



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRIA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
MÉDICAS ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

**“Prevalencia de VPH en la mucosa
bucal de jóvenes universitarios y sus
factores asociados”**

TESIS DE MAESTRÍA

Que para obtener el grado de
Maestra en Ciencias de la Salud

Campo de estudios principal en
Epidemiología

Presenta la
C.D. Dámaris Sosa De Antuñano

Tutores
Dr. Adelfo Enrique Acosta Gío
Dr. Alejandro Manuel García Carrancá

México, DF.

Junio de 2011.



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.

AGRADECIMIENTOS

**El corazón del entendido adquiere sabiduría;
Y el oído de los sabios busca la ciencia.**
Proverbios 18:15 (RV-1960)

A nuestro Dios y Padre, Creador del cielo y la tierra

Porque he visto Su mano poderosa guiando y protegiendo mi vida. Porque me ha dado fortaleza en los momentos de flaqueza y porque ha colocado en mi camino a personas valiosas que han sido de gran bendición. ¡A Dios sea la gloria y la honra!

A mis padres Roberto y Yuli, y a mi hermana Berenice

Porque han sido mis maestros, mi apoyo y aliento para seguir adelante, aún en la distancia. Gracias por todo lo que han hecho por mí. Por sus oraciones y cariño constante. ¡Gracias! 😊

A mi prometido Juan

Porque en esta etapa de mi desarrollo profesional, ha sido uno de los principales impulsores. Gracias por tu amor, paciencia y apoyo incondicional. 😊

A mis tíos y tías

Alfredo, Lupita, Abel y Mary

Porque me recibieron en sus hogares con hospitalidad y cariño. Estoy en deuda con ustedes. ¡Muchas gracias por su apoyo!

Al Dr. Enrique Acosta

Por enseñarme a hacer investigación odontológica poco convencional. Porque me recibió como becario de Verano de Investigación hace 6 años, y lo que aprendí en su laboratorio cambió para siempre mis aspiraciones profesionales. ¡Muchas gracias, doc! 😊

Al Dr. Alejandro García Carrancá y su equipo

Rocío Méndez, Miriam Guido, Pedro, Verónica, José Luis.

Porque abrieron las puertas su laboratorio en el Instituto de Investigaciones Biomédicas y me enseñaron las técnicas y procedimientos necesarios para el desarrollo experimental de esta investigación.

A mis amigos de la maestría

Mariana, Berenice, Isaac y Eduardo

Porque la amistad y apoyo que me brindaron y porque juntos compartimos una etapa académica única e inolvidable.

¡Agradezco a Dios el haberlos conocido!

A mis amigas

Grace, Angie, Claudia, Elizabeth, Mariana y Joyce

Por su amistad sincera y su corazón generoso que nos ha hecho hermanas.

A mis profesores

Por su dedicación constante y por estar al pendiente de cada uno de sus alumnos.

A la Dra. Leonor Sánchez

Por la asesoría e instrucción que me brindó antes, durante y después de la maestría. Por su apoyo desinteresado, ¡Muchas gracias!

A Yazmín, Berenice, Tania, Jonathan y Enrique

Porque dedicaron muchas horas de su tiempo y se comprometieron plenamente con esta investigación. Sin su valiosa ayuda no hubiese podido concluir el trabajo de campo. ¡Muchas gracias!

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)

Por la beca que me permitió realizar la Maestría en Ciencias de la Salud en el Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Médicas, Odontológicas y de la Salud del Posgrado de la Facultad de Medicina de la UNAM.

A la Dirección General de Asuntos de Personal Académico de la UNAM

Porque a través del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) se obtuvieron los recursos financieros para el desarrollo de esta investigación.

A todas y cada una de las personas que contribuyeron a la revisión y evaluación de este proyecto.

