



**DETECCIÓN TEMPRANA DE CÁNCER BUCAL CON AZUL DE TOLUIDINA
AL 1% CHIAPAS, MÉXICO 2005 AL 2008.**

Juan Ortega¹, Guillermo Flores², Luis Rosales³

1. Clínica de Cirugía Bucal. Dirección de Investigación, Postgrado Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, México.
2. Dirección de Enseñanza, Hospital de Alta Especialidad, "Ciudad Salud", Tapachula, Chiapas, México.
3. Clínica Patología Bucal, Estudios Estomatológicos, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, México

Correspondencia: Mtro. Juan Ortega. Clínica de Cirugía Bucal, Dirección de Investigación Postgrado, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, México.

E-mail: jjoalejandre@hotmail.com

RESUMEN

Se presenta un estudio para implantar un plan de atención, que detecte de manera precoz el cáncer bucal. El protocolo es resultado de un estudio, el universo de éste consistió en los pacientes que acudieron a las clínicas de atención de la escuela de Odontología de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas durante el periodo enero de 2005 a junio de 2008, en 437 pacientes. Se selecciono una muestra de 59 pacientes obteniendo dos grupos vulnerables (de mediano y alto riesgo), de éstos, la prueba clínica resultó positiva en 34 casos, el enjuague bucal con azul de toluidina confirmó la evaluación clínica en 19 casos y la confirmación histopatológica por biopsia de cáncer bucal resulto positiva en 10 casos. Se elaboró un sencillo manual de autoevaluación bucal que los pacientes puedan utilizar en sus hogares, con la finalidad de detectar cualquier lesión sospechosa y acudir con el facultativo de su confianza para confirmar o desechar el diagnóstico precoz. La detección de cáncer bucal de manera temprana ha demostrado en todos los estudios consultados para esta investigación que permite tratamientos sencillos, eficaces y económicos para la población vulnerable.

Recibido: 7-12-2011

Aceptado: 10-3-2012



PALABRAS CLAVE: Cáncer bucal, detección de cáncer, azul de toluidina

**EARLY DETECTION OF ORAL CANCER WITH TOLUIDINE BLUE 1%
CHIAPAS, MEXICO 2005 TO 2008**

ABSTRACT

We present a study to implement a plan of care, to detect at an early stage oral cancer. The protocol is the result of a study; the universe of this consisted of patients attending the clinics of the School of Dentistry, University of Science and Arts of Chiapas during the period January 2005 to June 2008, in 437 patients. A sample of 59 patients screened obtaining two vulnerable groups (medium and high risk), of these, the clinical test was positive in 34 cases, the oral rinse with toluidine blue confirmed the clinical evaluation in 19 cases and histopathologic confirmation by biopsy of oral cancer was positive in 10 cases. Developed a simple self-assessment manual mouth that patients can use at home, in order to detect any suspicious lesions and go to the doctor they trust to confirm or rule out an early diagnosis. The detection of oral cancer in its early stages has been demonstrated in all studies consulted for this research that allows simple treatment, effective and economical for the vulnerable.

KEY WORDS: Oral cancer, cancer screening, toluidine blue

INTRODUCCION

El cáncer, actualmente es la segunda causa de muerte en nuestro país y sexta causa de muerte en el mundo, particularmente el cáncer bucal que representa entre el 3 y 7% de todos los cánceres. Ésta enfermedad es altamente prevenible y puede afectar a toda la población, pero existe una marcada

preferencia entre grupos poblacionales cuyas edades se encuentran entre 45 y 65 años de edad, es ligeramente más común en los hombres que en las mujeres con una proporción de 3:1, aunque esta situación está cambiando gradualmente por la creciente demanda de consumo de tabaco y alcohol en el

Recibido: 7-12-2011

Aceptado: 10-3-2012



sexo femenino. Los factores de riesgo mas comunes para esta enfermedad son principalmente el tabaco en todas sus modalidades (inhulado, fumado, masticado, untado, etc.), además del consumo de alcohol y el uso constante de irritantes (alimentos, líquidos calientes, picantes, condimentos, etc.). (1, 2, 3)

En países con poco grado de desarrollo económico, industrial, y educativo, el uso sin control adecuado de pesticidas altamente tóxicos, utilizados sin contar con la protección adecuada (mascarillas, lentes, ropa, etc.), se relaciona con la aparición de lesiones malignas en cavidad oral, vías aéreas y digestivas (4, 5).

