

Detección del virus del papiloma humano en mucosa oral de mujeres de Cali, Colombia

Diana Zambrano-Ríos^{1,2}, Fernández, Fabian³, Andres Matta-Miramar^{1,2}, Alejandra Arbelaez², Enrique Herrera-Castañeda⁴, Andres Castillo^{5,*}

Resumen

Introducción: Poco se sabe acerca de la presencia del VPH en la mucosa oral en población sana y cuales son los factores de riesgo que pueden llevar al virus a una infección persistente que conduzca al desarrollo de un carcinoma.

Objetivos: en el presente estudio la detección del VPH se realizó en muestras de ADN obtenidas de la mucosa oral de 76 mujeres sanas.

Métodos: el VPH se detectó mediante la técnica de PCR anidada para el gen viral L1. La genotipificación se realizó mediante la secuenciación directa del fragmento del gen L1 amplificado por el método de Sanger, seguido de un análisis de porcentajes de identidad.

Resultados: el porcentaje de detección de VPH fue de 6.6 por ciento. Los genotipos virales identificados fueron HPV-11, HPV-43 y HPV-72, todos clasificados de bajo riesgo oncológico. Además, se observó que el no uso del condón en este grupo de edad se asoció significativamente con la presencia de VPH en la mucosa oral ($p = 0.037$).

Conclusión: en la presente investigación exploratoria se evidenció una mayor detección de VPH en la mucosa oral de mujeres sanas y su presencia se asocia con una vida sexual activa sin una protección adecuada contra su transmisión.

Palabras clave: Virus del Papiloma Humano, mucosa oral, comportamiento sexual, uso del condón.

Human papilloma virus detection in oral mucosa of women from Cali, Colombia.

Abstract

Introduction: little is known about the presence of HPV in the oral mucosa in the healthy population and what risk factors can lead the virus to a persistent infection that leads to the development of a carcinoma.

Objectives: in the present study, HPV detection was performed on DNA samples obtained from the oral mucosa of 76 healthy women, and the presence of the virus was associated with the sexual behavior of the participants.

Methods: HPV was detected by the nested PCR technique for the viral gene L1. Genotyping was performed by direct sequencing of the L1 gene fragment amplified by the Sanger method, followed by an analysis of identity percentages.

Results: the percentage of detection of HPV was 6.6 percent. The viral genotypes identified were HPV-11, HPV-43 and HPV-72, all classified as low oncological risk. In addition, it was observed that the lack of condom usage in this age group was significantly associated with the presence of HPV in the oral mucosa ($p = 0.037$).

Conclusion: in the present exploratory research the detection of HPV in the oral mucosa of healthy women is evidenced, and its presence is associated with an active sexual life without adequate protection against its transmission.

Keywords: Human Papilloma Virus, oral mucosa, sexual behavior, condom usage.

Introducción

Los virus del papiloma humano (VPH) son un grupo de más de 150 virus ADN de doble cadena, donde alrededor de 40 genotipos virales se pueden propagar por contacto directo de mucosas durante el sexo vaginal, anal y oral¹. Más de la mitad de la población sexualmente activa se infecta en eda-

des tempranas por uno o varios genotipos de VPH; donde la mayoría resuelve espontáneamente la infección. El VPH es el agente causal necesario pero no suficiente para el desarrollo de cáncer de cuello uterino, siendo los genotipos HPV-16 y HPV-18 los responsables de casi el 70% de todos los casos². Los VPH pueden causar también cáncer de ano, de vagina, de vulva y de pene³. En los últimos años, se ha reportado la aso-

1 Escuela Nacional del Deporte, Cali, Colombia.

2 Doctorado en Ciencias Biomédicas, Escuela de Ciencias Básicas, Universidad del Valle, Cali, Colombia.

3 Doctorado en Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Escuela de Ciencias Básicas, Universidad del Valle, Cali, Colombia.