Dr. Pablo Kuri Morales

Dra. Alejandra Moreno Altamirano

Dra. Elsa Sarti Gutiérrez

Dr. Arturo Revuelta Herrera

Dra. Claudia Infante Castañeda

INDICE TEMÁTICO

ÍNDICE GENERAL.....	4
ÍNDICE DE FIGURAS.....	6
ÍNDICE DE TABLAS.....	7
ABREVIATURAS.....	8
SIGLAS.....	9
SÍMBOLOS.....	9
RESUMEN.....	10
1. Introducción.....	12
2. Marco teórico.....	13
2.1 Virus papiloma humano.....	13
2.2 Clasificación del VPH.....	14
2.3 VPH y cáncer bucal.....	14
2.4 VPH en mucosa bucal normal.....	15
2.5 VPH en la boca de jóvenes.....	16
2.6 VPH y conducta sexual.....	19
2.7 VPH y consumo de tabaco y alcohol.....	20
2.8 VPH y consumo de mariguana.....	21
2.9 VPH y su diagnóstico.....	22
3. Planteamiento del problema.....	24
4. Pregunta de investigación.....	25
5. Justificación.....	26
6. Objetivos de estudio.....	27
6.1 Objetivo general.....	27
6.2 Objetivos específicos.....	27
7. Hipótesis de investigación.....	27
8. Metodología.....	28
8.1 Estrategia general del estudio.....	28
8.2 Diseño del estudio.....	29
8.3 Descripción de la población de estudio.....	29
8.3.1 Ubicación temporal y unidad de análisis.....	29
8.4 Selección de la muestra de estudio.....	29
8.4.1 Cálculo del tamaño de muestra.....	29
8.4.2 Diseño muestral.....	30
8.4.2.1 Marco muestral.....	30
8.4.2.2 Última unidad de muestreo.....	31
8.4.3 Método de muestreo.....	31
8.5 Criterios de selección.....	32
8.5.1 Criterios de inclusión.....	32
8.5.2 Criterios de exclusión.....	32
8.5.3 Criterios de eliminación.....	32

8.6 Instrumento.....	32
8.7 Trabajo de campo.....	33
8.7.1 Entrevistadores.....	33
8.7.2 Capacitación.....	33
8.8 Modelo conceptual de las variables de estudio.....	34
8.9 Operacionalización de las variables de estudio.....	36
8.10 Procedimientos.....	36
8.10.1 Colección de células exfoliadas de mucosa bucal.....	36
8.10.2 Procedimientos de laboratorio.....	37
8.10.2.1 Extracción de DNA.....	37
8.10.2.2 Amplificación.....	38
8.10.2.3 Detección de VPH mediante PCR.....	38
8.11 Plan de análisis estadístico.....	39
9. Resultados.....	41
10. Discusión.....	48
11. Conclusión.....	52
12. Consideraciones éticas.....	53
13. Infraestructura.....	56
14. Cronograma de actividades.....	56
15. Referencias bibliográficas.....	57
16. Anexos.....	63
Anexo 1. Instrumento de recolección de datos. Versión piloto.....	63
Anexo 2. Instrumento de recolección de datos. Versión final.....	65
Anexo 3. Estrategia para la aplicación del cuestionario.....	67
Anexo 4. Operacionalización de las variables.....	68
Anexo 5. Formato de consentimiento informado.....	74
Anexo 6. Concentración y pureza del DNA genómico extraído.....	76
Anexo 7. Verificación de la presencia de producto de amplificación de DNA genómico mediante β -globina (280 pb) por electroforesis en gel de agarosa al 1.5%.....	85
Anexo 8. Verificación de la presencia de producto de amplificación de DNA genómico mediante MY09/11 (450 pb) por electroforesis en gel de agarosa al 1.5%.....	87
Anexo 9. Verificación de la presencia de producto de amplificación de DNA genómico mediante MY09/11 (450 pb) por electroforesis en gel de agarosa al 1.5%.....	88
Anexo 10. Verificación de la presencia de producto de amplificación de DNA genómico mediante PGMY09/11 (450 pb) por electroforesis en gel de agarosa al 1.5%.....	89
Anexo 11. Carta de aprobación de proyecto.....	90
Anexo 12. Hoja informativa sobre la infección bucal por VPH.....	91