Chiapas es un estado con una población de casi cuatro millones de habitantes, con una tasa de crecimiento anual de 2%, ligeramente superior a la media nacional, con una distribución por género de 51% sexo femenino y 49% masculino, la mayor parte de su población es de gente joven con un 35% de habitantes con edades entre 14 y 28 años de edad. La expectativa de vida

aumento de 62 a 72 años en la última década por lo que el aumento de enfermedades crónico degenerativas ha sido significativo (6).

Los signos tempranos del cáncer bucal incluyen úlceras persistentes en boca (frecuentemente asintomáticas), manchas blancas, rojas o moteadas en la mucosa bucal, dificultad para hablar, deglutir o masticar, nódulos firmes en carillos, lengua y cadena ganglionar cervical. Cualquier lesión bucal con más de dos semanas desde su aparición debe ser valorada por un especialista y estudiada microscópicamente (7, 8)

El realizar una correcta y detallada valoración de cabeza y cuello que incluya la cavidad bucal aunado al uso de enjuague de azul de toluidina al 1%, puede coadyuvar en la detección de lesiones orales en pacientes de mediano y alto riesgo, debido a la gran afinidad del colorante por el material nuclear de las células malignas. Aunque las lesiones premalignas y malignas de la cavidad bucal pueden ser fácilmente identificables, la correcta detección de estas con azul de toluidina al 1%



aumenta las posibilidades de localizar lesiones incipientes que ofrezcan mejores posibilidades de tratamiento y pronóstico de vida mas favorable. Uno de los problemas mas frecuente en el tratamiento de esta enfermedad es la detección en etapas tardías de la enfermedad que aumenta dramáticamente los índices de morbi-mortalidad y disminuye el de por si mal pronóstico para la vida y la función (5, 6, 7, 8)

En Chiapas de acuerdo a estas cifras oficiales, la tasa de mortalidad por tumores malignos en ese año fue de 46.3 a 56.3 por cada 100,000 habitantes y la tasa de años potenciales de vida perdidos por esa enfermedad fue de 80.9 por 1000 habitantes. Las edades promedio de las defunciones fueron 66.5 en el sexo femenino y 65.5 en el masculino. La mayor incidencia se presentó en personas con baja o nula escolaridad, en poblaciones pequeñas. El 92% de los pacientes recibió atención médica tardía. 27.2% falleció en alguna unidad de salud y el 58.6% de los casos en sus hogares extendiendo el

certificado médico de defunción un médico legista (3). Este dato es de importancia porque en nuestro estado la mitad de la población reside en poblaciones dispersas, carentes de servicios médicos y Chiapas ocupa una tasa de analfabetismo mayor que el resto del país, por lo que la detección tardía de lesiones malignas agrava el problema. El cáncer bucal representa entre el 5 y 7% de todos los tumores malignos, afecta más al hombre que a las mujeres con una proporción de 2.7:1; sin embargo, esta relación aritmética esta cambiando gradualmente por el aumento en los hábitos tabáquicos entre las mujeres encontrándose reportes de 1.6:1. El grupo de edad con mayor prevalencia es sin duda el de los 65-74 años, sin embargo existen reportes de pacientes de 16 años relacionados siempre al consumo de tabaco y alcohol, además de antecedentes hereditarios (1, 3, 15). El cáncer bucal está considerado como uno de los padecimientos más agresivos, en parte por la rica vascularidad sanguínea y disposición

Recibido: 7-12-2011

Aceptado: 10-3-2012



linfática y por los altos índices de mortalidad que produce, así como por las graves secuelas que genera su tratamiento (6, 9). Esto implica que el diseño de estrategias preventivas es una necesidad urgente, las cuales deberán ser desarrolladas por grupos multidisciplinarios interesados y relacionados en las diferentes áreas de la patología general y bucal, en las que se enfatice el papel que juegan los cirujanos dentistas de práctica general y el médico de práctica general quienes son el primer contacto con este grupo de pacientes, y quienes juegan un papel fundamental en la prevención y detección temprana de esta enfermedad, para lograr disminuir su prevalencia y lograr tratamientos simples con resultados satisfactorios. El generar un método simple, económico y eficaz para detectar cáncer bucal en pacientes de alto y mediano riesgo beneficiará sin duda a la sociedad en conjunto. Socialmente al lograr difundir esta y otras estrategias para prevención, diagnóstico temprano y tratamientos eficaces, que disminuyan los altos

índices de morbi-mortalidad de esta grave alteración. Económicamente se justifica ampliamente el empleo de un método simple y eficaz para detección temprana de la enfermedad, pues al abatir costos de tratamiento difundiendo medidas preventivas y diagnóstico temprano de la enfermedad.

