

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTRADO**

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MEDICO NACIONAL “LA RAZA”
UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
“DR. ANTONIO FRAGA MOURET”**

**DETECCIÓN DE HERPES VIRUS A TRAVÉS DE REACCIÓN EN CADENA
DE POLIMERASA EN LESIONES ORALES DE PACIENTES CON PÉNFIGO
VULGAR ORAL DE DIFÍCIL CONTROL EN LA CLÍNICA DE PÉNFIGO DEL
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DEL CENTRO MÉDICO NACIONAL LA
RAZA. INFORME PRELIMINAR**

TESIS DE POSTGRADO

**PARA OBTENER EL TITULO DE
ESPECIALISTA EN:**

DERMATOLOGÍA

PRESENTA:

DRA. SONIA ELIZABETH MONZÓN MONTELONGO

No. De registro: 2006-3501-76

ASESORES:

DRA. MARIA MAGDALENA LÓPEZ IBARRA

DRA. NANCY PULIDO DÍAZ

QFB. MARGARITA SOLÍS TREJO

**MÉXICO,
2006**

D.F.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DR. JESÚS ARENAS OSUNA

JEFE DE DIVISIÓN DE ENSEÑANZA

DRA. MARIA MAGDALENA LÓPEZ IBARRA

TITULAR DEL CURSO UNIVERSITARIO DE LA ESPECIALIDAD

DRA. SONIA ELIZABETH MONZÓN MONTELONGO

RESIDENTE DEL 5to. AÑO DE DERMATOLOGÍA

ÍNDICE

RESUMEN.....	4
INTRODUCCIÓN.....	6
MATERIAL Y MÉTODOS.....	11
RESULTADOS	12
DISCUSIÓN.....	18
CONCLUSIONES.....	20
BIBLIOGRAFÍA.....	21

RESUMEN

Objetivo: Determinar la prevalencia del ADN del virus del herpes simple en lesiones orales de pacientes con pénfigo vulgar oral de difícil control.

Material y métodos: Diseño: prospectivo, observacional, transversal, descriptivo, abierto en el Hospital de Especialidades del CMN La Raza departamento de dermatología. Se recolectaron muestras de lesiones orales con hisopo, se procesaron mediante un sistema de detección cualitativa en tiempo real de RCP para virus herpes 1 y 2. Análisis estadístico: estadística descriptiva

Resultados Se analizaron los expedientes de 60 pacientes de los cuales solo 4 cumplieron los criterios de inclusión. Ninguno de los 4 pacientes tuvo un resultado positivo para ADN de herpes virus en lesiones orales. La edad promedio fue 44.5 años, el tiempo de evolución promedio de 3.6 años. En tratamiento con prednisona a dosis de 0.5 mg/kg/día, azatioprina y dapsona a dosis mayores de 1.5 mg/kg/día.

Conclusiones: No se encontró evidencia de DNA de herpes virus en este grupo de pacientes con pénfigo vulgar oral de difícil control.

Palabras clave: pénfigo vulgar oral, mucosa oral, herpes virus, reacción en cadena de polimerasa

ABSTRACT

Objective: To determine the prevalence of DNA of herpes simplex in recalcitrant oral lesions of patient with pemphigus vulgaris.

Material and methods: Design: prospective, observational, traverse, descriptive, open, in the department of dermatology from the Hospital of Specialties, CMN La Raza. Scrapings from the mucosal erosions were collected and processed by means of a system of qualitative detection in real-time of RCP for herpes simplex 1 and 2. Analysis statistical: descriptive statistic

Results: We analyzed the database of 60 patients with pemphigus vulgaris. Only four meet the diagnostic criteria. None was positive for DNA of herpes viruses in oral lesions. The age average was 44.5 years, the time of evolution 3.6 year-old average. They were in treatment with prednisona to dose of 0.5 mg/kg/dia, azatioprina and dapsona to dose bigger than 1.5 mg/kg/dia.

Conclusions: We found no evidence of DNA of herpes virus in this group of patient with pemphigus vulgaris and recalcitrant oral lesions.

Words key: oral pemphigus vulgaris, mucosal erosion, herpesvirus, polymerase chain reaction

INTRODUCCIÓN

Los pénfigos son un grupo de enfermedades autoinmunes que se caracterizan clínicamente por exulceraciones y ampollas flácidas en la piel y las mucosas debidas a un fenómeno de acantólisis.