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa genómico del virus papiloma humano tipo 16.....	13
Figura 2. Modelo conceptual: “Prevalencia de VPH en la mucosa bucal de jóvenes universitarios y sus factores asociados”.....	35

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Proporciones reportadas de VPH en boca.....	17
Tabla 2. Estudios que buscaron VPH en boca de individuos jóvenes.....	18
Tabla 3. Elementos de la conducta sexual.....	21
Tabla 4. Prevalencia de VPH en boca según el instrumento de colección de muestras.....	23
Tabla 5. Proporciones para la selección de alumnos en licenciatura.....	31
Tabla 6. Características demográficas de la población estudiada en pregrado.....	41
Tabla 7. Características demográficas de la población estudiada en posgrado.....	42
Tabla 8. Respuestas de los participantes sobre la práctica de sexo oral activo y su orientación sexual.....	44
Tabla 9. Respuestas de los participantes sobre la práctica de relaciones sexuales vaginales y beso francés.....	45
Tabla 10. Respuestas de los participantes sobre su consumo de tabaco y marihuana.....	46
Tabla 11. Respuestas de los participantes sobre su consumo de alcohol.....	47

ABREVIATURAS

APC	Antecedente personal de cáncer
AR	Alto riesgo
BR	Bajo riesgo
CB	Cáncer bucal
CBCE	Carcinoma bucal de células escamosas
CCECC	Carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello
Cols.	Colaboradores
CU	Ciudad Universitaria
DEP	División de Estudios Profesionales
DEPeI	División de Estudios de Posgrado e Investigación
EUA	Estados Unidos de América.
FO-UNAM	Facultad de Odontología de la UNAM
IIB-UNAM	Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM
M	Media (promedio)
MR	Marca registrada
ND	Información no disponible
NNN	N-nitrosornicotina, carcinógeno nitrosamina que se encuentra en varios productos del tabaco.
PAR	Probable alto riesgo
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa (por sus siglas en inglés)
PUEO	Plan Único de Especialidades Odontológicas
RM	Razón de momio
RP	Razón de prevalencias
RU	Reino Unido
SS	Secretaría de Salud
UAM	Universidad Autónoma Metropolitana
UNAM	Universidad Nacional Autónoma de México
VPH	Virus papiloma humano
VPH+	Se refiere a un resultado positivo de VPH en boca.
VPH-	Se refiere a un resultado negativo de VPH en boca.

SIGLAS

CDC	Centros para el Control y Prevención de Enfermedades
DNA	Ácido desoxirribonucleico (por sus siglas en inglés)
dNTPs	Desoxirribonucleico trifosfato (por sus siglas en inglés)
IARC	Agencia internacional para la investigación en cáncer, por sus siglas en inglés: International Agency for Research on Cancer
IC _{95%}	Intervalo de confianza al 95%

SÍMBOLOS

°C	Grados Celsius
μl	Microlitro
μM	Micromolar
mg	Miligramo
MgCl ₂	Cloruro de magnesio
mL	Mililitro
mM	Milimolar
ng	Nanogramo
nm	Nanomolar
Pb	Pares de bases
rpm	Revoluciones por minuto

RESUMEN

Antecedentes: No se ha documentado la prevalencia de VPH en boca de individuos jóvenes. Algunos cánceres bucales parecen estar asociados con la presencia de VPH 16/18. El cáncer bucal afecta principalmente a los hombres a partir de la cuarta década de la vida, posiblemente por el efecto acumulativo a diversos factores de riesgo.

Objetivo: Determinar la prevalencia del VPH en la mucosa bucal de jóvenes universitarios alumnos de la Facultad de Odontología de la UNAM (FO-UNAM), Campus Ciudad Universitaria, inscritos en el ciclo escolar 2010-0 y sus factores asociados.

