las células se han diferenciado (células granulares), ya que es un requisito para este evento la maduración y diferenciación de la célula. Finalmente en las células escamosas los viriones son expulsados y pueden iniciar un nuevo ciclo de infección (Cortés y Leal 2001).

REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA

La reacción en cadena de la polimerasa, conocida como PCR por sus siglas en inglés (Polymerase Chain Reaction), es una técnica de biología molecular desarrollada en 1986 por Kary Mullis, cuyo objetivo es obtener un gran número de copias de un fragmento de DNA particular, partiendo de un mínimo; en teoría basta partir de una única copia de ese fragmento original, o molde (Bartlett y Stirling 2003).

Esta técnica se fundamenta en la propiedad natural de las DNA polimerasas para replicar hebras de DNA, para lo cual emplea ciclos de altas y bajas temperaturas alternadas para separar las hebras de DNA recién formadas entre sí tras cada fase de

replicación y a continuación, dejar que vuelvan a unirse a polimerasas para que vuelvan a duplicarlas (Sambrook y Russel 2001).

El proceso de PCR por lo general consiste en una serie de 20 a 35 cambios repetidos de temperatura llamados ciclos; cada ciclo suele consistir en 2-3 pasos a diferentes temperaturas. La PCR común se realiza con ciclos que tienen tres pasos de temperatura. Los pasos de ciclo a menudo están precedidos por un choque térmico (llamado "hold") a alta temperatura (> 90°C), y seguido por otro hold al final del proceso para la extensión de producto final o el breve almacenaje. Las temperaturas usadas y el tiempo aplicado en cada ciclo dependen de gran variedad de parámetros. Éstos incluyen la enzima usada para la síntesis de DNA, la concentración de iones divalentes y dNTPs en la reacción, y la temperatura de unión de los cebadores, así como la longitud del DNA que se desea amplificar (Sambrook y Russel 2001).

Esta técnica sirve para amplificar un fragmento de DNA; su utilidad es que tras la amplificación resulta mucho más fácil identificar con una muy alta probabilidad virus o bacterias causantes de una enfermedad, identificar personas (cadáveres) o hacer investigación científica sobre el DNA amplificado. Estos usos derivados de la amplificación han hecho que se convierta en una técnica muy extendida, con el consiguiente abaratamiento del equipo necesario para llevarlo a cabo (Sambrook y Russel 2001).

DIAGNÓSTICO

En muchos de los casos las lesiones son detectadas en exámenes de rutina. (Navarro, *et al.* 2006) Se diagnostican básicamente, por el aspecto clínico de las lesiones con las respectivas biopsia de las mismas, las cuales son sometidas a un estudio histopatológico para confirmar el diagnóstico definitivo (Córdova y Jiménez 2006).

Es importante diferenciar entre HEM y otras patologías que presentan características similares, entre éstas se encuentran la Hiperplasia Inflamatoria Fibrosa, la Hiperplasia Inflamatoria Papilar, el Xantoma Verruciforme, Carcinoma Verrucoso, Enfermedad de

Cowden, Condiloma Acuminado y Síndrome Goltz-Gorlin, las tres primeras son lesiones reactivas, ante la presencia de un agente irritante. El Carcinoma verrucoso puede aparecer en diferentes grupos de edades, junto con las características epidemiológicas que son típicamente encontradas en carcinomas orales. La enfermedad de Cowden es característica de grupos de edad adulta y causa pólipos fibroepiteliales. Éstos pólipos son poco móviles y muy consistentes y presentan diferentes topografías intraorales (Hashemipour *et al.* 2010).

El diagnóstico diferencial con el Condiloma Acuminado, es necesario e importante porque las lesiones aisladas en ambas enfermedades, son similares y ambas son causadas por VPH. Las lesiones de HEM tienden a ser planas, más numerosas y a delimitarse más específicamente al labio, lengua y mucosa bucal. Igualmente es importante hacer un buen diagnóstico, porque el Condiloma Acuminado está relacionado con abuso sexual en niños y adolescentes (Leonardo *et al.* 1996, Jiménez *et al.* 2001, Jiménez y Pérez 2002, Córdova y Jiménez 2006, De la Teja *et al.* 2008).

Otras entidades patológicas que habría que tomar en cuenta para el diagnóstico diferencial por el aspecto de las lesiones son, los Nevos Epiteliales, Papiomatosis Juvenil, Verrugas Vulgares, Leucoedema de la mucosa bucal, Papiloma Escamoso Múltiple y Fibroma Traumático (Leonardo *et al.* 1996, Jiménez *et al.* 2001, Jiménez y Pérez 2002, Córdova y Jiménez 2006, De la Teja *et al.* 2008).

TRATAMIENTO

No se ha planteado una terapéutica exclusiva, debido a que estas lesiones remiten espontáneamente en un periodo de pocos meses o años, sin embargo aquellas que persisten, pueden extirparse quirúrgicamente, sobre todo si estos involucran la estética ó por la frecuencia de posibles traumatismos durante la masticación (Córdova y Jiménez 2006).

La utilización del láser de dióxido de carbono es una alternativa de tratamiento para remoción de las lesiones de la mucosa bucal, su utilización promueve la desaparición de las lesiones, con un daño mínimo a los tejidos adyacentes, y no demuestra

reincidencia por lo menos en los primeros 18 meses después de la aplicación (Rosa *et al.* 2003).

Se han aplicado otros tratamientos como el uso de crioterapia (Borborema *et al.* 2006), aplicaciones tópicas de podofilina al 25% en tintura de Benjuí, también se han utilizado electrocoagulación, ácido tricloroacético, nitrógeno líquido y retinoides orales (Ledesma *et al.* 2005). Se ha planteado la posibilidad de utilizar e inmunostimulantes antivirales como el metisoprinol, en tabletas o en jarabe (Córdova y Jiménez 2006, De La teja *et al.* 2008), y terapia con magnesio calcinado (Godoy *et al.* 2008).

En algunas comunidades se ha reportado la utilización de sustancias como sal y ceniza, raspar las lesiones con espinas, considerando que al salir la sangre, "sale la enfermedad" y además aplican tópicamente algunas resinas vegetales (Rodríguez *et al.* 2008).

La HEM predomina en niños y adolescentes, se presenta principalmente durante las dos primeras décadas de la vida; por consiguiente su frecuencia es menor en los adultos (Méndez 2003, Guerra *et al.* 2007), excepto en los esquimales en los que se presenta en grupos de edades superiores a los 30 años (Villarreal *et al.* 2001).

Aqueja por igual tanto al género femenino como al masculino, aunque algunos autores reportan una ligera predilección por el femenino (Jiménez *et al.* 2001, Segura *et al.* 2005). Puede afectar a todas las razas y todas las poblaciones, teniendo mayor presencia en algunas poblaciones como la indígena (Navarro *et al.* 2006).

Aunque la mayoría de los casos reportados han sido en indios americanos y esquimales, esta condición también ha sido registrada en multiplicidad de razas y localizaciones geográficas (Leonardo *et al.* 1996).

En cuanto a la raza, la enfermedad disminuye en mestizos y es aún más rara en caucásicos y en individuos de raza negra. Se encuentra principalmente en grupos aislados de indios de América del Norte, Centroamérica y Brasil, pueblos nativos Nórdicos y otros grupos de Europa y África (Córdova y Jiménez 2006).

Se ha presentado en individuos de ascendencia mongoloide, la enfermedad ha sido reportada en aborígenes, así como en individuos del oriente medio y en *capre colourds* (grupo racial constituida por una compleja mezcla de caucásicos hottentot (Khoi) y negros naturales de Sudáfrica (González 1999).

Pindborg afirma que el primer caso descrito presentando características clínicas e histopatológicas de HEM fue publicado en 1922, por Stern (Leonardo *et al.* 1996).

Estrada en 1956, describió la presencia de verrugas intraorales y lesiones papilomatosas en indios Caramantas en Colombia. El mismo autor verificó la presencia de esas mismas lesiones en indios Kátios, también colombianos, en el año de 1960, les tomaron biopsias y los hallazgos histológicos revelaron un tejido conjuntivo espesado y el epitelio de revestimiento se mostraba hiperplásico, las lesiones se aproximaban morfológicamente a los papilomas. Reyes en 1962, notó esa misma condición clínica en Guatemala (Citado en Rosa *et al.* 2003)

En 1964 Soneira y Fonseca describieron la lesión con sus variaciones clínicas, que van desde una pápula hasta múltiples lesiones papilomatosas en la mucosa. En los países del Centro y Sudamérica, el porcentaje alcanzado en estudios de prevalencia sobre indios americanos ha sido de un 3.5% como máximo, excepto en Venezuela donde reportaron una prevalencia de 34% entre 1,600 escolares (Córdova y Jiménez 2006).

Pero es hasta el año de 1965 con la publicación de Archard, Heck y Stanley que se dio a conocer esa patología, reportando múltiples lesiones en la mucosa oral en indios de Nuevo México (Rosa *et al.* 2003).

Durante mucho tiempo se le llamó enfermedad de Heck, por ser él quien la da a conocer, pero debido a que una revisión de la literatura de América Latina ha revelado cuatro publicaciones con anterioridad a 1965 (dos por Estrada, una por Reyes, y otra por Soneira y Fonseca), algunos autores sugieren abandonar el uso del epónimo "Enfermedad de Heck" por "Hiperplasia Epitelial Multifocal por Papilomavirus" o por "Enfermedad de Soneira-Fonseca-Heck" (Córdova y Jiménez 2006, Rosa *et al.* 2003).

Witkop y Niswander, en 1965 publicaron un estudio que incluye 7 indios xavantes brasileños, 2 Latinos de El Salvador y 2 indios Mayas de Guatemala (Guerra *et al.* 2007).

La frecuencia varía ampliamente de una región geográfica a otra, de acuerdo con los estudios realizados por Clausen en 1975, el porcentaje puede ir desde un 0.002 % hasta un 35% (Villaruel *et al.* 2001)

En este mismo año, dos jóvenes israelíes, presentaron lesiones de HEM, esto fue confirmado mediante biopsias, presentando las lesiones, características histológicas de dicha patología (Buchner *et al.* 1975).

Los tres primeros casos de HEM ocurridos en personas de Nigeria y del Oeste africano fueron presentados en la literatura por Sawyer en 1983. Aunque ya se habían sido nombrado casos semejantes en África del Sur, estos trabajos son de importancia clínica por el hecho de que son los primeros relatados en personas negras africanas (Citado en Rosa *et al.* 2003).

Se reportaron nueve casos de HEM, en caucásicos de la parte norte de Suecia, cuatro de estos ocurrieron en miembros de la misma familia (Pildgard 1984).

El primer caso relatado en Italia fue en 1989 por Ficarra, siendo esta publicación muy relevante por la rareza del apareamiento de la enfermedad en pueblos leucodermas hasta la fecha del relato.

Morrow *et al.* en 1990 relataron un caso de la lesión en un joven negro, presentando lesiones en un lugar anatómico poco común, en la encía (Citado en Rosa *et al.* 2003).