La primera descripción de que se tiene conocimiento apareció en Grecia, en donde se utilizaron los términos *pemphix*, *pomphos* y *pompholyx* para designar lesiones de tipo ampollosa¹. Se trata de una entidad poco frecuente, que se presenta con una incidencia aproximada de 0.5-3.2 por 100,000 personas anualmente. Afecta principalmente adultos, y antes de la introducción de los corticoesteroides era típicamente fatal. Actualmente la mortalidad se considera del 5-10%². Dentro de la clasificación se incluyen el Pénfigo vulgar (PV) con su variante vegetante, Pénfigo foliáceo con su variante seborreica, Pénfigo herpetiforme, Pénfigo IgA, Pénfigo paraneoplásico y por último el inducido por fármacos³.

PV implica una respuesta inmune dirigida a una glucoproteína desmosomal transmembrana de los queratinocitos de 130 kilodaltons, la desmogleína 3. La pérdida de la adhesión célula a célula resultante se manifiesta clínicamente como ampollas y exulceraciones secundarias⁴. La severidad de la enfermedad clínica puede determinarse mediante el empleo de un sistema de evaluación que determina severidad de la enfermedad tanto en piel como en mucosas, pero a la fecha no existe una opinión consensada al respecto:

0: Sin actividad

1: Actividad menor (menos de cinco lesiones)

- 2: Actividad moderada (mas de cinco pero menos de veinte lesiones)
- 3: Severa (mas de veinte lesiones pequeñas o extensas, áreas confluentes de piel ulcerada)⁵.

Son pocos los estudios controlados en cuanto a tratamiento de PV y seborreico, la mayoría son confinados a casos reportados debido a la poca frecuencia de estas entidades. Actualmente los esteroides sistémicos son el soporte principal del tratamiento para el pénfigo, y los agentes inmunosupresores suelen usarse por su efecto de ahorro de esteroides, para reducir los efectos adversos de éstos⁶.

La causa subyacente del proceso autoinmune es desconocida. Se han identificado factores endógenos (genéticos: genes HLA) y heterógenos exógenos. El papel de los factores ambientales heterógenos parece a menudo desencadenantes y exacerbante en sujetos genéticamente predispuestos. Estos factores incluyen fármacos, quemaduras, radiación UV, rayos X, virus, neoplasias, hormonas y embarazo, factores nutricionales y estrés emocional⁷.

En el Servicio de Dermatología del Centro Medico Nacional La Raza se cuenta con una Clínica de Pénfigo, en la que mensualmente se evalúa la evolución clínica y paraclínica de pacientes portadores de PV en tratamiento medico, y se valora la necesidad de cambios en el esquema terapéutico. Al 2005, se encuentran registrados 60 pacientes con PV, de los cuales, al momento actual, cuatro presentan actividad oral exclusiva, sin afección cutánea. De estos últimos, 3 corresponden al género femenino, y uno al masculino⁸.

En prácticamente la mayoría de los pacientes con PV, las lesiones mucosas ocurrirán en algún momento en el curso de la enfermedad, y en el 50 al 70% de los

casos estas lesiones son el padecimiento actual⁹. Pueden permanecer durante semanas, meses o años, o bien diseminarse al resto de la superficie corporal. En la gran mayoría de los casos las lesiones orales preceden a las cutáneas por varios meses, y muchas veces son recalcitrantes, a menudo requiriendo más tiempo para sanar que las lesiones en piel, y con frecuentes recurrencias, a pesar del control de las lesiones cutáneas. Estas lesiones orales se establecen hasta en un 5% de los pacientes con PV como la única manifestación de actividad de la enfermedad¹, y contribuyen significativamente en la morbilidad, haciendo complicado o imposible el beber o comer⁹. La etiopatogenia de las lesiones orales de difícil control en PV es aún poco conocida, y sorprendentemente hay pocos estudios acerca de estas manifestaciones orales y su tratamiento, a pesar de la alta frecuencia de la afección oral en algún momento de la enfermedad¹⁰.