Metodología: Estudio transversal realizado entre agosto 2009 y diciembre 2010 en el que participaron alumnos inscritos en licenciatura y posgrado de la FO-UNAM seleccionados al azar. Cada participante respondió un cuestionario con 29 reactivos cerrados sobre hechos concretos de la conducta sexual, consumo de tabaco, consumo de alcohol y consumo de marihuana. Se obtuvieron muestras biológicas de células exfoliadas de bordes laterales de lengua y carrillos. Se extrajo DNA, se identificó un fragmento del gen β -globina en la amplificación y la detección del VPH en boca se realizó con los primers MY09/PGMY09 y MY11/PGMY11 procesados en mediante PCR. El análisis estadístico descriptivo se realizó en el paquete estadístico SPSS versión 18. Se obtuvieron razones de prevalencias (RP), intervalos de confianza ($IC_{95\%}$) y el valor de $p < 0.05$ se consideró como estadísticamente significativo.

Resultados: La prevalencia del VPH en boca de los alumnos de odontología de licenciatura y posgrado inscritos en el ciclo escolar 2010-0 fue de 3.2% (20/619 observaciones válidas). La tasa de respuesta (cuestionario/citología) fue de 91.3% en licenciatura y de 96.5% en posgrado. Dos tercios de los participantes (citología/cuestionario) fueron mujeres lo cual es representativo de la población inscrita en la FO-UNAM. La edad promedio de los participantes fue de 21.5 años. La presencia de VPH en boca tuvo una asociación estadísticamente

significativa con haber tenido sexo oral activo con ≥ 6 personas en toda la vida [RP=18.2; IC_{95%}=6.38-51.86; $p=0.0001$] y en los últimos 12 meses [RP=5.85; IC_{95%}=1.65-20.75; $p=0.0051$]; con haber tenido RSV por primera vez a los ≤ 16 años [RP=5.17; IC_{95%}=1.87-14.27; $p=0.0152$]; con haber tenido RSV con ≥ 4 personas en toda la vida [RP=5.07; IC_{95%}=1.64-15.62; $p=0.0027$], y con ≥ 4 personas en los últimos 12 meses [RP=3.07; IC_{95%}=1.39-6.78; $p=0.0074$].

Conclusiones: Los resultados de esta investigación muestran que la presencia en boca de VPH se relaciona significativamente con hechos concretos de la conducta sexual de individuos jóvenes. No hubo asociación con el consumo de tabaco o alcohol, ni con el consumo de marihuana. Esta investigación epidemiológica aporta información científica relevante sobre la prevalencia del VPH en boca de jóvenes con mucosa bucal aparentemente sana y sus factores asociados.

1. INTRODUCCIÓN

La mayoría de los adultos en algún momento de la vida tuvieron, tienen o van a tener virus papiloma humano (VPH). A la fecha, se conocen más de 100 tipos de VPH que están clasificados como de bajo, probable y alto riesgo según la relación presente entre el virus y el desarrollo de cáncer cérvico-uterino. Algunos tipos de alto riesgo como el VPH 16 y 18 han sido encontrados en las biopsias de pacientes con cáncer bucal.

Algunos estudios han reportado la presencia de VPH en individuos jóvenes con mucosa bucal aparentemente sana; sin embargo, la información proviene de investigaciones en las que ni el diseño de estudio y ni la metodología empleada fueron las adecuadas. Ya que, por ejemplo, la mayoría de estos trabajos han empleado muestras de conveniencia obtenidas a partir de estudios de casos y controles.

Aunque a la fecha se desconoce el mecanismo de transmisión del VPH en boca, éste se ha relacionado con hechos concretos de la conducta sexual tales como el número de parejas sexuales vaginales y de sexo oral activo, así como el uso infrecuente de barreras de protección durante la relación sexual (oral y/o vaginal) y la edad temprana de la primera relación sexual. Sin embargo, la información no es concluyente.