Se ha reportado un caso en una niña de Sudán. Chindia *et al.* en 1993 mencionaron la presencia de HEM en 3 niñas Kenianas.

En Guatemala en 1994, se realizó un estudio durante un periodo de 3 años, tanto en la capital como en áreas rurales, se encontraron 110 niños, la edad promedio fue de

11 años y en el 90% de los casos se les relacionó con pobreza extrema (Román y Sedano 1994, Woc 2001).

Coelho en 1999, en un estudio realizado en tribus indígenas del estado de Roraima, en el norte de Brasil, observó una prevalencia de HEM de 5,8% de los 240 individuos examinados, de los cuales 64,3% ocurrieron en hombres y 35,7% ocurrieron en mujeres (Leonardo *et al.* 1996).

En Venezuela en el año 2000 se reportó un caso de tres pacientes del mismo grupo familiar que presentaron lesiones compatibles con Hiperplasia Epitelial Multifocal las cuales fueron confirmadas mediante biopsias (Córdova y Jiménez 2006).

En el año 2000, en la población escolar rural del distrito de Mórrope, Perú se reportó una prevalencia de la enfermedad de 37.7% en 1465 casos, asociándose a factores nutricionales, pobreza y nivel de instrucción (Guevara *et al.* 2003).

Se relató un caso de un niño ecuatoriano que acudió a consulta, por presentar en la mucosa oral lesiones compatibles con el diagnóstico de HEM, mismas que fueron confirmadas en el estudio histológico y en las que se identificó el DNA del VPH genotipo 13 (Delgado *et al.* 2005).

En Europa, existe un caso descrito en Italia por Ficarra, otro en Madrid por Simon, uno en Grecia descrito por (Bassioukas *et al.*, 2000) y otros dos casos descritos por Bagán en pacientes VIH + (Segura *et al.* 2005).

En el 2006 se publicó otro reporte en el estado de Zulia y también un reporte en pacientes de las étnias Sanema y Yekuana en el estado de Bolívar, Venezuela (Navarro *et al.* 2006). En Brasil se publicó un reporte de 5 pacientes, 3 hombres y 2 mujeres de 3 a 17 años en los que se identificó el VPH 13 (Borborema *et al.* 2006).

Existe un reporte en Ecuador de un caso de una paciente femenina de 17 años, con múltiples lesiones papulosas en labio inferior y superior, compatible clínica e

histológicamente con HEM, en el estudio por reacción en cadena de la polimerasa, se detectó el VPH 13 (Vera *et al.* 2007).

Recientemente en 2010, se publicó en Irán, el caso de una niña de 12 años con lesiones orales que clínica e histológicamente correspondieron a HEM (Hashemipour *et al.* 2010).

REPORTES EN MÉXICO

En México los reportes en la literatura son escasos: el primero fue el presentado por Rojas en 1971, en una sesión clínica; posteriormente Luengas en 1987, reportó un caso familiar en Tláhuac. Uno de los trabajos más citados es el de Sedano que detectó 19 casos de HEM en 32,022 niños de escasos recursos económicos en diferentes estados de la República Mexicana, reportando una prevalencia de 0.05% donde resultaron afectados 4 niños y 15 niñas (González 1999).

Morales realizó dos estudios en diferentes años (1989 y 1995) el primero en Puebla y el segundo en el Estado de México, reportando prevalencias de 0.53%; y 0.73% respectivamente, en este último se observó la presencia de las lesiones en una población mestiza mayor de 50 años de edad (González 1999).

Posteriormente se realizó un reporte en dos comunidades del estado de México, (Chimalhuacán e Ixtlahuaca), en el que se examinaron 3,282 menores de entre 6 y 16 años, se encontraron 61 casos de HEM, con un ligero predominio de la enfermedad en niñas, se destacó la presencia de la enfermedad en grupos familiares de los niños, en los que las lesiones tenían un tiempo de evolución de 12 a 20 años. Las familias a las que pertenecían los niños eran numerosas, predominantemente campesinos de escasos recursos económicos (González 1999).

Se reportó el caso de un paciente masculino de 18 años de edad, originario de Yucatán, que acude al Servicio de Cirugía Maxilofacial del Hospital Central Militar del Distrito Federal, para su valoración y tratamiento. Se le diagnostica HEM, las lesiones tenían un tiempo de evolución de 11 años, anteriormente había sido tratado en dos

ocasiones con electrocauterio, las lesiones habían recurrido en ambas ocasiones finalmente, fue tratado con láser de Co₂ (Romero y Reyes 2001). Igualmente, se presentó un caso de una adolescente de 14 años de edad, originaria de Pinal de Amoles, Querétaro, presentaba las lesiones en labios y lengua, se le trató con crioterapia, las lesiones disminuyeron pero no continuó con el tratamiento (Méndez 2003).

Existe un estudio realizado en el hospital Manuel Gea González en el Distrito Federal, en el que reportan nueve casos con diagnóstico clínico e histológico de HEM, todos los pacientes presentaron lesiones múltiples y siempre hubo parientes directos con lesiones similares, el sitio afectado con mayor frecuencia fue la mucosa bucal, seguida por el labio inferior, paladar y comisuras. Se observó que las lesiones aparecieron con mayor frecuencia en las mujeres, (7 casos; 78%) que en los hombres (2 casos, 22%). La edad de los pacientes fluctuó entre 6 y 36 años con una edad promedio de 13.3 años. Los pacientes adultos informaron que las lesiones se presentaron en la infancia y fueron desapareciendo con la edad (Ledezma *et al.* 2005)

YUCATÁN

En el estado de Yucatán, la existe evidencia científica de la HEM es relativamente reciente; en 1999 se realizó un estudio en 2,200 escolares cuyas edades oscilaban entre 6 y 14 años, 1456 eran de áreas urbanas y 774 de áreas rurales, encontrándose 30 casos (14 en zonas urbanas y 16 en rurales) predominando la aparición de las lesiones en el sexo femenino y en el área rural (Massa 1999).

En un estudio posterior, se estudiaron a los pacientes que acudieron al Centro Dermatológico de Yucatán y a la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Yucatán, con HEM. Se describió la topografía de las lesiones en 29 casos, las zonas anatómicas más afectadas en orden decreciente fueron labio inferior, mucosa vestibular, bordes laterales de la lengua, comisuras, labio inferior porción cutánea, mucosa labial superior, paladar duro y blando y vientre lingual no encontrándose en la encía en relación al tiempo de evolución de las lesiones varió de un mes hasta 24

años en una paciente de 38. Los pacientes que acudieron eran tanto de la ciudad como del interior del estado (Lama 2003).

Se reporta un caso de un paciente masculino de ocho años de edad que acude a la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Yucatán, por presentar lesiones papilomatosas a nivel de la cavidad bucal. Las lesiones son múltiples, confluentes, con coloraciones semejantes a la mucosa, sésiles, lisas, brillantes, suaves y resilentes. Se envió al paciente al Departamento de Virología del Centro de Investigaciones Regionales "Doctor Hideyo Noguchi" de la UADY para que se practicara el examen citológico y la detección del virus del papiloma humano a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La toma de la muestra se realizó mediante el cepillado de mucosa bucal. Se empleó la técnica de oligonucleótidos específicos VPH 13, cuyo resultado fue positivo para PVH-13 (Godoy *et al.* 2008).

Yaxhachén, pertenece al municipio de Oxkutzcab, que está situado al sur del estado de Yucatán, se encuentra al sur de la cabecera municipal, a 180 Km de la ciudad de Mérida. Se localiza según el INEGI en la altitud oeste: 20° 03' 05" longitud norte: 89° 33' 55". Su altura promedio sobre el mar es de 100 metros. Tiene una superficie de 27893.243 hectáreas (Anexo 5).

Limita al sur con el municipio de Tekax, al norte con los municipios de Ticul y Santa Elena, al este con el municipio de Akil y al oeste con el estado de Campeche. Su estructura es franca y arcillosa; y su relieve es llano y montañoso. Está cercado por una serranía en los cuatro puntos cardinales.

En toda la región el clima es cálido sub-húmedo con lluvias en verano, cuando se interrumpen se presenta la sequía de medio verano. Tiene una temperatura media anual de 25.5° C y una precipitación pluvial media anual de 84.2 milímetros. La flora existente en el municipio se clasifica como selva mediana subcaducifolia con vegetación secundaria. Algunas especies son la amapola, Bojorn, Cedro, Ceiba y Balché. Existen algunos árboles frutales como papaya, ciruela, aguacate, naranja dulce, naranja agria, limón, plátano, nance, zaramullo, zapote y huaya; verduras como

calabaza, camote, macal, y elote; legumbres como el llamado *mejen bu'ul* (frijol pequeño).

La carretera principal es la única entrada y salida del pueblo, la cual está a cargo de la secretaria de vías terrestres, tiene un territorio pavimentado de aproximadamente 5 kilómetros; esta misma tiene comunicación con comisarías circunvecinas como Xhobehaltún, Xu', Xohuayán, Emiliano Zapata, hasta Oxkutzcab la cual queda aproximadamente a 36 Km.

La población está constituida por 1611 habitantes, 818 hombres (50.77%) y 793 mujeres (49.22%), aproximadamente 300 Jóvenes se encuentran como indocumentados trabajando actualmente en Estados Unidos, principalmente en las ciudades de San Francisco y Oregón, muchos de ellos aún sin cumplir la mayoría de edad (Anexo 6).

La comunidad cuenta con:

Escuela de educación inicial que alberga a 30 niños entre 2 y 4 años, preescolar con 5 maestros que alberga a 93 alumnos entre los 3 y 6 años de edad, primaria Justo Sierra Méndez con 13 grupos y 14 maestros con un total de 364 alumnos de entre 6 y 18 años de edad y escuela Telesecundaria Ignacio Allende que consta de 6 grupos y 9 maestros con un total de 120 alumnos.

JUSTIFICACIÓN

La Hiperplasia Epitelial Multifocal es una patología causada por el virus de papiloma humano, afecta la mucosa bucal, principalmente labios, carrillos, lengua y con menos frecuencia encías y mucosa palatina, su tamaño varía de 1 a 5 mm, tienen tendencia a confluir, cuando esto ocurre, pueden llegar a medir 1cm o más y pueden llegar a tener implicaciones estéticas e interferir con la función de la masticación, son de evolución crónica.

Los reportes a nivel mundial, están restringidos a ciertos grupos étnicos, e involucran pocos casos, muchos de estos han sido en Latinoamérica y se han presentado en

poblaciones con características semejantes a las comunidades rurales de Yucatán (gente de escasos recursos, desnutrición etc.)

Es una patología desconocida para médicos y odontólogos, lo que ocasiona que no sea diagnosticada y los casos se extiendan hasta convertirse en verdaderos brotes, como ocurrió en 2004 en la comunidad de Chemax en Yucatán. Dado que es una patología asociada a un virus, existe el riesgo que la falta de diagnóstico y tratamiento oportuno hagan que se desarrolle la enfermedad

En Yucatán solamente existen dos reportes documentados como tesis de licenciatura y maestría, limitándose a describir la prevalencia y la topografía de las lesiones. En los últimos años se han presentado brotes de la Hiperplasia Epitelial Multifocal en poblaciones rurales del interior del estado, por esto es importante realizar este estudio, y describir, además de las características clínicas y epidemiológicas, la identificación y tipificación de los VPH causantes de HEM.