Varios reportes han señalado una posible participación de infecciones virales, en particular infecciones por herpes virus¹¹, siendo estas últimas complicaciones ya bien reconocidas de varias dermatosis, además de haber sido reportadas en enfermedades acantolíticas como PV, Enfermedad de Darier y Enfermedad de Hailey-Hailey. La infección es considerada poco frecuente y difícil de descartar clínicamente, por lo que debería considerarse en pacientes con PV sin mejoría a pesar de terapia inmunosupresiva adecuada, así como en pacientes con exacerbación aguda de pénfigo oral. La reacción en cadena de polimerasa (RCP) puede ser de utilidad para la detección molecular del virus del herpes simple por ser altamente sensible y rápido¹², a diferencia del frotis de Tzanck, con una sensibilidad aproximada del 50%; la serología, poco específica por posibilidad de reacciones cruzadas, además de verse alterada en paciente inmunocomprometidos, dado resultados tardíos y en ocasiones confusos; y el cultivo viral, poco accesible en nuestro medio y con una alto índice de falsos negativos si se

realiza a mas de 48 horas posteriores al establecimiento de la lesión¹³. Existen en el mercado equipos de detección específicamente adaptados para realización de RCP en tiempo real, en capilares de vidrio. El herpes virus tipo 1 y tipo 2 (HV) es amplificado con iniciadores específicos de la RCP. La amplificación es detectada por fluorescencia usando un par específico de sondas de hibridación, las cuales consisten en dos diferentes oligonucleótidos que se hibridizan a una secuencia interna del fragmento amplificado durante la fase de alineamiento del ciclo de amplificación. Las dos sondas de ADN se aproximan estrechamente, resultando en una resonancia fluorescente de la transferencia de energía entre los dos fluoróforos. La fluorescencia emitida es entonces detectada por el instrumento de medición, el cual es exclusivamente específico para el ADN del virus herpes. La eficiencia en el proceso puede ser reducida por inhibidores que pudieran estar presentes en una muestra impura, por lo que se ha implementado un control interno específico del equipo, lo cual previene malas interpretaciones o falsos negativos dados por inhibición de la amplificación o muestra insuficiente. El procedimiento puede ser realizado en aproximadamente 85 minutos¹⁴.

El ADN de herpesvirus ha sido detectado, por RCP, en muestras tomadas con hisopos de lesiones orales en 3 pacientes con diagnóstico de PV, que presentaron exacerbación especialmente de lesiones orales¹², y mas recientemente, en células mononucleares de sangre periférica y en lesiones cutáneas de pacientes con PV¹¹. En otro estudio, el ADN del herpesvirus humano tipo 8 (HVH-8) fue detectado en lesiones de pacientes con PV, mientras todos los especímenes de enfermedades ampollas de la piel no-pénfigo fueron negativas¹⁵. Cuando los productos de la RCP fueron secuenciados, estas secuencias fueron en su mayoría idénticas a la secuencia prototipo de HVH-8, sugiriendo que este herpesvirus pudiera tener tropismo para lesiones de PV

¹⁶. En contraste, otros han fallado para detectar ADN de HVH-8 en piel de pacientes con lesiones de PV ¹⁷.

Se ha propuesto que estas infecciones por herpes virus, en pacientes con PV y genéticamente susceptibles, podrían ser las mediadoras de daño celular por inducción de respuestas inmunológicas humorales y celulares aberrantes, con la posibilidad de convertirse en un factor pivote para la progresión en algunos casos de pénfigo¹¹.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio prospectivo, observacional, transversal, descriptivo, abierto, para determinar la prevalencia de la presencia de ADN del virus herpes simple en lesiones orales de pacientes con pénfigo vulgar oral de difícil control que cumplieran los siguientes criterios de inclusión: pacientes con diagnóstico de pénfigo vulgar confirmado con estudio histopatológico, pacientes mayores de 18 años, pacientes con enfermedad oral severa y persistencia de lesiones orales al menos 3 meses después de la remisión de las lesiones en piel, pacientes que sean derechohabientes del Instituto Mexicano del Seguro Social y en control mensual por la Clínica de Pénfigo. Los criterios de exclusión fueron: tratamiento con anticoagulantes y pacientes que no desearan participar en el estudio. Los datos fueron recopilados en formatos especiales que incluyeron: nombre, número de afiliación, dirección y teléfono, edad, sexo, tiempo de diagnóstico y evolución, criterio diagnóstico y tratamientos anteriores. Previo consentimiento informado, se citó a los pacientes para la toma de fotografías clínicas y para la recolección de muestras de secreción de las lesiones orales tomadas con hisopo estéril mediante fricción. Inmediatamente se colocaron en un medio de transporte en un tubo de ensayo estéril para ser trasladadas junto con un resumen clínico, y procesadas en el laboratorio de biología molecular mediante un sistema de detección cualitativa en tiempo real de RCP para virus herpes 1 y 2, (LightCycler®, Roche, Penzberg, Germany), con una técnica descrita ya previamente. El análisis estadístico se realizó por estadística descriptiva.