En México no se ha realizado un estudio que establezca la prevalencia de VPH en la boca de jóvenes universitarios ni se han identificado los factores relacionados. Por lo que esta investigación epidemiológica ofrece información relevante sobre el tema.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Virus papiloma humano

El virus papiloma humano (VPH) es un virus de DNA que pertenece a la familia de los *Papillomaviridae*, y es responsable de lesiones epiteliales benignas y malignas en piel y mucosas. El tamaño del virus es de 52-55nm, tiene forma icosaédrica y sin envoltura. El genoma del VPH es de forma circular, está compuesto por una doble cadena de DNA con un tamaño aproximado de 8000 pares de bases (pb) y se divide en tres regiones^{1,2} como se aprecia en la Figura 1.

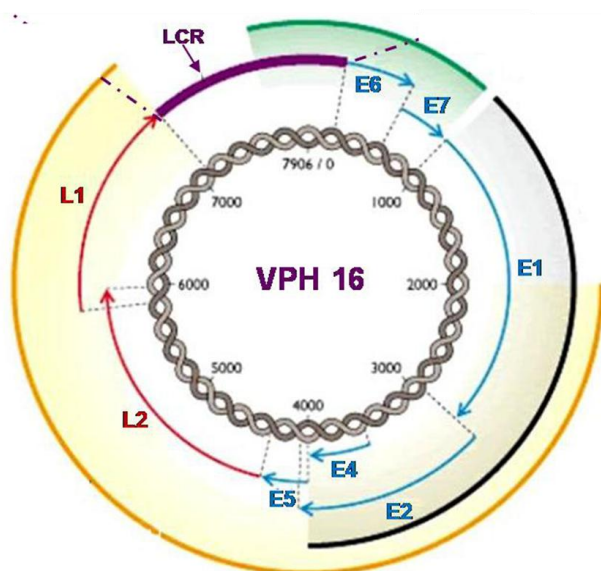


Figura 1. Mapa genómico del virus papiloma humano tipo 16. En la parte inferior se ilustra el genoma viral que está dividido en tres regiones de mando: la región temprana E (en azul), la región tardía L (en rojo) y una región larga de control no codificante (LCR en púrpura). Tomado de: Los Alamos National Laboratory.³

La región temprana (E) comprende el 50% del genoma viral y codifica para seis proteínas (E1, E2, E3, E4, E5, E6 y E7) no estructurales con función reguladora, involucradas en la replicación y transformación celular. La región tardía (L) que ocupa el 40% del genoma viral y la expresión de sus genes marca el inicio de los eventos tardíos para que se complete el ciclo de vida del virus y codifica para dos proteínas estructurales L1 y L2, que es una región perdida o que no se expresa después de la integración. Por último, la región larga de control (LCR) tiene alrededor de 850 pb, lo que representa al 10% del genoma viral, no codifica para ninguna proteína y se encuentra ubicada entre los genes L1 y E6.³

2.2 Clasificación de VPH

En 2003 el grupo de la Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) unificó su clasificación epidemiológica del VPH con la clasificación existente basada en la agrupación filogenética del virus, quedando como sigue:

- 1) Quince tipos de *alto riesgo* (AR): 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 y 82.
- 2) Tres de *probable alto riesgo* (PAR): 26, 53 y 66.
- 3) Once tipos de *bajo riesgo* (BR): 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81.

Esta distinción como de alto y bajo riesgo está dada en virtud de su asociación con el cáncer cérvico-uterino.⁴

2.3 VPH y cáncer bucal

La presencia del VPH en cavidad bucal se documentó por primera vez en 1983, vinculada a una posible relación con el carcinoma bucal de células escamosas.⁵ Desde entonces, la mayoría de los autores se han concentrado en investigar la relación etiológica entre el VPH y los carcinomas de células escamosas presentes en cabeza y cuello, incluyendo la boca.