MATERIALES Y METODOS

Se realizó un estudio prospectivo, transversal, explicativo y correlacional con pacientes seleccionados como de mediano y alto riesgo que acudieron a la clínica de admisión de la escuela de Odontología de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas durante enero de 2005 a agosto de 2008. Se reportan las frecuencias de sujetos vulnerables por grupo de riesgo, la frecuencia de lesiones detectadas, la sensibilidad de la prueba y la especificidad de la misma. De igual manera se realizan los análisis estadísticos para establecer asociaciones tres métodos diagnósticos.

Recibido: 7-12-2011

Aceptado: 10-3-2012

PACIENTES DE MEDIANO RIESGO fueron determinados como aquellos pacientes entre 20 y 40 años de edad quienes durante el interrogatorio médico afirmaron que utilizaban tabaco (cigarrillos) rutinariamente desde hace más de tres años, consumían alcohol cuando menos una vez por semana, consumían irritantes (líquidos calientes, picante y grasas) y además tenían antecedentes heredo familiares directos ascendentes de cáncer en cualquier región del organismo (1, 3, 11)

PACIENTES DE ALTO RIESGO fueron aquellos pacientes mayores de 60 años de edad quienes durante el interrogatorio afirmaron que son consumidores de tabaco durante más de diez años, alcohol, irritantes y tienen antecedentes heredo familiares de cáncer (1, 3, 11).

En el estudio se incluyeron ambos grupos de pacientes a quienes se les aplicó un cuestionario médico específico (hojas de registro) y se les practicó un examen clínico de cabeza, cuello, cavidad bucal y faríngea.

Además, se les sometió a un enjuague de una solución acuosa de azul de toluidina al 1%, posteriormente se revisó la cavidad bucal y oro-faríngea nuevamente y a los que dieron positivos en ambas pruebas se les practicó una biopsia y ésta se envió para examen histopatológico.

Cualquier lesión observable a simple vista con más de diez días de aparición en la cavidad buco-faríngea previa al enjuague bucal se señaló en el diagrama de la hoja de registro y se corroboró después del mismo para precisar la sensibilidad y especificidad de la tinción (Figura 1).



Figura 1. Lesión ulcerada asintomática en paladar duro izquierdo, la biopsia confirmó diagnóstico de carcinoma mucoepidermoide.

Todas las lesiones sospechosas de comportamiento biológico anormal, tinción positiva del enjuague de azul de toluidina al 1% y clínicamente sospechosas fueron motivo de biopsia y examen microscópico, correlacionado así la sensibilidad y especificidad del protocolo de detección de cáncer bucal estándar (Figura 2).

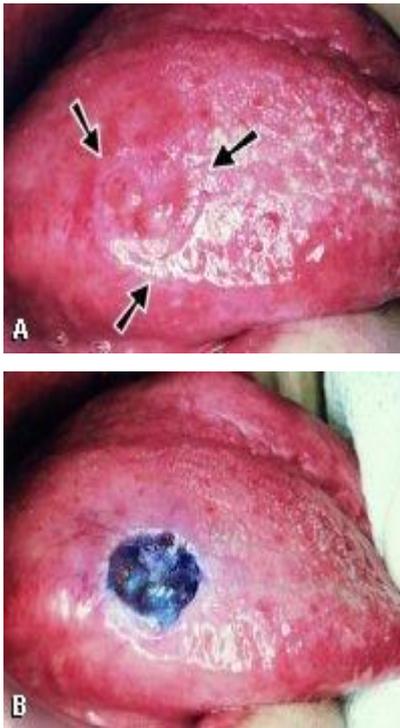


Figura 2. Lesión eritematosa en borde lateral de la lengua indicado por las flechas (A). Posterior al enjuague de azul de toluidina 1%, la lesión se tiñó positivamente con el colorante (B)

Adicionalmente, las lesiones que fueron negativas a la tinción con azul de toluidina pero clínicamente sospechosas de comportamiento anormal (Figura 3) fueron sujetas a biopsia y examen histopatológico.