RESULTADOS

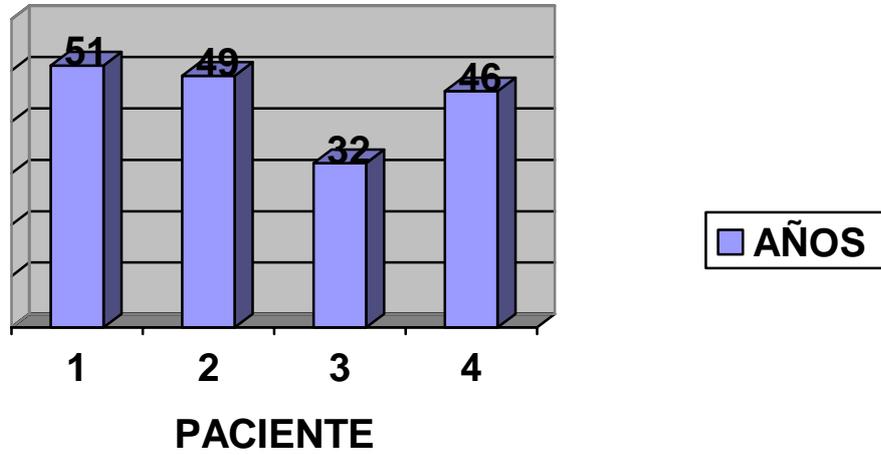
Se analizaron 60 expedientes pertenecientes a los pacientes con diagnóstico de PV que pertenecen a la clínica de Pénfigo del departamento de Dermatología del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional La Raza, de los cuales 4 cumplieron con los criterios de inclusión (Tabla 1). Ninguno de los pacientes tuvo un resultado positivo para DNA de herpes virus en lesiones orales. Un paciente fue del sexo masculino (25%), 3 (75%) del femenino; la edad promedio de estos fue 44.5 años (Grafica 1), y el tiempo de evolución con PV desde el diagnóstico fue en promedio de 3.6, con un rango de 6 meses a 10 años (Grafica 2). La localización más frecuente de las lesiones en los pacientes estudiados fue paladar, labios, lengua y mucosa yugal, esta última localización muy claramente delimitada en una paciente con problema traumático dentario. En todos los pacientes se encontraron exulceraciones, de las cuales en el 50% (2 pacientes) estaban bien delimitadas, con fondo limpio eritematoso, y en la otra mitad eran muy mal definidas, además de la presencia de costras hemáticas. No se evidenciaron ampollas. Los cuatro pacientes (100%) tenían una dosis de prednisona de más de 0.5 mg/kg/día al momento del estudio, además de otros 2 fármacos coadyuvantes (azatioprina, dapsona) a dosis mayores de 1.5 mg/kg/día para el control de la actividad oral (Grafica3). Además, una paciente (25%) desarrollo diabetes mellitus en los 6 meses previos al estudio, otra presentó actividad en una segunda mucosa (vaginal) al inicio del tratamiento, y una tercera presentó datos clínicos de sobreinfección micótica oral al momento del estudio.

Tabla 1. Características generales de los pacientes con pénfigo oral de difícil control.