Es necesario dar a conocer las manifestaciones de esta patología ya que podrían orientar hacia futuros programas de educación a la población promoviendo acciones enfocadas a la detección oportuna de las lesiones, para iniciar un tratamiento oportuno y temprano que evite que la enfermedad involucre a otros miembros de la comunidad. Hasta ahora se desconoce la forma de transmisión

Fue posible realizar este estudio gracias a la relación con el personal médico de la comunidad de Yaxhachén, que permitió reunir a los pacientes en las instalaciones del Centro de Salud, y al departamento de virología del Centro Regional Hideyo Noguchi para la determinación y tipificación del virus.

OBJETIVO GENERAL

Determinar las características clínicas, epidemiológicas y virológicas de los pacientes con Hiperplasia Epitelial Multifocal en la comunidad de Yaxhachén, Yucatán.

II MATERIAL Y MÉTODOS

El diseño del estudio fue prospectivo, descriptivo, no experimental y transversal

Las variables que se estudiaron fueron:

Edad, sexo, higiene bucal de los pacientes, características morfológicas, distribución de las lesiones, tiempo de evolución de las lesiones, características de la vivienda, índice de masa corporal de los pacientes, tabaquismo activo y pasivo, uso común de vasos, cubiertos o cepillo dental, papilomavirus presentes en células de las lesiones y tipificación del virus (13 ó 32) en las muestras positivas a VPH (Anexo 8).

El universo estuvo conformado por todos los pacientes con diagnóstico clínico de Hiperplasia Eitelial Multifocal que acudieron al Centro de Salud de Yaxhachén, Yucatán durante un período comprendido de Abril-Septiembre de 2009. En las unidades de observación quedaron incluidos todos los pacientes con diagnóstico clínico de Hiperplasia Eitelial Multifocal, que aceptaron participar en el estudio.

A todos los pacientes o tutores (en caso de ser menores de edad), se les informó de manera previa y clara acerca del propósito de la investigación, posteriormente a todos los que aceptaron participar, se les pidió que firmaran una hoja de consentimiento informado, en caso de no saber escribir, se les pidió que pusieran su huella digital (Anexo 1).

La participación de las personas fue voluntaria, ninguna persona se incluyó en el estudio, a menos que aceptara libremente. Se garantizó la confidencialidad de la información proporcionada en la hoja de recolección de datos (Anexo 2).

Se les informó a los pacientes que en caso de negarse a participar en la investigación o si decidían retirarse de la misma, de igual manera se les enviaría a la institución adecuada para la aplicación de su tratamiento. Igualmente que el beneficio que recibirían las personas que participaron en la investigación sería la canalización con el personal del Centro Dermatológico de Mérida, que les proporcionará tratamiento de manera gratuita.

La participación en este estudio, no representó riesgo alguno para los pacientes.

A todos los pacientes que acudieron al centro de salud de Yaxhachèn, presentando lesiones con características de HEM, se les realizó una entrevista para obtener la información necesaria para completar la hoja de recolección de datos, esta incluyó edad, sexo, peso y talla, para calcular el Índice de Masa Corporal, éste se obtuvo dividiendo el peso en kilogramos, entre el cuadrado de la talla en metros (Anexo 3). Posteriormente se les realizó un examen intrabucal para determinar los aspectos clínicos y epidemiológicos de esta patología, las lesiones se midieron con una regla milimétrica (Anexo 7, fotografía 1). Toda la información se anotó en una hoja de recolección de datos. También se tomaron fotografías de las lesiones presentes en boca, para la documentación del caso (Anexo 7).

La entrevista incluyó datos como la ocupación del jefe de familia, número de personas que habitan en la casa, si tenían familiares con lesiones similares, así como características de la vivienda (material de construcción, número de habitaciones, si contaban con servicio sanitario), y hábitos como tabaquismo y uso común de utensilios y cepillos dentales.

Antes de iniciar con la toma de las muestras, los pacientes se enjuagaron, esto con el fin de eliminar restos de alimentos, posteriormente se tomaron las muestras de las células de las lesiones por medio de un cepillado enérgico (Anexo 7, fotografía 2), se depositaron en una solución salina isotónica con antibióticos y antimicóticos (penicilina, estreptomina, gentamicina) (Anexo 7, fotografía 3), se mantuvieron a bajas temperaturas hasta su transportación al laboratorio de virología del Centro de Investigaciones Regionales de la UADY en donde se almacenaron a -70°C hasta su procesamiento, para después determinar la presencia de VPH y realizar la tipificación de los mismos.

A algunos de los pacientes se les pidió además una muestra de saliva, misma que se depositó en frascos estériles, que igual se mantuvieron a bajas temperaturas, esto se realizó para determinar la presencia del virus libre en saliva (Anexo 7, fotografía 4).

Como este padecimiento se presenta de manera frecuente en grupos familiares, se escogieron 3 de ellos y se tomaron muestras de la superficie de las mucosas de

pacientes que no tuvieran lesiones presentes, pero que algún familiar que viva en su misma casa si las tuviera, esto para determinar si el virus se encuentra presente en saliva, aún sin existir las lesiones.

IDENTIFICACIÓN DE VPH 13 y 32

Previamente a la realización de la técnica de PCR (por sus siglas en inglés) se procedió a liberar el ADN por el siguiente método: se realizó un botón celular y se resuspendió en un 1 ml de solución amortiguadora de fosfatos (PBS), para posteriormente incubarlos a 95°C por 10 minutos. Al término de la incubación se centrifugó la muestra y el sobrenadante al cual llamaremos lisado crudo se depositó en un tubo nuevo previamente marcado.

Para la identificación del VPH 13 se tomaron 10 µ del lisado crudo de todas las muestras y se procedió a realizarles PCR con iniciadores específicos para dicho genotipo (Anexo 4, tabla 1), que amplifican un segmento de 240pb del gen L1, con las concentraciones de reactivos que se indica en la tabla 2 (Anexo 4).

El esquema de amplificación que se utilizó es el siguiente: desnaturalización inicial: 94°C por 4min (1 ciclo), desnaturalización: 94°C por 30seg (38 ciclos), alineamiento: 50°C por 30seg (38 ciclos), elongación: 72°C por 30seg (38 ciclos), elongación final: 72°C por 10min (1 ciclo).

Los productos de amplificación se analizaron mediante electroforesis en un gel de acrilamida al 8% con un amortiguador de corrida TBE (tris borato EDTA) al 5X de concentración. Se utilizó un marcador de 50 pb y azul de metileno como colorante. La electroforesis se llevó a cabo durante 90 min a 15 Volts. Posteriormente los geles se tiñeron con plata, fueron revelados y visualizados por exposición a luz blanca (Anexo 4, figura 1).

Para VPH 32, se utilizaron iniciadores específicos que amplificaron una región del E2 de 820 pb. (Anexo 4, tabla 3), las concentraciones de los reactivos fueron iguales a los de VPH 13, solamente se cambiaron los iniciadores.

El esquema de amplificación fue, desnaturalización inicial: 94°C por 5min (1 ciclo), desnaturalización: 94°C por 60seg (35 ciclos), alineamiento: 42°C por 60 seg (35 ciclos), elongación: 72°C por 60seg (35 ciclos), elongación final: 72°C por 10min (1 ciclo).

Los productos de amplificación fueron analizados mediante electroforesis en un gel de acrilamida al 8% con un amortiguador de corrida TBE (tris borato EDTA) al 5X de concentración. Se utilizó un marcador de 50 pb y azul de metileno como colorante. La electroforesis se llevó a cabo durante 90 min a 15 Volts. Posteriormente los gels fueron teñidos con plata, fueron revelados y visualizados por exposición a luz blanca.

Como control positivo se utilizaran para VPH 13 muestras previamente tipificadas por enzimas de restricción y por PCR, y en el caso de VPH se utilizara un plásmido, como control negativo se utilizara en todas las reacción la mezcla de PCR sin ADN.

ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

Se diseñó una base de datos específica en un programa de cómputo, donde se capturó toda la información obtenida en el instrumento de recolección de datos. Los resultados se presentan por medio de estadística descriptiva, calculando porcentajes y frecuencias, de cada una de las variables, mismas que se representan a través de tablas en la sección de anexos (Anexo 10).

III RESULTADOS

El total de los pacientes que se incluyeron en el estudio fue de 53, todos ellos presentaron características clínicas de HEM.

El rango de edad de los pacientes estudiados fue de 4-75 años. El 89% de la población estudiada correspondió a los grupos de edad de 4 a 11 años y 12 a 19 años (Anexo 10, tabla 1).

El 75% de los pacientes pertenecieron al sexo femenino (Anexo 10, tabla 2).

El 85% presentó buena higiene bucal, esto se determinó basándose en la presencia o ausencia de materia alba (Anexo 10, tabla 3).

En lo que respecta a las características de las lesiones, en el 58% de los casos, las lesiones midieron 5mm o más, esto por la característica tendencia a confluir (Anexo 7, fotografía 7). El 42% midió entre 2 y 4.9mm (Anexo 10, tabla 4).

El 96% de las lesiones fueron múltiples, sólo 2 pacientes presentaron lesiones únicas (Anexo 10, tabla 5).

El 72% de las lesiones tenían superficie lisa, 22% rugosa, y el 6% de los pacientes presentaron lesiones lisas como rugosas (Anexo 10, tabla 6).

Todas las lesiones fueron del mismo color que el de la mucosa bucal. (Anexo 10, tabla 7).

El 34% de las lesiones se presentaron en el labio inferior y el mismo porcentaje en la lengua y en menor proporción en labio superior y en carrillos, no se encontraron en mucosa palatina ni en encía (Anexo 10, tabla 8). En todos los casos, el padecimiento fue asintomático.

El tiempo de evolución de las lesiones varió de 2 meses hasta 17 años, 64% de los pacientes refirió un tiempo de aparición de las lesiones, de 1 a 5 años (Anexo 10, tabla 9) esta condición, se presentó más frecuentemente en los grupos de edad de 4-11 años y de 12-19 años (Anexo 10, tabla 10).

En relación a las características de la vivienda se encontró que el 66% cuenta con servicio sanitario (Anexo 10, tabla 11), el 60% posee suelo de cemento, seguido por piso de tierra y en menor proporción de ladrillos (Anexo 10, tabla 12). El 62% de las viviendas solo tiene una habitación (Anexo 10, tabla 13). En cuanto al material de construcción de paredes y techo, el 36% son de cemento, seguido por huano y bajareques (Anexo 10, tabla 14), (Anexo 9, glosario).

El número de ocupantes por vivienda en su mayoría es alto, principalmente de 9 o de 6 personas, con variaciones que van de 2 a 13 habitantes (Anexo 10, tabla 15).