Figura. 3. Lesión en región retromolar en maxilar superior izquierdo positiva para carcinoma mucoepidermoide.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Pacientes de mediano y alto riesgo que acudan a las clínicas de admisión de la escuela de odontología y disponibilidad para participar en esta investigación

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Lesiones orales y orofaríngeas de origen traumático reciente (no mayor de 5 días).

Todos los pacientes fueron informados del estudio sus alcances, limitaciones y



posibles resultados, de igual manera los pacientes fueron informados de los principios éticos en la investigación médica (Principios de Helsinki). Finalmente les fue leída una carta de consentimiento para participar en la investigación y previamente explicada ésta, la firmaron (17). La información recolectada fue analizada estadísticamente para establecer una correlación entre el diagnóstico clínico, la tinción de azul de toluidina al 1% y el estudio histopatológico para verificar sensibilidad y especificidad de la prueba.

RESULTADOS Y DISCUSION

La eficacia de un método simple fue evaluada, la tinción de azul de toluidina al 1% como coadyuvante del examen de cabeza, cuello y cavidad oro-faríngea. Se calcularon estadísticamente la sensibilidad, especificidad y los valores predictivos positivos y negativos empleando los reportes histopatológicos de las lesiones biopsiadas como elemento de comparación. Las lesiones detectadas fueron clasificadas en base a

su apariencia clínica con un diagnóstico provisional, a esto se sumó la afinidad de la lesión por la tinción de azul de toluidina al 1% y finalmente el resultado histopatológico estos resultados fueron correlacionados estadísticamente. 437 pacientes cuyas edades fluctuaron entre los 4 y 89 años de edad fueron evaluados durante el periodo de tiempo de enero 2005, a agosto 2008 en la clínica de admisión de la DES Odontología de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (Tabla 1).

Tabla 1. Distribución por edad agrupada

Años	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
4-10	2	.5	.5
11-24	120	27.5	27.9
25-36	105	24.0	51.9
37-50	92	21.1	73.0
51-63	58	13.3	86.3
64-89	60	13.7	100.0
Total	437	100.0	

Todos los pacientes tuvieron una evaluación inicial para ser canalizados a la clínica de atención especializada, durante esta evaluación, al aplicar las hojas de registro específicas, los

Recibido: 7-12-2011

Aceptado: 10-3-2012

pacientes se clasificaron de acuerdo al tamizaje propuesto en la metodología como de mediano riesgo y alto riesgo. Del total de pacientes evaluados, 220 correspondieron al sexo femenino y 217 al masculino (Tabla 2).

Treinta y cuatro pacientes dieron positivo a la prueba de evaluación clínica, 20 sujetos del sexo masculino y 14 femenino, de éstos, 10 pacientes masculinos y 12 femeninos fueron de mediano riesgo; 10 sujetos masculinos y 2 femeninos se encontraron tamizados como de alto riesgo (Tabla 3).

Tabla 2. Distribución por sexo

Género	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
Femenino	220	50.3	50.3
Masculino	217	49.7	100.0
Total	437	100.0	

Tabla 3. Evaluación clínica

	Frecuencia	Porcentaje
Positivo	34	7.8
Negativo	403	92.2
Total	437	100.0

De los 34 pacientes detectados clínicamente con lesiones sospechosas de alteración biológica, sólo 19 resultaron positivos al enjuague con la tinción de azul de toluidina al 1% y de éstos, 10 fueron confirmados por el estudio histopatológico como lesiones malignas (biopsia) lo que representó el 2.28% de incidencia de cáncer bucal. La distribución por género de los 19 pacientes con evidencia positiva a la tinción de azul de toluidina al 1% fue de 10 sujetos masculinos y 9 femeninos (Tabla 4).