4 Departamento de Ginecología y Obstetricia, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia.

5 Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad del Valle, Cali, Colombia.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: andres.castillo.g@correounivalle.edu.co
Universidad del Valle, Calle 13 No 100-00.

Recibido: 22/11/2018; Recibido con modificaciones: 09/01/2019;

Aceptado: 23/02/2019

Cómo citar este artículo: D. Zambrano-Ríos, *et al.* Detección del virus del papiloma humano en mucosa oral de mujeres de Cali, Colombia. *Infectio* 2019; 23(3): 266-270

ciación del VPH con cánceres oro-faríngeos de paladar blando, de la base de la lengua y de las amígdalas, principalmente del genotipo VPH-16⁵. Aunque la mayoría de los cánceres de la oro-faringe han estado tradicionalmente asociados con el uso de tabaco y alcohol, el 30% de estos tipos de tumores se consideran ahora relacionados con la infección oral por VPH, el cual se transmite a través de relaciones sexuales tipo oral principalmente. A nivel mundial, la incidencia de cáncer de oro-faringe asociado con el VPH ha aumentado durante los últimos 20 años, especialmente en los hombres. Se ha calculado que, para el año 2020, el VPH causará más cánceres de oro-faringe que cánceres de cuello uterino en los países desarrollados como Estados Unidos⁶. Poco se conoce acerca de la presencia del VPH en la mucosa oral en población sana y que factores de riesgo pueden llevar al virus a lograr una infección persistente que derive al desarrollo de un carcinoma. En Colombia, se ha reportado la presencia de VPH en mucosa oral de hombres en un 4.5%⁷. En la presente investigación exploratoria se realizó la detección del VPH en muestras de ADN obtenidas de la mucosa oral de un grupo de mujeres aparentemente sanas, y se determinó potenciales tendencias o asociaciones entre la presencia del VPH en mucosa oral de las participantes con sus variables sociodemográficas y de comportamiento sexual.

Materiales y métodos

Población de estudio

El presente estudio es de tipo exploratorio en donde fueron captadas un total de 76 mujeres sanas que aceptaron participar mediante la firma de un consentimiento informado que autorizaba la toma de una muestra biológica y la realización de un cuestionario con preguntas sobre variables socio-demográficas y de comportamiento sexual. La 76 participantes fueron captadas entre el mes de junio de 2013 y mayo de 2014 en la ciudad de Cali, Colombia, de un grupo de 400 mujeres que habían participado anteriormente en el proyecto titulado "Infección del Virus del Papiloma Humano en placenta y su transmisión al recién nacido" de la Universidad del Valle/Colciencias (Código 11065-431-524).

El presente estudio contó con la aprobación del Comité Institucional de Revisión de Ética Humana de la Facultad de Salud de la Universidad del Valle (Acta de Aprobación N° 05-013 del primero de Marzo del año 2013).

Toma de la muestra biológica

La muestra biológica consistió en células de la mucosa oral recolectadas mediante un raspando de la cara interna de la mejilla con un hisopo estéril. Las muestras fueron re-suspendidas en 500 µL de buffer fosfato salino (10X PBS) a un pH 8.3, y almacenadas a -20°C hasta su posterior análisis. La extracción del ADN se realizó con el Kit comercial Puregene Bucal Cell Kit (QIAGEN, Alemania), siguiendo el protocolo del fabricante. La concentración y pureza de las muestras ADN se evaluó utilizando un espectrofotómetro NANODROP 2000 (Thermo Scientific, USA). Además, la integridad del ADN se

evaluó mediante la amplificación del gen de beta-globina con los cebadores PC03 = 5'-ACA CAA CTG TGT TCA CTA GC-3' y PC04 = 5'-CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC-3'.