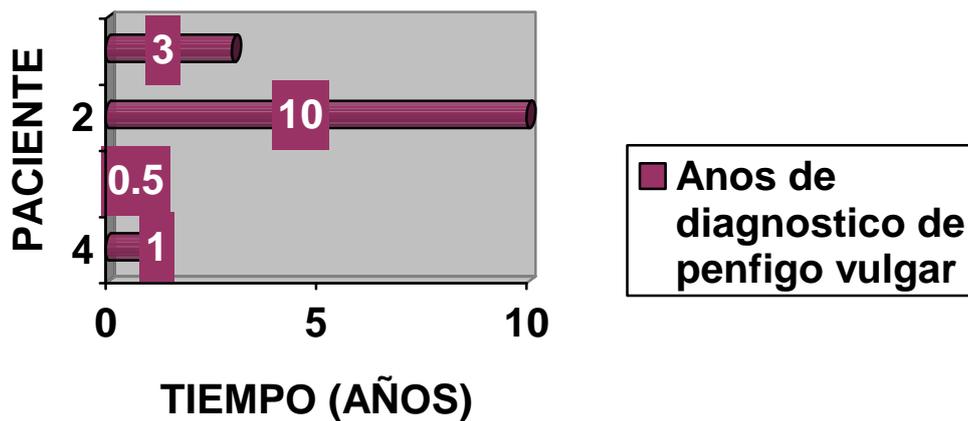
PACIENTE	SEXO	EDAD	AÑOS DESDE DX	LOCALIZACIÓN	MORFOLOGÍA	TRATAMIENTO AL MOMENTO DEL ESTUDIO (mgs/día)	COMENTARIOS
1	Fem	51	3	Mucosa yugal, paladar blando	Exulceraciones mal delimitadas	PDN 50, AZA 100, DPS 100	Desarrolló diabetes mellitus en el último año
2	Fem	49	10	Labios, paladar, piso de la boca	Exulceraciones confluentes bien delimitadas. Costras hemáticas	PDN 50, AZA 50, DPS 100	Afección vaginal inicial
3	Masc	32	0.5	Labios, lengua	Exulceraciones lineales bien delimitadas	PDN 50, AZA 100, DPS 100	
4	Fem	46	1	Labios, lengua, carrillos, paladar	Exulceraciones confluentes mal delimitadas, costras hemáticas	PDN 100, AZA100, DPS 100	Candidiasis oral

Abreviaturas: Fem: femenino. Masc: masculino. Dx: diagnóstico PDN: prednisona. AZA: azatioprina. DPS: dapsona