Tabla 4. Distribución por género de los pacientes con lesiones sugestivas de cáncer teñidas con enjuague de azul de toluidina al 1%

	Frecuencia	Porcentaje
Positivo	19	4.3
Negativo	418	95.7
Total	437	100.0

En 10 sujetos se confirmó el diagnóstico de cáncer con estudio histopatológico, 7 sujetos masculinos y tres femeninos. En estos casos los pacientes fueron remitidos inmediatamente a centros

especializados en la atención de esta enfermedad (Tabla 5).

Tabla 5. Distribución de pacientes por género de los pacientes con lesiones sugestivas de cáncer confirmadas por histopatología

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
Negativo	427	97.72	97.7
Positivo	10	2.28	100.0
Total	437	100.0	

En los pacientes con resultado negativo de cáncer pero con la detección clínica positiva, se realizó un seguimiento de ellos por periodos de tiempo que oscilaron entre uno y seis meses hasta confirmar la curación definitiva de la lesión encontrada. En otros, se decidió la enucleación de la lesión cuando esta no evolucionó satisfactoriamente, aun cuando el diagnóstico de la biopsia resulto negativo, pero la lesión tardó en sanar mas de 3 semanas y ésta era menor de 2 cms. de diámetro.

A pesar de que el resultado de esta investigación arrojó una incidencia baja de cáncer bucal en pacientes de riesgo en una muestra significativa en Tuxtla Gutiérrez (el 2.28% de la muestra), los diez casos positivos de la enfermedad

deben ser suficientes para mantener una alerta permanente en la evaluación cuidadosa de la cavidad bucal realizada por el propio paciente y por su facultativo para que la detección de esta enfermedad sea temprana lo que asegura tratamiento efectivo y altos índices de curación (18, 19)

El azul de toluidina es un colorante nuclear metacromático que tiñe el material nuclear de las lesiones malignas, pero no el de la mucosa normal. El uso de azul de toluidina al 1%, como enjuague resultó ser útil en la detección de cáncer bucal, siempre confirmada con un estudio histopatológico posterior. Aunque en este estudio el enjuague con azul de toluidina al 1% resultó en 10 falsos positivos, esto no significa que su especificidad sea inadecuada. El azul de toluidina es un colorante de absorción que penetra en la célula por medio de difusión, presenta de acuerdo a algunos autores una sensibilidad alta, sin embargo presenta tasa alta de falsos positivos como en este estudio 25.64%. Ésta solución tiene afinidad por el

Recibido: 7-12-2011

Aceptado: 10-3-2012



material nuclear de las células cancerígenas y por células atípicas que no necesariamente sean malignas, por lo tanto el hecho que una lesión se tiña con el colorante debe ser interpretado como signo de atención para una evaluación histopatológica que confirme o descarte la malignidad de la lesión (19, 20, 21, 22).

El cáncer bucal constituye una enfermedad destructiva de la región de cabeza y cuello capaz de infiltrar e invadir los tejidos y de propagarse a otras zonas por vía linfática o sanguínea, produciendo metástasis a distancia. Esta entidad representa aproximadamente el 3% de todas las lesiones malignas en hombres y el 2% en mujeres en edad adulta mayor, es decir mayores de 60 años en una relación hombre mujer de 2:1, pudiéndose ver reducida por la exposición de las mujeres a factores carcinogénicos como el tabaco y el alcohol. Desde el punto de vista epidemiológico y clínico patológico se ha podido demostrar que el cáncer bucal más frecuente es el carcinoma

espinocelular o carcinoma de células escamosas, el cual puede ubicarse frecuentemente en el borde lateral de la lengua, piso de boca, borde rojo del labio inferior o en la bucofaringe (23, 24)

La presentación clínica de ésta entidad es variada y puede manifestarse de forma asintomática en los primeros estadios, produciendo una simple molestia en el paciente. Cualquier lesión persistente en forma de placa blanca, roja o de ambos colores en la boca podría representar un carcinoma espinocelular. Las lesiones de tipo ulceroso con bordes crateriformes e indurados ubicados en el borde lateral o cara ventral de la lengua, piso de la boca, encía, carrillos o paladar que no involucionen en quince días, también pueden ser un signo clínico de un tumor maligno. Evidentemente este tipo de lesiones en la boca pueden ocasionarse por diversos factores de riesgo. El tabaco en sus diferentes formas de presentación: fumado, inhalado o masticado puede ser el factor más importante relacionado con el cáncer