El Índice de Masa Corporal se presentó de la siguiente manera el 51% estuvo en la categoría de peso normal, y en orden descendente infrapeso, obesidad y sobrepeso (Anexo 10, tabla 16).

La exposición al tabaco fue poca, solamente un paciente reportó tabaquismo activo y 2 tabaquismo pasivo, 50 pacientes negaron fumar ni ellos algún otro habitante de su casa (Anexo 10, tabla 17).

El 72% de los pacientes dijo compartir vasos y cubiertos, únicamente 1 de ellos además dijo compartir el cepillo de dientes (Anexo 10, tabla 18).

En relación a la tipificación del VPH, de las 53 muestras tomadas de la superficie de las lesiones, dos no amplificaron para beta globinas, lo que implica que el ADN no era adecuado, por lo que fueron excluidas del estudio virológico, mas no del clínico y epidemiológico, las 51 restantes dieron positivas a VPH 13. Igualmente, se tomaron 32 muestras de saliva y el 100% dieron positivas a VPH 13 (Anexo 10, tabla 19).

IV DISCUSIÓN

La HEM ya ha sido documentada previamente en Yucatán, sin embargo no existen hasta la fecha publicaciones que incluyan un estudio completo, y mucho menos la búsqueda de los virus en individuos sanos, por lo anterior y la escasez de la literatura, es considerado el aporte de esta tesis de gran valor científico.

En este trabajo se encontró, que las lesiones predominaron en pacientes de las dos primeras décadas de vida, como reportan la mayoría de los autores como Villarroel en 2001, Méndez en 2003, Guerra en 2007. Sin embargo también se presentaron en pacientes adultos (35, 38 y 73 años) con HEM, lo cual es inusual y poco reportado. En México previamente Morales, ya había reportado HEM en una población de sujetos mayores de 50 años del Estado de México, tal como lo asevera González en 1995. Estos hallazgos llevan a plantear la necesidad de hacer una búsqueda intencionada en adultos de comunidades afectadas, ya que podrían ser muchos más los afectados que no son identificados. Así mismo la presencia de HEM en adultos obliga a replantear la evolución natural de la enfermedad, ya que es bien aceptado que es una entidad de la infancia que desaparece en la adolescencia tal como lo reportaron Segura en 2005 y Borborema en 2006.

En lo que respecta al sexo, se ha reportado que se presenta por igual a hombres y mujeres, sin embargo autores como Jiménez en 2001 y Segura en 2005, reportan una ligera predilección por las mujeres, en este estudio el porcentaje concuerda con estos últimos autores ya que el 75% fueron mujeres.

Según los reportes de Córdova y Jiménez en 2006, la mala higiene es un elemento de importancia etiológica, en el presente estudio el 85% de los pacientes presentó buena higiene. Aunque ningún autor ha dilucidado el mecanismo por el cual la mala higiene podría ser un co-factor para el desarrollo de la HEM, sí está bien documentado que esta causa un problema inflamatorio en las encías, lo que facilitaría el ingreso del virus a través de microlesiones, que permiten que los virus se pongan en contacto con las células basales del epitelio, paso inicial y obligatorio en el proceso infeccioso.

La presentación clínica de la HEM coincide con los estudios realizados en comunidades de Latinoamérica. Según De la Teja en 2008, el tamaño varía de 1 a 5mm y a veces llegan a medir hasta 1cm, cuando coalescen, tal como lo encontrado en este reporte. Presentándose en el 96% de los pacientes, lesiones múltiples (Anexo 7, fotografía 6) y con tendencia a confluir (Anexo 7, fotografía7), lo que hace el problema más evidente y motivo de preocupación estética.

Según Guevara en 2003 y Córdova y Jiménez en 2006, la superficie puede ser lisa o rugosa, en Yaxhachén se encontraron lesiones con superficie lisa, en menor caso rugosa y algunos pacientes presentaron lesiones con ambos tipos de superficie. Las lesiones con superficie rugosa son más llamativas ya que dan un aspecto de empedrado a la mucosa.

En cuanto a la coloración, las lesiones pueden ser blancas, igual a la mucosa ó moteadas, la totalidad de los pacientes presentó una coloración similar a la mucosa.

Se ha reportado lesiones en labio superior (Anexo 7, fotografía 8) e inferior, lengua, mucosa bucal, paladar y encía. En este estudio no se presentaron lesiones en paladar ni encías y la lengua (Anexo 7, fotografías 10 y 11) y labio inferior (Anexo 7, fotografía 9), fueron las zonas más involucradas. Otros autores como Navarro en 2006, han reportado preferencia por lengua y labio inferior.

En la literatura se reporta que las lesiones son benignas y de remisión espontánea, aunque este estudio es de corte transversal y no permite evaluar la evolución de la patología, si es de llamar la atención la presencia de pacientes hasta con 17 años de evolución, lo cual no es usual, pero ya ha sido reportado previamente en pacientes mexicanos. Uno de los casos lo documentaron Romero y Reyes en el 2001, de un paciente masculino de 18 años de edad, con 11 años de evolución y de origen yucateco. Lama en 2003, reportó 24 años de antigüedad en una paciente femenina de 38 años. Muchas investigaciones se han centrado en infantes y han ignorado a los adultos, este podría ser el motivo por el cual las lesiones de larga evolución son poco reportadas. A medida que se involucre más a los adultos en los estudios de HEM, podría encontrarse que en realidad hay todo un espectro de evolución y no es la

remisión espontánea la evolución más frecuente. Para poder evaluar adecuadamente la evolución natural de la infección es indispensable realizar estudios longitudinales que permitan seguir en el tiempo a estos pacientes. Así mismo es indispensable identificar cuáles son los factores involucrados en la remisión o persistencia de las lesiones, factores que hasta el momento actual se desconocen. En el presente estudio, no se encontró que exista una relación directamente proporcional entre la edad y el tiempo de evolución, como pudiese pensarse.

No existe un protocolo único de tratamiento para la HEM, se ha utilizado cirugía, laser de dióxido de carbono, crioterapia aplicaciones tópicas de al 25% de podofilina. También se ha utilizado electrocoagulación, ácido tricloroacético, nitrógeno líquido y retinoides orales. Igualmente inmunostimulantes antivirales como el metisoprinol, en tabletas o en jarabe, terapia con magnesio calcinado esto ha sido reportado por Rosa *et al.* en 2003, Ledesma en 2005, Córdova y Jiménez en 2006, Borborema en 2006 De La teja *et al.* en 2008 y Godoy *et al.* en 2008.

En algunas comunidades se ha reportado la utilización de sustancias como sal y ceniza, raspar las lesiones con espinas, considerando que al salir la sangre, sale la enfermedad y además aplican tópicamente algunas resinas vegetales, esto en un estudio realizado por Rodríguez *et al.* en 2008, acerca de la percepción y experiencias frente a este padecimiento en una comunidad indígena (huitoto/ticuna) del amazonas colombiano.

En el Centro Dermatológico de Yucatán, se han utilizado crioterapia, cirugía y ácido tricloroacético. Cada uno de ellos tiene sus ventajas y desventajas. En caso de lesiones muy grandes, la cirugía es el tratamiento de elección, con la crioterapia se requieren menos sesiones, pero resulta dolorosa por el proceso inflamatorio que causa, lo que hace que muchos pacientes no regresen a las siguientes sesiones. El ácido tricloroacético se aplica localmente en terapias semanales, es bien tolerado, sin embargo se requiere un mayor número de sesiones, que con la crioterapia para ver los resultados (Comunicación personal) En el caso de los 53 pacientes estudiados, solamente 2 dijeron haber recibido tratamiento pero no pudieron identificarlo.

La malnutrición, higiene y hacinamiento, han sido identificados como factores relacionados con la HEM por Córdova y Jiménez en 2006, sin embargo hay que mencionar que para poder identificar factores asociados se tienen que realizar estudios de casos-controles, cosa que no se ha hecho. Solamente existe uno realizado en Colombia en 2006 por Cuberos, pero no se analizaron las variables antes mencionadas, lo que hace imperante realizar estudios para dilucidar cuáles son los factores que están involucrados en la génesis de la HEM.

Se describieron las características de las viviendas para tener una idea, acerca del modo en el que viven los habitantes de esta comisaría, pero de estas variables, una que ha sido descrita por Córdova y Jiménez en 2006 como un elemento de importancia etiológica es el hacinamiento y en este caso el 62% de las viviendas cuenta con una sola recámara y el número de personas que habitan en ellas es, de 6 (17%) y 9 (17%).

Además se han mencionado la pobreza, la desnutrición etc. Se ha descrito que la deficiencia de ciertas vitaminas puede estar asociada a la presencia de HEM, lo que llevó a determinar el IMC como marcador indirecto del estado nutricional. En el trabajo se encontró que el 50% se encuentran en el peso adecuado, y por ende bien nutridos. Sin embargo el uso de IMC tiene no es el instrumento adecuado pero sí el más fácil de obtener. Para poder valorar el papel de la deficiencia de vitaminas en la HEM sería necesario medir concentración de vitaminas en suero. Lo anterior no es fácil por el costo y por la resistencia habitual de los sujetos a permitir que se les extraiga sangre venosa.

Diversos estudios han puesto de manifiesto que el tabaquismo causa cambios en el sistema inmune que hacen a los sujetos menos inmunocompetentes, tal como lo reportan Roma *et al.* en el año 2000. Así mismo existen evidencias de que el tabaquismo es un factor para el establecimiento y persistencia de la infección de VPH en el tracto genital, esto reportado por Giuliano *et al.* en 2002. En ese contexto teórico se decidió evaluar la presencia de tabaquismo pasivo y activo en los pacientes con

HEM. En el estudio, el tabaquismo fue un evento aislado, ya que solamente 3 pacientes reportaron tabaquismo, dos pasivos y uno activo.

En el estudio de Cuberos realizado en Colombia en 2006 reportó el uso compartido de cucharas y cepillo de dientes y también la relación familiar, aunque mencionó que no fue posible demostrarlo de una manera estadísticamente significativa. En este caso aunque el 70% utilizaban comúnmente vasos y cubiertos, solo el 1.9% aceptó utilizar el mismo cepillo.

La HEM se considera una enfermedad familiar, debido a que más de un miembro se encuentra afectado. El 66% de los pacientes reportaron tener familiares directos con lesiones similares, lo que confirma la hipótesis de que se trata de una patología familiar, coincidiendo con lo reportado por Ledesma en México en 2005, Guerra en Venezuela en 2007 y Rodríguez en Colombia en 2008. Lo que no queda claro es si el origen es por predisposición genética o por transmisión intrafamiliar. Los resultados obtenidos de la presencia del virus en familiares sin lesiones (Anexo 11), abre una línea de investigación sobre la posible transmisión intrafamiliar por medio de la saliva lo cual ha sido sugerido por otros autores como Ledesma y De la teja en México, Guerra en Venezuela y Rodríguez en Colombia.