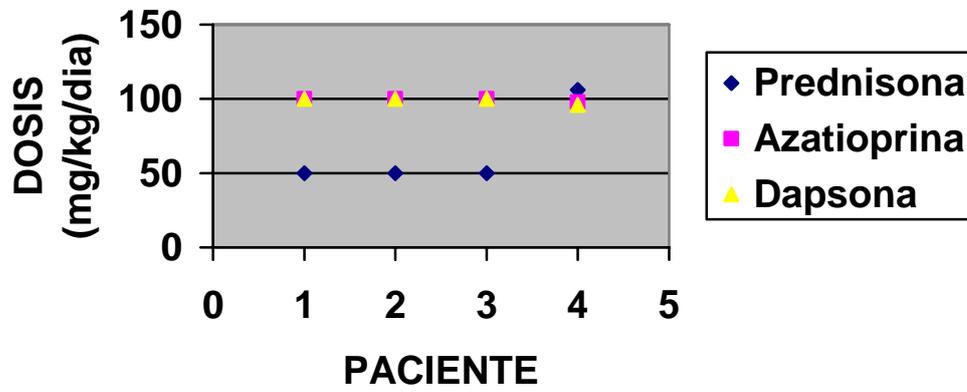
GRAFICA 1: DISTRIBUCIÓN POR EDADES



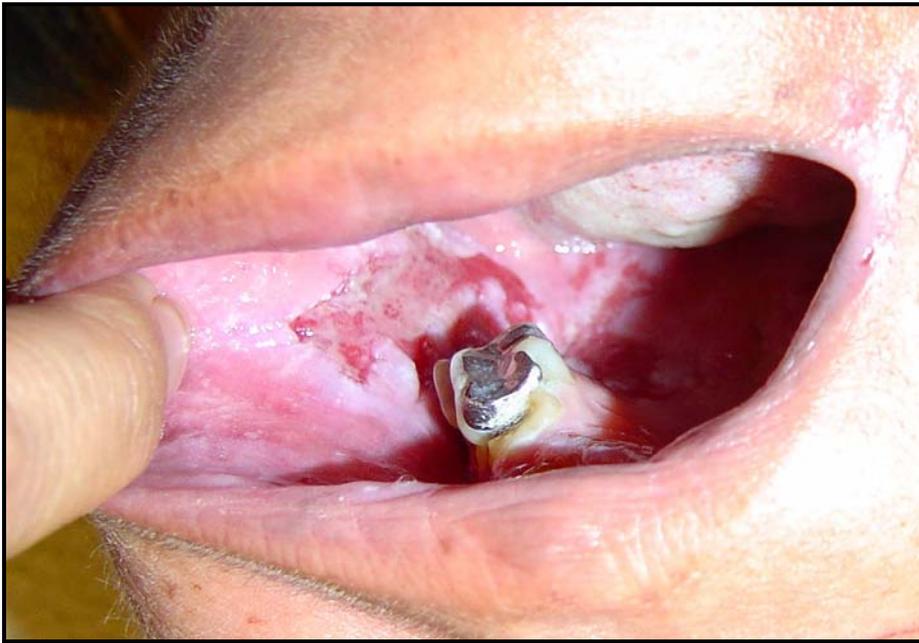
GRAFICA 2: TIEMPO DE DIAGNÓSTICO DE PÉNFIGO VULGAR



GRAFICA 3: TRATAMIENTO INMUNOSUPRESOR AL MOMENTO DEL ESTUDIO



FOTOGRAFÍAS CLÍNICAS



PACIENTE 1



PACIENTE 2

FOTOGRAFÍAS CLÍNICAS



PACIENTE 3



PACIENTE 4

DISCUSIÓN

A pesar de que no es un hallazgo común, varios reportes de casos han indicado el involucro de los herpes virus en lesiones orales de pacientes con pénfigo vulgar^{20, 11}. Sin embargo, pocos reportes han descrito la activación y/o exacerbación del pénfigo por una infección viral. Hasta el momento, se han realizado múltiples esfuerzos por aislar, visualizar, caracterizar, o de cualquier otra manera demostrar concluyentemente estos virus en lesiones por pénfigo, dando resultados controversiales, ya que mientras algunos han tenido poco éxito, otros han logrado concluir consistentemente la contribución de estos agentes, al menos en algunos casos de PV⁷. La detección del virus del herpes ha sido reportada solo en padecimientos realmente inducidos por este, y se considera un marcador del involucro viral en la patogenia de la enfermedad, a diferencia su presencia en sangre, donde se encuentra solo de manera transitoria y limitada al periodo de tiempo de la infección activa¹¹.

En este estudio, no obtuvimos indicios de la presencia del ADN de herpes simple tipo 1 o 2 a través de RCP en las lesiones de nuestros pacientes con enfermedad oral de difícil control.

Una de las debilidades del estudio radica en la falta de otros parámetros diagnósticos de comparación que incrementarían la identificación de los agentes virales para así comparar la utilidad de la prueba, y que al momento no tenemos disponibles, aunque ya ha sido documentada la superioridad de la prueba utilizada incluso al cultivo viral¹⁵. Además, no está del todo establecido el papel que desempeñan otros factores en la determinación de la severidad de las lesiones orales, afectando así la respuesta terapéutica, particularmente el trauma local y otros agentes infecciosos, mismos que fueron identificados en nuestro grupo de pacientes.

Otros de los factores que no están bien establecidos son las escalas de severidad, que actualmente se utilizan de una manera arbitraria, así como los criterios clínicos adecuados para establecer el término pénfigo vulgar oral, aunque ya se ha publicado un estudio previo que utiliza criterios de inclusión equiparables a los nuestros y en el que sí se identificó el ADN del virus²⁰.

En este pequeño grupo de pacientes pudimos observar, como se ha reportado en la literatura, que el pénfigo oral es más frecuente en el sexo femenino; que la mayor incidencia del padecimiento se presenta en la 4ª Y 5ª década de la vida¹; y que las

localizaciones orales mas frecuentes de afección fueron los relacionados con trauma crónico. Además, esta afección oral exclusiva no se vió relacionada con el tiempo de evolución desde el diagnóstico de pénfigo vulgar.

Si bien la muestra de nuestro estudio es pequeña, representa el 6.6 % de los pacientes con pénfigo vulgar en nuestra clínica, una cifra superior a la reportada en la literatura de otro centro dermatológico de concentración de la misma localidad, aunque es también evidente que el tamaño de la muestra no permite al momento identificar tendencias clínicas ni epidemiológicas significativas.