Recibido: 7-12-2011

Aceptado: 10-3-2012



bucal, sin embargo al actuar conjuntamente con el alcohol, aumentan el riesgo de la iniciación, promoción y proliferación de las células tumorales malignas. Se considera que los pacientes fumadores tienen de cinco a nueve veces más posibilidades de desarrollar cáncer bucal que aquellos que no fuman y se potencializa éste desarrollo en casi un 100% si los sujetos conjuntamente ingieren más de cien grados de alcohol en bebidas como cervezas, vinos o whisky diarios. Los microorganismos también pueden actuar como factores de riesgo en el cáncer bucal. Los virus como el VPH (Virus Papiloma Humano) se han relacionado con el carcinoma espinocelular, así como también los de la familia de Herpes Virus (24, 25). El mantenimiento de una buena alimentación contribuye a la disminución de los factores de riesgo en el desarrollo del cáncer bucal. Se ha determinado que en pacientes con deficiencias de minerales y vitaminas es más factible el inicio de la enfermedad. La exposición a radiaciones solares sin

protección puede aumentar el riesgo de la formación de cáncer en labio inferior. A demás de los estados nutricionales y radiaciones, también se han mencionado algunas enfermedades con capacidad de transformación maligna como el Liquen Plano, sobre todo cuando se presenta en su forma erosiva. Esta entidad es una enfermedad dermatológica crónica que puede presentarse en boca y producir una serie de manifestaciones en ella. La herencia y los estados de inmunosupresión también pueden predisponer a algunos individuos a desarrollar cáncer bucal. Se ha observado que en pacientes que se han sometido a transplante de hígado y se les han suministrado medicamentos inmunosupresores, han desarrollado cáncer en labio, así como también se han observado diferentes tipos de tumores malignos en pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) (25, 26, 27).

CONCLUSIONES

La habilidad para controlar el cáncer bucal y orofaríngeo va a depender de

Recibido: 7-12-2011

Aceptado: 10-3-2012



dos factores importantes; el primero basado en la prevención, mientras que el segundo implica el diagnóstico temprano de la enfermedad. Las campañas de educación continua son necesarias a nivel local, estatal y nacional para prevenir y educar a la población en cuanto a los factores de riesgo que puedan iniciar la enfermedad y enseñarles cuáles son sus signos y síntomas, además de la evaluación clínica constante y permanente por parte del odontólogo y la enseñanza al paciente de la auto evaluación de su cavidad bucal para la detección temprana de alguna alteración, también contribuye al éxito de la prevención y diagnóstico precoz del cáncer bucal. La enseñanza a los pacientes a realizar el examen clínico de su cavidad oral para la detección temprana del cáncer bucal se efectúa por pasos sencillos y fáciles de recordar.

REFERENCIAS

1. Frías M, Zeichner I, Súchil L, Ochoa F. Epidemiología descriptiva del cáncer de la cavidad bucal en el Instituto Nacional de Cancerología (1985-1992). *Rev Inst Nal Cancerol Mex.* 1997; 43(2): 80-5.
2. Onofre M, Sposto M, Navarro C. Reliability of toluidine blue application in the detection of oral epithelial dysplasia and in situ invasive squamous cell carcinomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Radiol Endod.* 2001; 91(5): 535-40.
3. Gómez R, Gómez J, León A. Mortalidad por Cáncer Bucal en México, 1989-1998. MO4 UNAM Itztacala. Disponible en: www.odontologia.com.mx.
4. Warnakulasuriya K, Johnson N. Sensitivity and specificity of OraScan (r) toluidine blue mouthrinse in the detection of oral cancer and precancer. *J Oral Pathol Med.* 1996; 25(3): 97-103.
5. Martin I, Kerawala C, Reed M. The application of toluidine blue as a diagnostic adjunct in the detection of epithelial dysplasia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Radiol Endod.* 1998; 85(4): 444-6.