Actualmente no existe ninguna duda de la presencia de los VPH 13 y 32 en las lesiones de la HEM. En la población estudiada el 100% de las muestras, tanto de células de la mucosa oral como de saliva tenían DNA de VPH 13 (Anexo 12). Estos resultados son semejantes a los encontrados previamente en otra comunidad rural del estado de Yucatán, Chemax, (datos no publicados), lo que pone de manifiesto que en Yucatán el genotipo 13 es el responsable de HEM. Estos resultados son similares a los reportados previamente para pacientes mexicanos, donde ha predominado el VPH 13, tal como lo han mencionado Hernández *et al.* en 1987 y García *et al.* en 2004, el genotipo 32 se ha encontrado con menor frecuencia.

Lo relevante de este estudio es la cantidad de pacientes con lesiones que se presentaron en una sola comunidad, ya que la mayoría de los reportes de la literatura son de pocos casos. Además de las muestras reportadas en este estudio, se

encontraron más de 30 casos en la cabecera municipal, pero no fueron incluidos porque ya se les estaba aplicando un tratamiento. Lo anterior hace suponer que se está ante una patología endémica en la región y que no ha sido estudiada, por lo que se hace indispensable la capacitación a dentistas y médicos pasantes de servicio social, para la identificación de la patología y aplicación del tratamiento.



V CONCLUSIONES

La HEM está presente en la población rural del área maya, al parecer de una forma endémica. Se trata de una patología presente en niños y adultos, con predominio de los primeros, con tiempos de evolución muy variables, pero con casos que involucran años de aparición. No existe una relación directamente proporcional entre la edad y el tiempo de evolución de las lesiones. La mayoría de éstas, son múltiples y confluyen, siendo la lengua y el labio inferior los sitios anatómicos predilectos para la aparición de las lesiones.

El VPH 13 se encontró involucrado en todos los casos y también presente en la cavidad oral de sujetos sin lesiones que conviven con los pacientes, es importante realizar estudios para identificar cuáles son los factores involucrados en la aparición de las lesiones.

La HEM afecta a grupos familiares, aunque no es claro el modo de transmisión.

La presencia de VPH 13 en la saliva podría ser un indicador de transmisión por medio de objetos contaminados de uso común.

Es importante capacitar a los pasantes de servicio social para que reconozcan la patología y den tratamiento, así como realizar estudios que permitan conocer la magnitud el problema en la península y conocer más sobre la evolución natural de la infección por VPH 13.

VI REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bassioukas, K.; Danielides, I.; Georgiou, E.; Zagorianakou, A. y A. Skevas, (2000) "Oral focal epithelial hyperplasia" en *European journal of dermatology*. Vol 10, número 5. Julio-Agosto 2000, pp. 395-397.

Beaudenon, S.; Praetorius, F.; Kremsdorf, D.; Lutzner, M.; Worsaae, N.; Pehau, G. y G. Orth, (1987) "A new type of human papillomavirus associated with oral focal epithelial hyperplasia" en *J Invest Dermatol*. Vol 88, número 2, Febrero 1987, pp 130-135.

Borborema, C.; De Castro, M.; Benevides, P.; Talhari, S. y S. Astolfi, (2006) "Oral focal epythelial hiperplasia: report of five cases" en *Brazilian Dental Journal*. Vol 17, número 1, pp. 79-82.

Buchner, A.; Bubis, J. y Y. Ramon, (1975)"Ultrastructural study of focal epitelial hiperplasia" en *Cirugía oral, medicina oral y patología oral*. Vol 39, número 4. Abril 1975, pp. 622-629.

Burd, E., (2003) "Human papillomavirus and cervical cancer" en *Clin Microbiol Rev*. Vol 16, número 1. Enero 2003, pp. 1-17

Campos, B., Vargas, J.; Jorge, J. y O. Paes, (2005) "Extensive focal epithelial hyperplasia: case report" en *J Can Dent assoc*. Vol 71, número 10. Noviembre 2005, pp. 769-771.

Concha, M., (2007)"Diagnóstico y terapia del virus de papiloma humano" en *Rev Chil Infect*. Vol 24, número 3, pp. 209-214.

Córdova, L. y C. Jiménez, (2006). "Hiperplasia epitelial multifocal, reporte familiar-revisión de la Literatura" en *Revista Latinoamericana de Ortodoncia y Odontopediatria*[en línea](n.d.)URLdisponible en:http://www.ortodoncia.ws/publicaciones/2006/hiperplasia_epitelial_multifocal [Accesado el 10 de Octubre de 2008].

Cortes, E. y CH Leal, (2001) "Papilomavirus humano, biología molecular y patogénesis" en *Revista de salud pública y nutrición*. Vol 2, número 2. Abril, pp. 1-8.

Cuberos, V.; Pérez, J.; López, C.; Castro, F.; González, L.; Correa, L.; Sandjemente, G.; Gaviña, A.; Müller, M. y G. Sánchez, (2006) "Molecular and serological evidence of the epidemiological association of HPV13 with focal epithelial hyperplasia. A case-control study" en *Journal of Clinic Virol*. Vol 37, número 4, pp. 21-26.

Chindia, M.; Awange, D.; Guthua, S. y D. Mwaniki, (1993) "Hiperplasia epitelial focal (enfermedad de Heck) en tres niñas Kenianas: reporte de un caso" en *Journal de medicina del este de África*. Vol 70, número 9. Septiembre 1993, pp. 595-596.

Da Costa, L.; Da Silveira, F.; Batista, J. y E. Birman, (1994) "Human papillomavirus-its association with epitelial proliferative lesions" en *Braz Dent J*. Vol cinco, número 1. pp. 5- 10.

De Andrade, S.; Gadelha, M.; Alves, K.; Batista, L.; De Almeida, R.; De Lisboa, A. y A. Costa, "Focal epitelial hiperplasia (Heck's disease) in Brazilian indian descent: report of a case" en *J Bras Patol Med Lab*. Vol 46, número 6. Diciembre 2007, pp. 431- 434.

Degener, A.; Lainol, L.; Pierangeli, A.; Accappaticcio, G.; Innocenzi, D. y S. Pala, (2004) "Human papillomavirus-32-positive extragenital bowenoid papulosis (PB) in HIV patient with typical genital BP localization" en *Sex Trans Dis*. Vol 31, pp. 610-622.

De la Teja, E.; Martínez, B.; Téllez, J.; Ramírez, L.; Durán, A. y A. Cadena, (2008) "Hiperplasia epitelial multifocal. Manifestaciones bucales en niños. Revisión de la literatura" en *Acta pediátrica mexicana*. Vol 29, número 1. Enero-Febrero 2008, pp. 31-35.

Delgado, Y.; Torrelo, A.; Colmenero, I. y A. Zambrano, (2005) "Hiperplasia Epitelial Focal" en *Actas dermosifiliográficas*. Vol 96, número 10, pp. 697-699.

Flores, L.; Silva, S.; Concetta, A. y M. Mérida, (2009) "Hiperplasia epitelial focal (enfermedad de Heck): presentación de un caso" en *Odous científica*. [en línea]. Vol 5, número 2. Disponible en <http://servicio.cid.uc.edu.ve/odontologia/revista/v5n2/v25.pdf>. [Fecha de acceso Septiembre 2009].

García, C.; Vega, E.; Mosqueda, A.; Yamamoto, J.; Rodríguez, A.; Ruiz, J.; Salgado, M. y Granados, J. (2004) "Association of HLA-DR4 (DRB1*0404) with human papillomavirus infection in patients with epithelial focal hyperplasia" en *Arch dermatol*. Vol 140, Octubre 2004, pp. 1227-1231.

Giuliano, A.; Sedjo, R.; Roe, D.; Harri, R.; Baldwi, S.; Papenfuss, M.; Abrahamsen, M. y P. Inerra, (2002) "Clearance of oncogenic Human Papillomavirus (HPV) infection: effect of smoking" en *Cancer Causes Control*. Vol 13, pp. 839-846

Godoy, C.; Villamil, J.; González, M. y E. Lama, (2008) "Hiperplasia epitelial focal/enfermedad de Heck" en *Revista Mexicana de Odontología Clínica*. Vol 2, número 9. Pp. 18-19.

González, B., (1999) "Hiperplasia epitelial focal en la cavidad bucal. Reporte de casos en dos comunidades de México" en *Ciencia Ergosum*. Vol 6, número 3, pp. 253-256.

González, L.; Gaviria, A.; Sanclemente, G.; Grady, P.; Tying, S.; Roman, C.; Correa, L. y G. Sánchez, (2005) "Clinical histopathological and virological finding in patients with focal epithelial hyperplasia from Colombia" en *International Journal of Dermatology*. Vol 44, pp. 274-279.

Guerra, M.; Martín, A.; Mata, M.; Montes, A.; Sougbe, R. y M. Villaroel, (2007) "Hiperplasia Epitelial Multifocal. Estudio en un grupo de niños indígenas venezolanos" en *Acta odontológica Venezolana*. Vol 45, número 3, pp. 426-428.

Guevara, A.; Blondet, J. y V. Llerena, (2003) "Prevalencia y distribución de la hiperplasia epitelial focal en la población escolar de Mórrope - Lambayeque -Perú" en *Folia Dermatológica*. Vol 14, número 1. Marzo-Abril 2003, pp. 15-20.

Gunnell, A.; Trung, N.; Torrang, A.; Dickman, P.; Sparén, P.; Palmgren, J. y N. Ylitalo, (2006) "Synergy between cigarette smoking and human papillomavirus type 16 in cervical cancer *in situ* development" en *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* Vol 15, número 11. November 2006, pp. 2114- 2147.

Hashemipour, M.; Shoryabi, A.; Shahrzad, A. y H. Mehrabizadeh, (2010) "Extensive Focal Epithelial Hyperplasia" en *Arch Iran Med.* Vol 13, número 1 Enero 2010, pp. 48-52.

Henke, R., Milde, K.; Lönning, T. y H. Stromme, (1987) "Human papillomavirus type 13 and focal epithelial hyperplasia of the oral mucosa: DNA hybridization on paraffin-embedded specimens" en *Virchows Arch A.* Vol 411, pp. 193-198.

Hernández, P.; Eriksson, S.; Tamayo, R.; Pettersson, U. y J. Moreno, (1987) "Human Papillomavirus Type 13 DNA in Focal Epithelial Hyperplasia Among Mexicans" en *Arch Virol.* Vol 93, pp. 131-137.

Ho, G.; Kadish, A.; Burk, R.; Basu, J.; Palan, P.; Mikhail, M. y S. Romney, (1998) "HPV 16 and cigarette smoking as risk factors for high-grade cervical intra-epithelial neoplasia" en *Int. J. Cancer.* Vol 78, pp. 281-285.

Jiménez, C. y C. Pérez, (2002) "Estudio clínico - patológico retrospectivo de papiloma de la mucosa bucal en una población Venezolana" en *Acta odontológica Venezolana.* Vol 40, número 1. Enero 2002, pp. 31-35.