Recientemente Grulich y cols., realizaron una revisión de la literatura con el propósito de identificar la evidencia epidemiológica del papel que ejerce el VPH en los cánceres humanos, destacando que el VPH se encuentra presente en ~35% de los cánceres orofaríngeos y en ~25% de otros tipos de cáncer en boca.⁶

Otros estudios han explorado la hipótesis de que algunos de los factores de riesgo para cáncer bucal podrían también estar relacionados con el VPH en boca como el consumo frecuente de tabaco y alcohol,⁷ algunas prácticas sexuales como el número de parejas de sexo oral y vaginal.⁸ Los tipos de VPH de alto riesgo, 16 y 18 principalmente, han sido relacionados con la presencia de carcinoma bucal de células escamosas (CBCE) (RM=4.94, IC_{95%}=1.43-17.10,

p=0.012).⁹ Adicionalmente, cuando los tipos de VPH de alto riesgo interactúan con el consumo frecuente de tabaco, el riesgo de desarrollar carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (CCECC) es de RM=5.5 (IC_{95%}=2.1-14.1). Cuando los pacientes con CCECC que presentan tipos de VPH de alto riesgo además consumen alcohol con frecuencia el riesgo se incrementa a una RM=18.8 (IC_{95%}=5.1-69.5).¹⁰

2.4 VPH en mucosa bucal normal

La detección de VPH en mucosa bucal normal sugeriría que no todas las infecciones por VPH en boca derivarán en alguna lesión maligna. Probablemente la geografía y otros factores de exposición relacionados, así como los aspectos conductuales, juegan un papel importante en el desarrollo de CBCE.¹¹ La información encontrada sobre la presencia del VPH en boca, a la fecha es poco concluyente. Esto se debe principalmente a que los autores han realizado estudios en individuos seleccionados por conveniencia y no ofrecen información suficiente sobre los individuos participantes con mucosa bucal normal. Por ejemplo, Luo y cols., realizaron un estudio en Taiwan donde encontraron una prevalencia de VPH de 13.3% en una muestra de conveniencia conformada por 52 hombres y 38 mujeres de entre 15 y 75 años que acudieron a cirugía de tercer molar inferior impactado en una clínica de cirugía bucal.¹² En el artículo, los autores no presentan mayor información sobre las características demográficas de sus participantes con mucosa bucal normal. En otro estudio, Sugiyama y cols., reportaron 36% de prevalencia de VPH en tejido bucal colectado mediante biopsia, en 16 de 44 pacientes con mucosa bucal normal de un hospital en Japón. La edad de estos participantes oscilaba entre 39 y 79 años.¹³ Por otro lado, utilizando espátulas metálicas estériles para la colección de células de la mucosa bucal normal de 23 personas de entre 8 y 72 años (media=38.1 años), Furrer y cols., reportaron una prevalencia de VPH en boca de 9%, aunque no indicaron la proporción correspondiente a los grupos de edad de los participantes.¹⁴ Tachezy y

cols., realizaron un estudio de casos y controles donde reportaron, en su grupo control (n=111), una prevalencia de VPH de 11.7% en células de mucosa bucal normal obtenida mediante enjuague bucal. La media en la edad de los controles fue de 54.3 años.¹⁵ En 2002, Giovanelli y cols., reportaron la presencia de VPH (5.6%) en la boca de pacientes consecutivos (n=90) de una clínica dental, de entre 20 y 76 años de edad (media=44.5 años). Todos con mucosa bucal aparentemente normal.¹⁶ Recientemente, Sánchez-Vargas y cols., realizaron un estudio que incluyó a 46 mujeres voluntarias de la “Clínica de Displasias del Sector Salud de Ciudad Juárez”, que tuvieron diagnóstico previo de neoplasia intraepitelial cervical y que además no consumieran alcohol o tabaco. Todas las mujeres tuvieron algún tipo de VPH en boca, y 72% de ellas reportaron practicar con frecuencia sexo oral activo. La media en la edad de las participantes fue de 35 años (19-63 años). Los autores no presentaron las proporciones de presencia de VPH en boca por grupos de edad.¹⁷ La Tabla 1 presenta algunas de las proporciones reportadas y las diferencias encontradas entre las poblaciones estudiadas.