Recibido: 7-12-2011

Aceptado: 10-3-2012



6. Miller R, Simms B, Gould A. Toluidine Blue Staining for detection of oral premalignant lesions and carcinomas. *J Oral Pathol*. 1988; 17(2): 73-8.
7. Silverman S, Migliorati C, Barbosa J. Toluidine blue staining in the detection of oral precancerous and malignant lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1984; 57(4): 379-82.
8. Kerawala C, Beale V, Reed M, Martin I. The role of vital tissue staining in the marginal control of oral squamous cell carcinoma. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2000; 29(1): 32-5.
9. Wiersma A, van der Waal I. Toluidine blue staining for detection of oral squamous carcinoma. *Ned Tijdschr Tandheelkd*. 1990; 97(10): 431-2.
10. Mashberg A. Reevaluation of toluidine blue application as a diagnostic adjunct in the detection of asymptomatic oral squamous carcinoma: a continuing prospective study of oral cancer III. *Cancer*. 1980; 46(4): 758-63.
11. Mashberg A. Tolonium (toluidine blue) rinse: a screening for recognition of squamous carcinoma. Continuing study of oral cancer IV. *JAMA*. 1981; 245(23): 2408-10.
12. Eliezri Y. The toluidine blue test: and aid in the diagnosis and treatment of early squamous cell carcinomas of mucous membranes. *J Am Acad Dermatol*. 1988; 18(6): 1339-49.
13. Epstein J, Scully C, Spinelli J. Toluidine blue and Lugol's iodine application in the assessment of oral malignant disease and lesions at risk of malignancy. *J Oral Pathol Med*. 1992; 21(4): 160-3.
14. Epstein J, Zhang L, Poh C, Nakamura H, Berean K, Rosin M. Increased allelic loss in toluidine blue positive oral premalignant lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2003; 95(1): 45-50.



15. Joseph B. Oral Cancer: prevention and detection. *Med Princ Pract.* 2002; 11(Suppl 1): 32-5.
16. Kujan O, Glenny A, Oliver R, Thakker N, Sloan P. Programas de cribaje (screening) para la detección precoz y la prevención del cáncer oral (Revisión Cochrane traducida). 2008(4). En: *La Biblioteca Cochrane Plus*, 2008(4). Oxford: Update Software Ltd. Disponible en: <http://www.update-software.com>. (Traducida de *The Cochrane Library*, 2008 Issue 3. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.).
17. Ortega M. Los Principios del Acta de Helsinki en el Mediterráneo Occidental. [s.l.]: *La cooperación internacional*; 1993.
18. Cheng B, Yang L. The clinical evaluation of Oratest in detecting oral mucosal lesions. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi.* 2003; 21(2): 124-6.
19. Chen Y, Lin J, Fong J, Wang I, Chou S, Wu C, et al. Use of methylene blue as a diagnostic aid in early detection of oral cancer and precancerous lesions. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2007; 45(7): 590-1.
20. Chen Y, Lin J, Wu C, Lui M, Kao S, Fong Y. Application of in vivo stain of methylene blue as a diagnostic aid in the early detection and screening of oral squamous cell carcinoma and precancer lesions. *J Chin Med Assoc.* 2007; 70(11): 497-503.
21. Du G, Li C, Chen H, Chen X, Xiao Q, Cao Z, et al. Rose bengal staining in detection of oral precancerous and malignant lesions with colorimetric evaluation: a pilot study. *Int J Cancer.* 2007; 120(9): 1958-63.
22. Epstein J, Feldman R, Dolor R, Porter S. The utility of tolonium chloride rinse in the diagnosis of recurrent or second primary cancers in patients with prior upper aerodigestive tract cancer. *Head Neck.* 2003; 25(11): 911-21.
23. Kois J, Truelove E. Detecting oral cancer: a new technique and case



- reports. Dent Today. 2006; 25(10): 94, 96-7.
24. Poh C, Zhang L, Anderson D, Durham J, Williams P, Priddy R, et al. Fluorescence visualization detection of field alterations in tumor margins of oral cancer patient. Clin Cancer Res. 2006; 12(22): 6716-22.
25. Balevi B. Evidence-based decision making: should the general dentist adopt the use of the VEL scope for routine screening for oral cancer?. J Can Dent Assoc. 2007; 73(7): 603-6.
26. Farah S, McCullough J. A pilot case control study on the efficacy of acetic acid wash and chemiluminescent illumination (Vizi-Lite) in the visualization of oral mucosal white lesion. Oral Oncol. 2007; 43(8):820-4.