Jiménez, C.; Correnti, M.; Saima, N.; Cavazza, M. y M. Perrone, (2001) "Detección del virus papiloma humano en entidades clínicas benignas de la cavidad bucal, mediante la reacción en cadena de la polimerasa e hibridación molecular" en *Acta odontológica Venezolana.* Vol 39, número 2. Abril 2001, pp.10-15.

Lama, E., (2003) Topografía de hiperplasia epitelial multifocal en cavidad bucal de pacientes de consulta odontológica y dermatológica en Mérida, Yucatán. Tesis de maestría. México, Universidad Autónoma de Nayarit.

Larraide, M., Iribarén, M.; Giacchetti, A. y M. Género, (1999) "Verrugas anogenitales en la infancia" en *Pediatría práctica*. Vol 97, número 1, pp. 39-42.

Ledesma, C.; Vega, E.; Garcés, M.; Cardiel, M. y C. Juárez, (2005) "Hiperplasia multifocal del epitelio: Reporte de nueve casos" en *Medicina oral, patología ora y, cirugía Bucal*. Vol 10, número 5. Noviembre-Diciembre 2005, pp. 394-401.

Leonardo, Y.; Nouel, A. y H. Bogaert, (1996) "Hiperplasia focal epitelial. Un estudio retrospectivo de su comportamiento en los últimos seis años, en la República Dominicana. (1990-1995)" en *Revista Dominicana de Dermatología*. [En línea], Volumen 23, número 1. Enero - Diciembre 1996. Disponible en http://www.infocompu.com/adolfo_arthur/hiperplasia%20focal%20epitelial.htm [accesado el 13 de Noviembre de 2008].

Limongi, L. y C. Jiménez, (2006) "Prevalencia de la infección por virus papiloma humano en la cavidad bucal en pacientes pediátricos" en *Acta odontológica venezolana*. [En línea] Vol 44, número 2. Venezuela, disponible en: http://www.actaodontologica.com/ediciones/2006/2/papiloma_humano_cavidad_bucal.asp [fecha de acceso Octubre de 2008]

Marvan, E. y N. Firth, (1998) "Focal epithelial hyperplasia in an HIV positive man. An illustrated case and review of the literature" en *Australian Dental Journal*. Vol 43, número 5, pp. 305- 310.

Massa, O., (1999) Prevalencia de la hiperplasia epitelial focal en escolares de 6 a 14 años de edad, del estado de Yucatán. Tesis de licenciatura. México, Universidad Autónoma de Yucatán.

Mata, M.; Fermín, Y.; Oliver, M. y A. Rondón, (1996) "Hiperplasia epitelial focal: reporte de cuatro casos" en *Derm Venez*. Vol 34, pp. 29-32.

Méndez, E., (2003) "Hiperplasia epitelial focal (enfermedad de Heck). Reporte de un caso" en *Revista Mexicana de Pediatría*. Vol 70, número 3. Mayo-Junio 2003, pp. 132-134

Mijares, A.; Suárez, C.; Castro, R.; Agudo, E. y C. Fuentes, (2007) "Tipificación del virus de Papiloma humano, relación con el carcinoma de cavidad oral" en *Revista Venezolana de oncología*. Vol 19, número 4. Diciembre 2007, pp. 321-331.

Millán, I. y E. Ronald, (2006) "Conocimiento actual sobre el virus papiloma humano (VPH) y su relación en la cavidad bucal y en el periodonto" en *Acta odontológica Venezolana*. Vol 44, número 1. Enero 2006, pp. 114-121

Navarro, L.; Ordaz, K.; Lacruz, B. y Y. Moret, (2006) "Prevalencia de la hiperplasia epitelial focal en pacientes de las étnias Sanema y Yekuana. Estado Bolívar, Venezuela" en *Acta odontológica Venezolana*. Vol 44, número 3. Diciembre 2006, pp. 364-370.

Pfister, H.; Hettich, I.; Runne, U., Gissmann, L. y G. Chiff, (1983) "Characterization of Human Papillomavirus type 13 from Focal Epithelial Hyperplasia Heck" en *Journal of Virology*. Vol 47, número 2. Agosto 1983, pp. 363-366.

Pilgard, G., (1984) "Focal epithelial hyperplasia Report of nine cases from Sweden and review of the literature" en *Oral surgery, oral medicine and oral pathology*. Vol 57, número 5. Mayo 1984, pp. 540-543.

Praetorius, F., (1973) "Geographical aspects of oral focal epithelial hyperplasia" en *Pathologia et Microbiologia*. Vol 39, número 3, pp. 204-213.

Rodríguez, M.; Guzmán, Y.; Tejada, P.; Sánchez, R. y C. Rodríguez, (2008) "Percepción y experiencias frente a la hiperplasia epitelial focal en una comunidad indígena huitoto/iticuna del amazonas colombiano" en *Rev Fac Med*. Vol 56, número 2. Pp. 101-108.

Roma, K.; Shashi, P.; Savage, S. y G. Finch, (2000) "Effects of cigarette smoke on immune response: chronic exposure to cigarette smoke impairs antigen-mediated signaling in T cells and depletes IP3-sensitive Ca²⁺ stores" en *Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. Vol 293, pp 166-171

Román, C. y H. Sedano, (1994) "Multifocal papiloma virus epitelial hiperplasia" en *Cirugía oral, medicina oral y patología oral*. Vol 78, número 6. Diciembre 1994, pp. 631-635.

Romero, C. y J. Reyes, (2001) "Hiperplasia epitelial focal (enfermedad de Heck). Presentación de un caso" en *Med Oral*. Vol 3, número 3. Julio- Septiembre 2001, pp. 118-121.

Rosa, N.; Gedoz, L.; Hildebrand, L.; Carvalho, A. y M. Chevarria, (2003) "Hiperplasia epitelial focal ¿Por qué enfermedad de Heck?" en *Avances en odontoestomatología*. Vol 19, número 5. Septiembre-Octubre 2003, pp. 239-247.

Sanclemente, G.; Victoria, L.; Gaviria, A.; Cuberos, V.; Correa, L.; López, C.; Pérez, J. y G. Sánchez, (2004) "Evidencia molecular y serológica de la asociación del VPH-13 con la hiperplasia epitelial focal en la comunidad indígena embera-chami de Jardín Antioquia-Colombia en *Iatreia*. [En línea]. Vol 17, número 3. Disponible en www.iatreia.udea.edu.co/index. [Fecha de acceso Septiembre de 2008]

Sapp, P.; Eversole, L. y G. Wysocki, (2005) *Patología oral y maxilofacial contemporánea*. Segunda edición. España, Elsevier.

Segura, R.; Toro, M.; Ceballos, A.; Aparicio, J. y H. Fuentes, (2005) "Hiperplasia epitelial focal. Una rara enfermedad en nuestro medio" en *Medicina oral, patología oral y cirugía bucal*. Volumen 10, número 2. Marzo-Abril 2005, pp. 128-131.

Vera, E.; García, M.; Sánchez, P.; Romero, G. y P. Cortina, (2007) "Focal epithelial hyperplasia" en *Actas dermosifiliogr*. Vol 98, pp. 621-623.

Villarreal, M.; Barrett, A.; Henning, M.; Mijares, M.; Blanco, A., Correnti, M. y M. Matas, (2001) "Hiperplasia Epitelial Focal. Estudio en un Grupo de Indígenas Venezolanos" en *Gaceta Médica de Bilbao* Vol 98, número 31

Woc, L. (2001) Tipificación molecular del virus de papiloma humano en hiperplasia multifocal epitelial y papilomatosis respiratoria juvenil en pacientes pediátrico-

adolescentes en Guatemala. Tesis de licenciatura. Guatemala, Universidad Francisco Marroquín.

VII ANEXOS

ANEXO 1

HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

_____, Yucatán a ____/____/____

Estoy de acuerdo en participar en el proyecto de investigación titulado "Estudio clínico, epidemiológico y virológico de la hiperplasia epitelial multifocal en una comunidad rural del estado de Yucatán, el cual es realizado por la Dra. María del Refugio González Losa, del Centro de Investigaciones Regionales Dr. Hideyo Noguchi perteneciente a la Universidad Autónoma de Yucatán y CD. María Eugenia López Villanueva de la Facultad de Odontología de la misma Universidad.

Manifiesto que he recibido información acerca de las lesiones que se presentan en mi boca.

Estoy de acuerdo en contestar un cuestionario y en dejar que me tomen fotografías y una muestra de las células de las lesiones presentes en la boca. Esta muestra será usada para saber si en las lesiones hay un virus llamado papiloma humano, se me ha informado que esto no presenta ningún riesgo para mi salud.

Entiendo que en el cuestionario se hacen preguntas sobre mi historia personal, pero son necesarias para poder llevar adelante la investigación.

Se me ha mencionado que cualquier información obtenida sobre mi persona será confidencial y anónima, y mi nombre y apellido no aparecerá en ninguna publicación.

Reconozco que no estoy obligado a participar en éste proyecto y se me informó que no recibiré ningún dinero, ni me costará participar en dicha investigación. El beneficio personal que recibiré, es que se me brindará el tratamiento adecuado de manera gratuita.

Puedo pedir información acerca del estudio y realizar preguntas del mismo, comunicándome con la Dra. María del Refugio González Losa al tel. 924-64-12 ó con la CD. María Eugenia López Villanueva al tel. 924-30-46.

Mi participación es voluntaria y si decido ser parte del estudio ahora y después retirarme puedo hacerlo sin ninguna penalidad.

Yo, voluntariamente estoy de acuerdo en firmar este formulario y doy libremente mi consentimiento para participar en este estudio.

Nombre:

Firma

(Nombre y firma de alguno de los padres o tutor en caso de ser menor de edad)

Nombre y firma del investigador

Testigo



Huella digital

ANEXO 2

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Fecha: _____

Nombre del paciente _____

Dirección _____

Edad _____

sexo: M E

Peso _____

talla _____

IMC _____

Higiene bucal (presencia de materia alba): buena mala

Grado de estudios _____

Ocupación del jefe de familia _____

Características de las lesiones

Coloración _____

Tamaño _____

Superficie: lisa rugosa

Únicas múltiples con tendencia a confluir

Tiempo de aparición _____

Ha recibido algún tratamiento anteriormente:

Si No

¿Cuál? _____

Presenta alguna molestia: Si No _____

Localización anatómica de las lesiones

- () Labio superior () encía
() Labio inferior () mucosa palatina
() Lengua (especificar) _____
() Carrillos

Características de la vivienda

Cuenta con servicio sanitario:

Si No

Tipo de suelo _____

¿Cuántas piezas hay en su casa? _____

Material de construcción de paredes y techo _____

¿Cuántas personas viven en su hogar? _____

¿Alguien en la casa fuma?

Si No

¿Algún familiar presenta el mismo tipo de lesiones?

Sí No parentesco _____

¿Comparten vasos, cubiertos o cepillos de dientes? SI () NO ()



Huella digital

(Nombre y firma de alguno de los padres o tutor en caso de ser menor de edad)

ANEXO 3

ÍNDICE DE MASA CORPORAL

$$\frac{pcso(kg)}{talla^2(m^2)}$$

El Índice de Masa Corporal se calcula dividiendo el peso en kilogramos entre el cuadrado de la talla en metros.