2.5 VPH en la boca de jóvenes

Varios autores han buscado documentar la presencia de VPH en boca. En tales estudios se ha incluido a individuos de todas las edades.^{12,14} Pocos estudios han buscado, específicamente, VPH en la boca de individuos jóvenes. Por ejemplo, D'Souza y cols., buscaron identificar factores asociados con la presencia de VPH en cavidad bucal.²² Los autores encontraron una prevalencia de 2.9% en un grupo de hombres universitarios y una asociación estadísticamente significativa (p=0.046) entre VPH bucal y tener ≥ 10 y ≥ 6 parejas de sexo oral en toda la vida y recientes, respectivamente. Así como haber besado con boca abierta a ≥ 6 personas.

Tabla 1. Proporciones reportadas de VPH en boca.

Autor, año	%	Instrumento	Población
Anaya-Saavedra G, 2008. ⁷	17.3%	Cytobrush	248 participantes controles de estudio, sin lesión bucal aparente ni antecedente personal de cáncer; pareados sexo y edad (54 a 72 años*).
Furrer VE, 2006. ¹⁴	9%	Espátula metálica estéril	Pacientes con mucosa bucal clínicamente normal de entre 8 y 72 años*.
Giovanelli L, 2002. ¹⁶	5.6%	Cytobrush	90 pacientes consecutivos de una clínica dental, de entre 20 y 76 años de edad (media=44.5 años*). Todos con mucosa bucal aparentemente normal.
Kreimer AR, 2011. ¹⁸		Enjuague bucal	1,680 hombres de tres países (591 de México) sin diagnóstico previo de cáncer de pene o ano, sin reporte actual de enfermedad de transmisión sexual y/o VIH-sida.
	3.2%		Para el grupo de 17-24 años*.
	3.6%		Para el grupo de 25-34 años*.
Luo CW, 2007. ¹²	13.3%	Cytobrush	90 pacientes de 15 a 75 años* que acudieron a cirugía de 3er molar inferior impactado.
Marais DJ, 2006. ¹⁹	3.5%	CerviBrush	116 adultos de 20 a 61 años* pacientes de una clínica dental.
Matsushita K, 2011. ²⁰	6.1%	ND	196 mujeres sexoservidoras de entre 18 y 45 años (media=28 años*).
Saini R, 2010. ²¹	5.7%	DNA-Pap Cervical Sampler	70 mujeres con cáncer cervical de 30 años* y más. (De las participantes entre 30 y 49 años de edad, n=22, ninguna tuvo VPH en la boca).
Sánchez-Vargas LO, 2010. ¹⁷	100%	Hisopo	46 mujeres de entre 19 y 63 años*, con lesiones cervicales, que reportaron no fumar cigarrillos, ni consumir alcohol.
Sugiyama M, 2003. ¹³	36%	Biopsia	44 pacientes de entre 39 y 79 años*, con mucosa bucal normal de un hospital.
Tachezy R, 2009. ¹⁵	11.7%	Enjuague bucal	111 personas de grupo control en estudio de casos y controles (media=54.3 años*).

ND: información no disponible en el artículo.

* Se presenta los datos de edad de los participantes publicados en los artículos. La mayoría de ellos no ofrece la prevalencia de VPH en boca por grupos de edad.