Detección y genotipificación del VPH

La detección del ADN del VPH se realizó mediante la técnica molecular de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). En el procedimiento se realizó una amplificación anidada de un fragmento del gen L1 con los cebadores genéricos externos MY09: 5'-CGT CCM ARR GGA WAC TGA TC-3' y MY11: 5'-GCM CAG GGW CAT AAY AAT GG-3'; y con cebadores genéricos internos, GP5+:5'-TTT GTT ACT GTG GTA GAT ACT AC-3' y GP6+:5'-GAA AAA TAA ACT GTA AAT CAT ATT C-3'⁸. La mezcla de la primera reacción de amplificación del PCR anidado consistió de 0.2 ng de dNTPs; 10 pmol de cada cebador MY09/MY11, Taq 1x de buffer (100 mM tris-HCl), 15mM de MgCl₂, 1.5 unidades de Ampli Taq Gold (Perkin Elmer, USA). Las condiciones de amplificación fueron: una desnaturalización inicial de 1 min a 95°C; seguido por 40 ciclos de 95°C por 1 min, 50°C por 1 min, 72°C por 1 min, con un paso de extensión final de 72° por 1 min. Para la segunda reacción de amplificación del PCR anidado se utilizaron las siguientes condiciones de amplificación: desnaturalización inicial de 1 min a 95°C, seguida por 40 ciclos de 95°C por 1 min, 50°C por 1 min, 72°C por 1 min, con un paso de extensión final de 72° por 1 min. Los productos amplificados fueron visualizados en geles de agarosa al 2% teñidos con Bromuro de Etidio. Como control positivo fue utilizado el ADN extraído de la línea inmortalizada HeLa positiva para VPH-18.

Posteriormente, las muestras de ADN positivas para VPH se les realizó la identificación de su genotipo viral mediante secuenciación directa del fragmento del gen de L1 amplificado por el método Sanger⁹, seguido de un análisis de porcentajes de identidad con el algoritmo BLASTn usando como secuencias de referencia los genotipos de VPH almacenados en la base de datos del GenBank-NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Análisis estadístico

La principal variable dependiente del estudio fue la detección del VPH. Los resultados de la detección del VPH fueron analizados en relación a las siguientes variables independientes: edad, estado civil, nivel de educación, quintil de pobreza y uso de condón en el acto sexual. Se realizaron estimaciones de asociación entre la variable dependiente y las variables independientes a través de tablas de 2x2 en el caso de las variables dicotómicas y tablas 2xR para las variables politémicas sexo mediante el test exacto de Fisher con una significancia estadística del 5%. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa STATA14 (Copyright 1985-2015 StataCorp LP).

Resultados

En total, 76 muestras de ADN fueron evaluadas para la presencia del VPH, donde cinco muestras fueron positivas para el virus, porcentaje de detección del 6.6 por ciento (Tabla 1). Los genotipos del VPH identificados fueron: el VPH-11 y

VPH-43 en dos muestras con un porcentaje de detección del 2.6 por ciento, y el VPH-72 en una muestra con un porcentaje de detección de 1.3 por ciento.

Con relación a la edad de la participantes del estudio, el porcentaje de detección del VPH fue significativamente mayor para el grupo con edades entre los 25 a 31 años, con un valor de $p = 0.05$.

Para el estado civil, todas las participantes positivas para el VPH pertenecían a la categoría nunca casada o en unión libre. Ninguna de las participantes con nivel de educación superior fue positiva para el VPH. Con relación al quintil de riqueza, todas las participantes positiva para VPH pertenecían al nivel más bajo (Tabla 1).

Para el comportamiento sexual, 55 participantes señalaron tener en el momento de la encuesta una vida sexual activa y 21 participantes informaron no haber tenido relaciones sexuales en el último año (Tabla 1). Siendo en el grupo de participantes sexualmente activas donde se detectó únicamente la presencia del VPH. Además, al analizar solo las respuestas dadas por las participantes sexualmente activas acerca del uso de preservativos de barrera como el condón, los resultados mostraron que en el grupo de mujeres que respondieron no usar condón en sus relaciones sexuales, el porcentaje de detección de VPH es mucho mayor para el grupo de edad entre 25 a 31 años (Tabla 2), siendo lo anterior estadísticamente significativo con un valor de $p = 0.04$. En contraste, en el grupo de mujeres que afirmaron usar condón, no se encontró diferencias significativas en la detección de VPH por

grupo de edad. Igualmente, a las mujeres se les preguntó por: edad de la primera relación sexual; número de compañeros sexuales en los últimos seis meses; la presencia de verrugas genitales; y enfermedades de transmisión sexual. Sin embargo, ninguna de las anteriores variables de comportamiento sexual mostro una asociación significativa o alguna tendencias con la presencia del VPH.