El valor obtenido no es constante, sino que varía con la edad y el sexo. También depende de otros factores, como las proporciones de tejidos muscular y adiposo.

Tabla: clasificación internacional de la OMS (Organización Mundial de la Salud) del estado nutricional (infra peso, sobrepeso y obesidad) de acuerdo con el IMC (Índice de Masa Corporal).

Clasificación	IMC (kg/m ²)	
	Valores principales	Valores adicionales
Infra peso	<18,50	<18,50
Delgadez severa	<16,00	<16,00
Delgadez moderada	16,00 - 16,99	16,00 - 16,99
Delgadez aceptable	17,00 - 18,49	17,00 - 18,49
Normal	18,50 - 24,99	18,50 - 22,99
		23,00 - 24,99
Sobrepeso	≥25,00	≥25,00

Pre obeso	25,00 - 29,99	25,00 - 27,49 27,50 - 29,99
Obeso	≥30,00	≥30,00
Obeso tipo I	30,00 - 34,99	30,00 - 32,49 32,50 - 34,99
Obeso tipo II	35,00 - 39,99	35,00 - 37,49 37,50 - 39,99
Obeso tipo III	≥40,00	≥40,00

Estos valores son independientes de edad y son para ambos sexos.

ANEXO 4

PCR

Tabla 1. Iniciadores específicos para amplificar el VPH-13

Secuencia F	5'-AAATCCCAGCAGAATTATAT-3'
Secuencia R	5'-AAAGAGATGATGTAGT-GGC-3'

Tabla 2. Concentraciones de reactivos para realizar una PCR específica para VPH-13.

Reactivo	Volumen	Concentración final
Agua para PCR	33.2 µl	
Buffer PCR	5 µl	1X
Dntp'S	1 µl	200Mm
MgCl ₂	3.6 µl	3Mm
Oligonucleótido F	1 µl	50pmol
Oligonucleótido R	1 µl	50pmol
Taq Polimerasa	0.2 µl	1U
DNA	5 µl	
Volumen Total =50 µl		

Tabla 3. Iniciadores específicos para amplificar el VPH-32

Secuencia F	5'-GAAGTGTTTACGCATAGAAGC-3'
Secuencia R	5'-CTTTGAGTCACGTGTATAGTC-3'

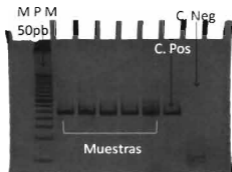


Figura 1.- Amplificación del gen de β globina

MAPA DE LA REGIÓN



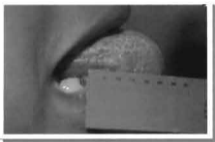
ANEXO 6

NÚMERO DE HABITANTES DE YAXHACHÉN

Grupos de edad	Hombres		Mujeres		Total	
	FA	%	FA	%	FA	%
< 1 año	17	1.05	19	1.17	36	2.23
1 - 4	80	4.9	88	5.4	168	10.43
5 - 14	271	16.82	251	15.58	522	32.40
19 años	97	6.02	108	6.70	205	12.72
44 años	260	16.13	254	15.76	514	31.90
59 años	58	3.6	40	2.48	98	6.08
60 - 79	30	1.08	27	1.67	57	3.53
80 y más	5	0.31	6	0.37	11	0.68
Total	818	50.77	793	49.22	1611	100

ANEXO 7

FOTOGRAFÍAS



Fotografía 1. Medición de las lesiones



Fotografía 2. Toma de muestras de la superficie de las lesiones



Fotografía 3. Colocación de las muestras en una solución salina con antibióticos y antimicóticos



Fotografía 4. Toma de muestras de saliva

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAGUANAGUAN



SISTEMA DE BIBLIOTECAS



Fotografía 5. Lesión única



Fotografía 6. Lesiones múltiples



Fotografía 7. Lesiones con tendencia a confluir



Fotografía 8. Labio superior



Fotografía 9. Labio inferior



Fotografía 10. Borde de la lengua



Fotografía 11. Dorso de la lengua

ANEXO 8

MATRIZ DE OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

VARIABLE	DEFINICIÓN	INDICADOR	TIPO POR MEDICIÓN	ESCALA	CONSTRUCCIÓN	USO	FUENTE
Higiene bucal	Se tomará como mala higiene bucal, cuando haya presencia de materia alba y como buena higiene cuando no haya presencia de materia alba		Cualitativa nominal	Buena = sin materia alba Mala = con materia alba	No de individuos por categoría entre el total por 100	Determinar posible relación con HEM	Hoja de recolección de datos
Edad	Tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo		Cuantitativa continua	Años	No de individuos por categoría entre el total por 100	Determinar posible relación con HEM	Hoja de recolección de datos
Sexo	Género al cual pertenece el paciente		Cualitativa nominal	Masculino Femenino	No de individuos por categoría entre el total por 100	Determinar posible relación con HEM	Hoja de recolección de datos
Índice de masa corporal	Se obtendrá dividiendo el peso en kilogramos entre el cuadrado de la talla en metros, y de acuerdo a las tablas de la Organización Mundial de la Salud		Cualitativa ordinal	Bajo peso Peso normal Sobrepeso Obesidad	No de individuos por categoría entre el total por 100	Determinar posible relación con HEM	Hoja de recolección de datos
Coloración de la lesión	Color que presentan las lesiones		Cualitativa nominal	Iguil que la mucosa Blancas Hiperpigmentadas	No de individuos por categoría entre el total por 100	Determinar la coloración de las lesiones	Hoja de recolección de datos

Tamaño de la lesión	Medidas de las lesiones		Cuantitativa continua	>1.0 mm 1.0 a - 1.9 mm 2.0 a - 2.9 mm 3.0 a - 3.9 mm 4.0 a - 4.9 mm 5.0 mm ó más	No de individuos por categoría entre el total por 100	Determinar el tamaño de las lesiones	Hoja de recolección de datos
Distribución de las lesiones	Localización anatómica de las lesiones		Cualitativa nominal	-Labio superior -Labio inferior -Lengua -Carrillos -encía -Mucosa palatina -labio inferior y lengua -labios superior e inferior -Labios superior e inferior y lengua	No de individuos por categoría entre el total por 100	Determinar la distribución de las lesiones.	Hoja de recolección de datos
Tiempo de evolución de las lesiones	Tiempo transcurrido desde la aparición de las lesiones		Cuantitativa continua	< 1 año 1 - 5 años 6 - 10 años > 10 años	No de individuos por categoría entre el total por 100	Determinar el tiempo de evolución de las lesiones	Hoja de recolección de datos
Características de la vivienda	Es un edificio cuya principal función es ofrecer refugio y habitación a las personas y sus enseres y propiedades, protegiéndolos de las inclemencias climáticas y de otras amenazas naturales.	Tipo de suelo	Cualitativa nominal	Cemento Ladrillo Piso y Tierra	No de individuos por categoría entre el total por 100	Determinar posible relación con HEM	Hoja de recolección de datos
		Servicio sanitario	Cualitativa nominal	Si No	No de individuos por categoría entre el total por 100	Determinar posible relación con HEM	Hoja de recolección de datos
		Número de habitaciones	Cualitativa nominal	1 2 3 4	No de individuos por categoría entre el total por 100	Determinar posible relación con HEM	Hoja de recolección de datos

		Material de construcción de paredes y techo	Cualitativa nominal	Block Block y techo huano Cemento Cemento y huano Huano-bajareques Lámina Madera y paja Palo y cartón	No. de individuos por categoría entre el total por 100	Determinar posible relación con HEM	Hoja de recolección de datos
Tabaquismo	<p>Tabaquismo activo es si el paciente consume cigarros, independientemente del número</p> <p>Tabaquismo pasivo, es si el paciente vive con alguien que fuma</p>		Cualitativa nominal	Si No	No. de individuos por categoría entre el total por 100	Determinar posible relación con HEM	Hoja de recolección de datos
VPH 13 y 32	Se clasifican positiva a una muestra cuando amplifique el número de bases correspondiente a cebadores específicos para el genotipo 13 y el 32.		Cualitativa nominal	13 32	No. de individuos por categoría entre el total por 100	Determinar el genotipo viral presente en las lesiones	Hoja de recolección de datos

ANEXO 9

GLOSARIO

Huano: Nombre genérico de palmas de tronco alto y redondo, sin ramas, con hojas en forma de abanico. El tronco de algunas especies se utiliza para hacer estacas, postes de cercas, pilotes, etc. Las hojas sirven como cubierta de techos. Hojas secas o pencas de las palmas.

Bajareque: Pared de palos entrelazados con cañas y barro. Esta técnica ha sido utilizada desde épocas remotas para la construcción de vivienda en pueblos indígenas de América. Se elabora partiendo de la creación de una doble malla a base de caña brava (planta de generación espontánea, delgada, no comestible y muy flexible), luego es rellena con arcilla a la cual se le agrega una porción de paja seca y se termina con un recubrimiento a base de arcilla pura, (tierra por estos lugares), actualmente se le agrega algo de cemento o cal.



ANEXO 10

RESULTADOS

Tabla 1. EDAD Y DISTRIBUCIÓN DE LA ENFERMEDAD

GRUPOS DE EDAD (en años)	CÉLULAS BOCA VPH 13			TOTALES
	SÍ	%	NO	
4-11	29	96.67	1	30
12-19	16	94.12	1	17
20-27	3	100.00	0	3
28-35	1	100.00	0	1
36-43	1	100.00	0	1
44-51	0	0.00	0	0
52-59	0	0.00	0	0
60-67	0	0.00	0	0
68-75	1	100.00	0	1
TOTALES	51	96.23	2 (3.77%)	53 (100.00%)

Fuente: Hoja de recolección de datos

Tabla 2. SEXO Y DISTRIBUCIÓN DE LA ENFERMEDAD

SEXO	CÉLULAS BOCA VPH 13		TOTALES
	SÍ	NO	
Masculino	13 (100.00%)	0	13
Femenino	38 (95.00%)	2	40
TOTALES	51 (96.23%)	2 (3.77%)	53

Fuente: Hoja de recolección de datos

Tabla 3. HIGIENE BUCAL

HIGIENE BUCAL	FRECUENCIA ABSOLUTA	PORCENTAJE %
Buena	45	84.91
Mala	8	15.09
TOTALES	53	100.00 %

Fuente: Hoja de recolección de datos

Tabla 4. TAMAÑO DE LA LESIÓN

TAMAÑO DE LA LESIÓN	FRECUENCIA ABSOLUTA	PORCENTAJE %
< 1	0	0.00
1.0 - 1.9	0	0.00
2.0 - 2.9	3	5.66
3.0 - 3.9	13	24.53
4.0 - 4.9	6	11.32
≥ 5	31	58.49
TOTALES	53	100.00 %