CONCLUSIONES

- 1) No se encontró evidencia de ADN de herpes virus en este grupo de pacientes con pénfigo vulgar oral de difícil control.
- 2) Los informes reportados al momento en relación a la identificación de los herpes virus y su repercusión en las lesiones orales de pénfigo vulgar no son concluyentes.
- 3) Existen factores confusores identificados en los pacientes en los cuales no se ha establecido su repercusión en la actividad de la actividad.
- 4) Son necesarias escalas de severidad y criterios clínicos consensados para aumentar la validez externa de los estudios al respecto.
- 5) El tamaño de la muestra no permite al momento identificar tendencias clínicas ni epidemiológicas significativas.
- 6) Es necesario continuar con la identificación de pacientes con pénfigo oral en nuestra clínica de pénfigo para identificar posibles agentes exacerbantes/perpetuantes, establecer parámetros clínicos para clasificación y tratamiento de los factores modificables implicados.

XI. BIBLIOGRAFÍA

1. De Peña J, Zambrano MT, Dessavre M et al. Pénfigo vulgar oral: estudio clinicoepiemiologico. *Dermatologia Rev Mex* 2001;45(4):180-6
2. Magaña JF, Nellen H, Halabe J. Penfigo. *Med Int Mex* 2001;17(5):230-35
3. Robinson N, Hashimoto T, Amagai M, et al. The new pemphigus variants. *J Am Acad Dermatol* 1999;40:649-71
4. Muellenhoff DO, Cukrowski DO, Morgan MD. Oral pemphigus vulgaris after anthrax vaccine administration: Association or coincidence? *J Am Acad Dermatol* 2004;50:136-9
5. Harman KE, Seed P, Gratian M, et al. The severity of cutaneous and oral pemphigus is related to desmogleín 1 and 3 antibody levels. *Br J Dermatol* 2001;144:775-80
6. Harman KE, Albert M. Guidelines for the management of pemphigus vulgaris. *Br J Dermatol* 2003;149:926-37
7. Guan-Qing W, Honghui X, Ya-Kun W, et al. Higer prevalence of human herpesvirus 8 DNA sequence and specific IgG autoantibodies in patients with pemphigus in China. *J Am Acad Dermatol* 2005;52:460-7
8. Tesis De Posgrado, numero de registro 2005-3501-001, 2005. Claudia Flores Aguilar. Evaluación de la efectividad a tratamiento con azatioprina y/o prednisona en pacientes con pénfigo vulgar y seborreico en el Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional “La Raza”.
9. Sarawat A, Kumar B. A new grading system for oral pemphigus. *Int J Dermatol* 2003;42:413-14
10. Scully C, Challacombe S. Pemphigus vulgaris: an update on etiopathogenesis, oral manifestations and management. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002;13(5):397-408
11. Tufano MA, Baroni A, Buommino E et al. Detection of herpesvirus DNA in peripheral blood mononuclear cells and skin lesions of patients with pemphigus by polymerasa chain reaction. *Br J Dermatol* 1999;141:1033-1039
12. Schlupen EM, Wollenberg A, Panel S et al. Detection of herpes simplex virus in exacerbated pemphigus vulgaris by polymerase chain reaction. *Dermatol* 1996;192:312-6

13. Gimeno C, Navarro D, Navarro M. Diagnostico microbiologico de herpesvirus. Procedimientos en Microbiologia. 2005. Disponible en <http://www.seimc.org/protocolos/microbiologia/>
14. Espy MJ, Uhl JR, Sloan LM et al. Real-Time PCR in clinical microbiology: applications for routine laboratory testing. Clin Microbiol Rev 2006;19(1);165-256
15. Schmutzhard J, Merete H, Zwegberg B, et al. Detection of herpes simplex virus type 1, herpes simplex virus type 2 and varicella zoster in skin lesions. Comparison of real-time PCR, nested PCR and virus isolation. J Clin Virol 2004;29(2):120-6
16. LightCycler HSV 1/2 Detection Kit. Instruction manual. Roche Diagnostics GMBH. Version 1, Junio 2003. Disponible en www.roche-applied-science.com/support
17. Memar OM, Rady PL, Goldblum RM, et al. Human herpesvirus 8 DNA sequences in blistering skin from patients with pemphigus. Arch Dermatol 1997;133:1247-1251
18. Jang H, Oh C, Lim J, et al. Detection of human herpesvirus 8 DNA in pemphigus and chronic blistering skin disease. J Korean Med Sci 2000;15:442-448
19. Bezold G, Sander CA, Flaig MJ et al. Lack of detection of human herpesvirus (HHV)-8 DNA in lesional skin of German pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus patients. J Invest Dermatol 2000;114:739-741