Discusión

Es claro el papel causal del VPH en el desarrollo de un subgrupo de cánceres de cabeza y cuello^{10,11}. Sin embargo, poco se sabe sobre la presencia del VPH en mucosa oral en población sana. En nuestro estudio se logró determinar una proporción de detección de VPH en mucosa oral de 6.6 por ciento en un grupo de mujeres aparentemente sanas con edades entre los 18 a 31 años de la ciudad de Cali, Colombia. Este hallazgo es importante ya que permite conocer el porcentaje de la presencia de este virus en la cavidad oral en mujeres sanas, información útil para la realización de estudios epidemiológicos que pretendan determinar una asociación etiológica del VPH con cánceres de la cavidad oral. Igualmente, para estudios que pretendan determinar el efecto de la vacunación contra la infección oral del VPH en la población femenina vacunada¹². En Colombia, el Programa Ampliado de Inmunizaciones (PAI) de la secretaria de salud de Santiago de Cali a finales del año 2012 empezó jornadas de vacunación gratuita contra el VPH16/18/6/11 en niñas entre los 9 a 17 años de edad aplicando una segunda dosis a mediados del año 2013. La gran cantidad de niñas eran escolarizadas y en un menor porcentaje no escolarizadas. A pesar de que la

Tabla 1. Características sociodemográficas según la detección y genotipo del VPH en mucosa oral de 76 mujeres de la ciudad Cali, Colombia, 2013 -2014.

Variable Explicativa (n total)	Detección del VPH		Genotipo del VPH		
	Negativo	Positivo	VPH-11	VPH-43	VPH-72
	Número (%)		Número (%)		
Grupo de Edad*					
18 - 24 (61)	59 (96.72)	2 (3.28)	-	2 (3.28)	-
25 - 31 (15)	12 (80.00)	3 (20.00)	2 (13.33)	-	1 (6.67)
Estado Civil					
Nunca casada/Unida ⁷⁰	65 (92.86)	5 (7.14)	2 (2.86)	2 (2.86)	1 (1.43)
Casada/Separada ⁶	6 (100)	-	-	-	-
Educación					
Sin Educación/Primaria ²⁹	27 (93.10)	2 (6.90)	-	2 (6.90)	-
Secundaria ³¹	28 (90.32)	3 (9.68)	2 (6.45)	-	1 (3.23)
Superior ¹⁶	16 (100)	-	-	-	-
Quintil de riqueza					
Más bajo ⁴⁷	42 (89.36)	5 (10.64)	2 (4.26)	2 (4.26)	1 (2.13)
Bajo/Medio ²⁹	29 (100)	-	-	-	-
TOTAL⁷⁶	71 (93.42)	5 (6.58)	2 (2.63)	2 (2.63)	1 (1.32)

(*) Estadísticamente significativo, valor de $p \leq 0.05$

Tabla 2. Asociación entre las mujeres sexualmente activas que usan o no condón con la detección del VPH en mucosa oral.

Variable Explicativa (n total)	Detección del VPH		Valor de P
	Negativo	Positivo	
	Número (%)		
MUJERES SEXUALMENTE ACTIVAS			
Grupo de Edad que no usa condón			
18 - 24 ³⁵	34 (97.14)	1 (2.86)	0.037
25 - 31 ¹¹	8 (72.73)	3 (27.27)	
Grupo de Edad que usa condón			
18 - 24 ⁸	7 (87.50)	1 (12.50)	0.889
25 - 31 ¹	1 (100.00)	-	
TOTAL³⁵	50 (90.91)	5 (9.09)	

vacunación contra el VPH ya había iniciado para la época que se realizó el presente estudio, entre junio de 2013 y mayo de 2014, ninguna de las participantes reportó haber recibido la vacuna contra el VPH. Posiblemente debido a que la edad de las participantes era superior a los 17 años y la mayoría eran no escolarizadas.