Fuente: Hoja de recolección de datos

Tabla 5. NÚMERO DE LESIONES

	FRECUENCIAS ABSOLUTAS	PORCENTAJE %
Únicas	2	3.77
Múltiples	51	96.23
TOTALES	53	100 %

Fuente: Hoja de recolección de datos

Tabla 6. SUPERFICIE DE LAS LESIONES

SUPERFICIE DE LAS LESIONES	FRECUENCIAS ABSOLUTAS	PORCENTAJE %
Lisa	38	71.70
Rugosa	12	22.64
Lisa y rugosa	3	5.66
TOTALES	53	100 %

Fuente: Hoja de recolección de datos

Tabla 7. COLORACIÓN DE LAS LESIONES

COLORACIÓN DE LAS LESIONES	FRECUENCIAS ABSOLUTAS	PORCENTAJE %
Igual que la mucosa	53	100
Biancas	0	0.00
Hiperpigmentadas	0	0.00
TOTALES	53	100 %

Fuente: Hoja de recolección de datos

Tabla 8. DISTRIBUCIÓN DE LAS LESIONES

DISTRIBUCIÓN DE LAS LESIONES	FRECUENCIAS ABSOLUTAS	PORCENTAJE %
Labio superior	0	0.00
Labio inferior	18	33.96
Lengua	18	33.96
Carrillos	2	3.77
Encla	0	0.00
Mucosa palatina	0	0.00
Labio inferior y lengua	5	9.43
Labios superior e inferior	4	7.55
Labios superior e inferior y lengua	6	11.32
TOTALES	53	100.00 %

Fuente: Hoja de recolección de datos

Tabla 9. TIEMPO DE EVOLUCIÓN DE LAS LESIONES

TIEMPO DE EVOLUCIÓN DE LAS LESIONES	FRECUENCIAS ABSOLUTAS	PORCENTAJE %
< 1	12	22.64
Uno a cinco	34	64.15
Seis a diez	1	1.89
> 10	2	3.77
No sabe	4	7.55
TOTALES	53	100 %

Fuente: Hoja de recolección de datos

Tabla 10. EDAD Y TIEMPO DE EVOLUCIÓN DE LAS LESIONES

GRUPOS DE EDAD (EN AÑOS)	TIEMPO DE EVOLUCIÓN DE LAS LESIONES					TOTALES
	< 1	1-5	6-10	> 10	No sabe	
4-11	6	20	1	0	3	30
12-19	4	11	0	2	1	18
20-27	1	1	0	0	0	2
28-35	0	1	0	0	0	1
36-43	1	0	0	0	0	1
44-51	0	0	0	0	0	0
52-59	0	0	0	0	0	0
60-67	0	0	0	0	0	0
68-75	0	1	0	0	0	1
	12	34	1	2	4	53

Fuente: Hoja de recolección de datos

Tabla 11. **SERVICIO SANITARIO**

SERVICIO SANITARIO	FRECUENCIAS ABSOLUTAS	PORCENTAJE %
SI	35	66.04
NO	18	33.96
TOTALES	53	100.00 %

Fuente: Hoja de recolección de datos

Tabla 12. **TIPOS DE SUELO**

TIPOS DE SUELO	FRECUENCIAS ABSOLUTAS	PORCENTAJE %
Cemento	32	60.38
Ladrillo	4	7.55
Piso y Tierra	2	3.77
Tierra	15	28.30
TOTALES	53	100.00 %

Fuente: Hoja de recolección de datos

Tabla 13. NÚMERO DE HABITACIONES

NÚMERO DE HABITACIONES	FRECUENCIAS ABSOLUTAS	PORCENTAJE %
1	33	62.26
2	13	24.53
3	5	9.43
4	2	3.77
TOTALES	53	100.00 %

Fuente: Hoja de recolección de datos

Tabla 14 MATERIAL DE CONSTRUCCIÓN DE PAREDES Y TECHO

MATERIAL DE CONSTRUCCIÓN DE PAREDES Y TECHO	FRECUENCIAS ABSOLUTAS	PORCENTAJE %
Block	7	13.21
Block y techo huano	4	7.55
Cemento	19	35.85
Cemento y huano	4	7.55
Huano-bajareques	14	26.42
Lámina	3	5.66
Madera y paja	1	1.89
Palo y cartón	1	1.89
TOTALES	51	100.00 %

Fuente: Hoja de recolección de datos

Tabla 15. NÚMERO DE OCUPANTES

NÚMERO DE OCUPANTES	FRECUENCIAS ABSOLUTAS	PORCENTAJE %
2	1	1.89
3	1	1.89
4	7	13.21
5	6	11.32
6	9	16.98
7	6	11.32
8	8	15.09
9	9	16.98
10	2	3.77
11	0	0.00
12	3	5.66
13	1	1.89
TOTALES	53	100.00 %

Fuente: Hoja de recolección de datos

Tabla 16. ÍNDICE DE MASA CORPORAL

ÍNDICE DE MASA CORPORAL	FRECUENCIAS ABSOLUTAS	PORCENTAJE %
Infrapeso (< 18.50)	18	33.96
Delgadez severa (< 16.00)	7	13.21
Delgadez moderada (16.00-16.99)	6	11.32
Delgadez aceptable (17.00-18.49)	5	9.43
Peso normal (18.50-24.99)	27	50.94
Sobrepeso (\geq 25.00)	3	5.66
Preobesidad (25.00-29.99)	3	5.66
Obesidad (\geq 30.00)	5	9.43
Obesidad tipo I (30.00-34.99)	3	5.66
Obesidad tipo II (35.00-39.99)	2	3.77
Obesidad tipo III (\geq 40.00)	0	0.00
TOTALES	53	100.00 %

Fuente: Hoja de recolección de datos

Cuadro 17. TABAQUISMO

TABAQUISMO	FRECUENCIAS ABSOLUTAS	PORCENTAJE %
Activo	1	2
Pasivo	2	4
No fumadores	50	94
TOTALES	53	100.00 %

Fuente: Hoja de recolección de datos

Tabla 18. USO COMÚN DE CUBIERTOS O CEPILLO DENTAL

USO COMÚN DE CUBIERTOS O CEPILLO DENTAL	FRECUENCIAS ABSOLUTAS	PORCENTAJE %
Sí	38	71.70
No	15	28.30
TOTALES	53	100.00 %

Fuente: Hoja de recolección de datos

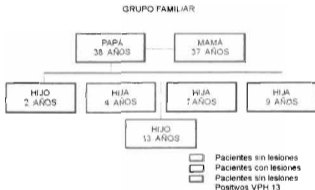
Tabla 19. TIPIFICACIÓN DEL VIRUS

	VPH 13	VPH 32
POSITIVO	51	0
NEGATIVO	0	51

Fuente: Hoja de recolección de datos



GRUPOS FAMILIARES
PACIENTES SIN LESIONES POSITIVOS A VPH 13



ANEXO 12

TIPIFICACIÓN DEL VIRUS

FOLIO	BOCA PVH 13	BOCA BETA GLOB	CELULAS SALIVA VPH 13	CELULAS SALIVA BETA GLOB	SOBRENADANTESALIVA SALIVA PVH 13/	SOBRENADANTE SALIVA BETA GLOBINA
1	POS		POSITIVA		NEGATIVA	NEGATIVA
2	POS		POSITIVA		POSITIVA	POSITIVA
3	POS		POSITIVA		POSITIVA	POSITIVA
4	POS		POSITIVA		POSITIVA	NEGATIVA
5	POS		POSITIVA		POSITIVA	NEGATIVA
6	POS		NO HAY MUESTRA		NO HAY MUESTRA	
7	POS		POSITIVA		POSITIVA	NEGATIVA
8	POS		POSITIVA		POSITIVA	NEGATIVA
9	POS		POSITIVA		POSITIVA	NEGATIVA
10	POS		POSITIVA		POSITIVA	NEGATIVA
11	POS		POSITIVA		POSITIVA	NEGATIVA
1	POS		POSITIVA	POSITIVA	POS ITIVA	NEGATIVA
13	POS		POSITIVA		POSITIVA	NEGATIVA
14	POS		NO HAY MUESTRA		NO HAY MUESTRA	

15	POS		NO HAY MUESTRA		NO HAY MUESTRA	
16	POS		POSITIVA		POSITIVA	NEGATIVA
17	POS		POSITIVA		POSITIVA	POSITIVA
18	POS		POSITIVA		POSITIVA	POSITIVA
19	POS		POSITIVA		POSITIVA	NEGATIVA
20	POS		NO HAY MUESTRA		NO HAY MUESTRA	
21	POS		POSITIVA		POSITIVA	NEGATIVA
22	POS		NO HAY MUESTRA		NO HAY MUESTRA	
23	POS		POSITIVA		POSITIVA	NEGATIVA
24	NEG	NEGATIVA	NO HAY MUESTRA		NO HAY MUESTRA	
25	POS		POSITIVA		POSITIVA	NEGATIVA
26	POS		NO HAY MUESTRA		NO HAY MUESTRA	
27	POS		NO HAY MUESTRA		NO HAY MUESTRA	
28	POS		NO HAY MUESTRA		NO HAY MUESTRA	
29	POS		POSITIVA		POSITIVA	NEGATIVA
30	POS		NO HAY MUESTRA		NO HAY MUESTRA	
31	POS		POSITIVA		POSITIVA	POSITIVA
32	POS		NO HAY MUESTRA		NO HAY MUESTRA	
33	POS		NO HAY MUESTRA		NO HAY MUESTRA	

			MUESTRA			
34	POS		POSITIVA		POSITIVA	POSITIVA
35	POS		POSITIVA		POSITIVA	NEGATIVA
36	POS		POSITIVA		POSITIVA	POSITIVA
37	POS		POSITIVA		POSITIVA	NEGATIVA
38	NEG	NEGATIVA	NO HAY MUESTRA		NO HAY MUESTRA	
39	POS		NO HAY MUESTRA		NO HAY MUESTRA	
40	POS		NO HAY MUESTRA		NO HAY MUESTRA	
41	POS		POSITIVA		POSITIVA	POSITIVA
42	POS		NO HAY MUESTRA		NO HAY MUESTRA	
43	POS		NO HAY MUESTRA		NO HAY MUESTRA	
44	POS		POSITIVA		POSITIVA	POSITIVA
45	POS		NO HAY MUESTRA		NO HAY MUESTRA	
46	POS		NO HAY MUESTRA		NO HAY MUESTRA	
47	POS		NO HAY MUESTRA		NO HAY MUESTRA	
48	POS		POSITIVA		POSITIVA	POSITIVA
49	POS		POSITIVA		POSITIVA	POSITIVA
50	POS		POSITIVA		POSITIVA	POSITIVA
51	POS		POSITIVA		POSITIVA	POSITIVA
52	POS		POSITIVA		POSITIVA	NEGATIVA

53	POS		NO HAY MUESTRA		NO HAY MUESTRA	
54	NEG	POS				
55	NEG	POS				
56	NEG	POS				
57	POS					
58	POS					
59	NEG	POS				
60	POS					
61	NEG	POS				

De la número 54 a la 61, muestras de pacientes sin lesiones.