Estudios previos realizados en Estados Unidos y en Europa han publicado porcentajes de detección de VPH en mucosa oral en individuos aparentemente sanos entre un 2% al 10%, el cual va incrementando con la edad^{13, 14}. En nuestro estudio encontramos resultados similares en donde se encontró un mayor porcentaje de detección de VPH en el grupo de edad de 25 a 31 años en comparación con el grupo de 18 a 24 años.

Un estudio previo en Colombia, se reportó para la ciudad de Cali la presencia del VPH-16 en un 43.8% en mucosa oral de 43 mujeres sanas mayores de 18¹⁵, lo anterior no concuerda con nuestros resultados de 6.6%, ni con lo reportado para otros países de Suramérica como Perú y Brasil, los cuales han detectado el VPH en mucosa oral de mujeres sanas en porcentajes entre un 5 al 6%^{16,17}. Además, no se identificó genotipos de alto riesgo oncogénico como el VPH-16. Los genotipos detectados fueron de bajo riesgo oncogénico: VPH-11, VPH-43 y VPH-72. En el 2010, fue publicada por el Instituto de Nacional de Cáncer de los Estados Unidos una revisión sistemática de 18 estudios que detectaron el ADN del VPH oral en 4581 sujetos sin cáncer para determinar la prevalencia del virus y llegaron a la conclusión que la presencia del VPH-16, una infección anogenital común, poco se detecta en muestras orales, sin embargo, una proporción pequeña de la población sana tiene infecciones orales por VPH con tipos que se sabe que causan cáncer en la región oral¹⁸.

En un estudio internacional realizado por la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC, siglas en inglés) en el 2005, señaló que la prevalencia de VPH en mujeres con citología normal para Colombia era del 13.9 por ciento, en nuestro estudio la cavidad oral en mujeres sanas la detec-

ción del virus fue menor, 6.6%, lo cual sugiere que la presencia del virus puede variar según el tejido o muestra biológica bajo estudio, posiblemente debido al tipo de relación sexual, sea vagina u oral y de la protección que se use en las mismas. En dicho estudio, los genotipos VPH-11, VPH-43 y VPH-72 presentan un porcentaje de detección de 1.4%, 2.4% y 2.6%, respectivamente¹⁹. Los anteriores porcentajes de detección para estos genotipos de VPH son similares a los encontrados en el presente estudio, a pesar de que las muestras analizadas proceden de la región de la boca y no del área vaginal.

Con relación a las variables sociodemográficas, el 80% de la población femenina participante en el estudio tenían una de 18 a 24 años, el 92 por ciento señalaron presentar un estado civil de soltera o en unión libre, el 37% tenían un nivel de educación alcanzado de secundaria y el 62 por ciento pertenecían al quintil de riqueza más bajo. Al respecto es importante resaltar que los resultados de nuestra investigación son similares a los reportados por la encuesta nacional de demografía y salud 2015 (ENDS 2015) en donde el 40 por ciento de la población femenina encuestada tenía un nivel de escolaridad de primaria a secundaria²⁰.

En nuestro estudio el porcentaje de mujeres que no alcanzaron a completar la secundaria fue del 38.1 por ciento, el porcentaje de mujeres que tiene secundaria completa fue del 40.8 por ciento, y el de las mujeres que tienen una educación superior fue del 21 por ciento. Lo anterior, sugiere que a pesar de contar con un escaso número de participantes, nuestra población de estudio refleja está acorde con el registro nacional para las mujeres en este grupo de edad.

En el presente estudio se observa que todas las mujeres con presencia de VPH en mucosa oral no eran casadas o estaban en unión libre. Además, con edades mayores a los 24 años que pertenecían al quintín de riqueza con nivel más bajo. Según la encuesta ENDS 2015, en Colombia, más de un tercio (35.6%) de la población femenina nunca ha estado casada o unida, y otro tercio está unida (32.6%), lo que equivale al 68% de las mujeres²⁰. Estos hallazgos podría estar relacionado directamente con el acceso limitado a los servicios de salud así como a métodos efectivos de protección frente a enfermedades de transmisión sexual que sumado al desconocimiento del tema incrementaría la vulnerabilidad de esta población a contraer este tipo de infecciones.

Estudios epidemiológicos han propuesto que el mecanismo más plausible mediante el cual se presenta la infección por VPH en cavidad oral es la práctica de sexo oral donde el número de parejas sexuales ha sido considerado el mayor factor de riesgo, y no se descarta que los besos pueda ser una vía de transmisión²¹. Los resultados del presente estudio sugieren que las mujeres activas sexualmente que no utiliza un método anticonceptivo de barrera como el condón presenta una mayor porcentaje de infección del VPH. En un estudio realizado en México se encontró que la utilización del condón está asociada a una menor presencia del VPH en mujeres

jóvenes activas sexualmente²², lo que el uso del condón puede bloquear la infección o reinfección entre los dos miembros de la pareja acortando, por tanto, la duración de la infección. Igualmente, en un estudio realizado en Estados Unidos, con mujeres jóvenes que habían iniciado recientemente la vida sexual activa, se encontró que aquellas mujeres cuyas parejas usaron condones en todas sus relaciones sexuales en los ocho meses anteriores a la prueba de detección de VPH, presentaron una probabilidad 70% inferior de adquirir una nueva infección por VPH que aquellas mujeres cuyas parejas habían usado el condón en menos del 5% de sus relaciones²³.

Un limitante del presente estudio es el tamaño de la muestra pequeño, el cual al ser exploratorio posiblemente no permitiría hacer generalizaciones con relación a los resultados obtenidos. Adicionales estudios con un número más elevado de participantes es necesario.

En conclusión, el presente estudio permitió determinar la tasa de detección del VPH en cavidad oral, en una población de mujeres aparentemente sanas no vacunadas, así como los genotipos prevalentes. Si bien nuestros resultados concuerdan con reportes previos, consideramos que pueden ser considerados como un punto de partida para futuros estudios donde se evalúen grupos poblacionales mayores con características y factores de riesgo variados que permitan plantear una asociación más amplia con respecto a las características evaluadas y la presencia del ADN del VPH.

Agradecimientos: los autores agradecen a la Universidad del Valle por la financiación del presente trabajo, código del proyecto: CI 1733.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que en este artículo no se hicieron experimentos con humanos o animales

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes. Los pacientes firmaron un consentimiento informado el cual reposa en el archivo de los investigadores.

Conflictos de interés. Los autores declaran no tener conflictos de interés

Bibliografía

- zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer*. 2002;2(5):342-50.
- Doorbar J, Quint W, Banks L, Bravo IG, Stoler M, Broker TR, Stanley MA. The biology and life-cycle of human papillomaviruses. *Vaccine*. 2012 ;30 Suppl 5:F55-70.
- Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV, Snijders PJ, Meijer CJ; International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med*. 2003; 348(6):518-27.
- Rettig EM, D'Souza G. Epidemiology of head and neck cancer. *Surg Oncol Clin N Am*. 2015 ;24(3):379-96.
- Gooi Z, Chan JY, Fakhry C. The epidemiology of the human papillomavirus related to oropharyngeal head and neck cancer. *Laryngoscope*. 2016;126(4):894-900.
- Gillison ML, D'Souza G, Westra W, Sugar E, Xiao W, Begum S, Viscidi R. Distinct risk factor profiles for human papillomavirus type 16-positive and human papillomavirus type 16-negative head and neck cancers. *J Natl Cancer Inst*. 2008 ;100(6):407-20.
- Vargas H, Rodríguez DM, Gómez SL, Díaz LP, Sánchez J, Golijow CD. Identification of Human Papilloma Virus (HPV) in the Oral Cavity of Asymptomatic Colombian Men. *Mol Biol*. 2015; 4:4.
- Fuessel Haws AL1, He Q, Rady PL, Zhang L, Grady J, Hughes TK, Stisser K, Konig R, Tyring SK. Nested PCR with the PGM09/11 and GP5(+)/6(+) primer sets improves detection of HPV DNA in cervical samples. *J Virol Methods*. 2004 ;122(1):87-93.
- Castillo A, Koriyama C, Higashi M, Anwar M, Bukhari MH, Carrascal E, Mancilla L, Okumura H, Matsumoto M, Sugihara K, Natsugoe S, Eizuru Y, Akiba S. Human papillomavirus in upper digestive tract tumors from three countries. *World J Gastroenterol*. 2011;17(48):5295-304.
- Gillison ML1, Koch WM, Capone RB, Spafford M, Westra WH, Wu L, Zahurak ML, Daniel RW, Viglione M, Symer DE, Shah KV, Sidransky E. Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. *J Natl Cancer Inst*. 2000;92(9):709-20.
- Castillo, A. HPV infection and carcinogenesis in the upper aero-digestive tract. *Colombia Médica*, 2011. 42(2): 233-242.
- Pardo C, Cendales R. Incidencia, mortalidad y prevalencia de cáncer en Colombia, 2007-2011. *Instituto Nacional de Cancerología*, 2015; 1:148.
- Rautava J, Syrjänen S. Human papillomavirus infections in the oral mucosa. *J Am Dent Assoc*. 2011;142(8):905-14.
- D'Souza G, Agrawal Y, Halpern J, Bodison S, Gillison ML. Oral sexual behaviors associated with prevalent oral human papillomavirus infection. *J Infect Dis*. 2009;199(9):1263-9.
- Mancilla LI, Aristizabal D, Tamayo O, Acevedo SM, et al. Factores de riesgo asociados a la infección con papilomavirus humano tipo 16 en cavidad oral en una población de la ciudad de Cali en 2011. *Ciencia & Salud*. 2012; 1(2):11-20.
- Rosen BJ, Walter L, Gilman RH, Cabrera L, Gravitt PE, Marks MA. Prevalence and correlates of oral human papillomavirus infection among healthy males and females in Lima, Peru. *Sex Transm Infect*. 2016; 92(2):149-54.
- Oliveira LH, Santos LS, Silva CO, Augusto EF, Neves FP. Papillomavirus infections in the oral and genital mucosa of asymptomatic women. *Braz J Infect Dis*. 2017; 21(1):88-91.
- Kreimer AR, Bhatia RK, Messeguer AL, González P, Herrero R, Giuliano AR. Oral human papillomavirus in healthy individuals: a systematic review of the literature. *Sex Transm Dis*. 2010;37(6):386-91.
- Clifford GM, Gallus S, Herrero R, Muñoz N, et al. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. *Lancet*. 2005; 366 (9490):991-8.
- Profamilia. Encuesta Nacional de Demografía y Salud 2015 (ENDS 2015). 2015.
- D'Souza G, Agrawal Y, Halpern J, Bodison S, Gillison ML. Oral sexual behaviors associated with prevalent oral human papillomavirus infection. *J Infect Dis*. 2009;199(9):1263-9.
- Gómez CO, Champion JD, Monsiváis MGM. Factors Protecting Male and Female Adolescents in Mexico From Human Papillomavirus Infection. *Hisp Health Care Int*. 2018 ; 16(1):20-28.
- Winer RL, Hughes JP, Feng Q, O'Reilly S, Kiviat NB, Holmes KK, Koutsky LA. Condom use and the risk of genital human papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med*. 2006 ;354(25):2645-54.