En otra investigación que incluyó a estudiantes de universitarios, se evaluaron las preparaciones de base líquida junto con el cepillo citológico como método de colección de muestras de diversos sitios del epitelio bucal y a detectar tipos oncogénicos de VPH en mucosa bucal normal. En este caso, los autores reportaron una prevalencia de 8%.²³ El trabajo más reciente es el de Esquenazi y cols., quienes reportaron una prevalencia de 0% de VPH en la boca de una muestra de 100 individuos voluntarios de entre 20 y 31 años. Los participantes declararon ser heterosexuales predominantemente monógamos, que usan el preservativo con regularidad y que tienen bajo consumo de tabaco y alcohol.²⁴ Las características principales de los tres estudios se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Estudios que buscaron VPH en boca de individuos jóvenes.

	Esquenazi D, 2010²⁴	D'Souza G, 2009²²	Kujan O, 2006²³
Prevalencia:	0%	2.9%	8%
Colección de la muestra:	Cepillo Endobrush	Enjuague bucal riguroso	Cytobrush
Diagnóstico:	PCR [GP5+/GP6+ y MY09/MY11]	PCR, hybridization (Roche Molecular Systems), [PGMY09/11 primer pools].	PCR, Hibrid Capture 2/Roche Kit.
Sexo:	Hombres y mujeres	Hombres	Hombres y mujeres
Lugar de estudio:	Río de Janeiro, Brasil.	Maryland, EUA.	Manchester, RU.
n:	100 universitarios	210 universitarios	50 universitarios
Método de muestreo:	De conveniencia	De conveniencia	De conveniencia
Factores de estudio relacionados:	Actividad sexual, consumo tabaco y alcohol, alimentos ricos en vitamina c.	Actividad sexual.	No buscaron factores asociados.

VPH. Virus papiloma humano.

PCR. Reacción en cadena de la polimerasa.

GP5+/GP6+, MY09/MY11, PMY09/PGMY11. Primers específicos para la detección del VPH.

EUA. Estados Unidos de América.

RU. Reino Unido.

2.6 VPH y conducta sexual

Se desconoce el mecanismo de transmisión de VPH en boca; sin embargo, se ha sugerido que el mecanismo es similar al de la infección genital, que propone al contacto piel con piel como principal medio de transmisión.²⁵ La falta de evidencia sólida que sustente este argumento radica en que la mayoría de los estudios se han concentrado en la relación etiológica entre el VPH como agente causal y los carcinomas de cabeza y cuello (incluyendo boca).^{8,10,26} Incluso algunos estudios han reportado la posible asociación entre el VPH y la conducta sexual en algunos tipos de CCECC.¹⁵ Sin embargo, a la fecha no se han establecido los factores que pudieran estar relacionados con el VPH en boca de individuos aparentemente sanos. Por lo que resulta importante identificar si en el caso de individuos jóvenes aparentemente sanos, la conducta sexual se relaciona con la presencia de VPH en boca.

La *conducta sexual* se define como “las actividades sexuales de los seres humanos”, e incluye algunos conceptos como: actividad sexual, sexo oral, orientación sexual, conducta sexual premarital, coito, relaciones extramaritales, masturbación, prostitución, sexo seguro, abstinencia sexual, acoso sexual, entre otros.²⁷ Existen otros conceptos como *actividad sexual*, que se define como una expresión conductual de la sexualidad personal donde el componente erótico de la sexualidad es el más evidente. La actividad sexual se caracteriza por los comportamientos que buscan el erotismo y es sinónimo de comportamiento sexual.²⁸ Mientras que el término *prácticas sexuales* se define como patrones de actividad sexual presentados por individuos o comunidades con suficiente consistencia como para ser predecibles.²⁸

La definición de estos conceptos viene a colación dado que el principal supuesto sobre la presencia en boca de VPH involucra algunas prácticas sexuales. Estrictamente, sólo el estudio de D’Souza 2009 y cols., ha reportado en individuos jóvenes sin lesión aparente en mucosa bucal, una relación estadísticamente significativa entre el VPH y algunos hechos concretos de la conducta sexual, tales como la práctica de sexo oral, el número de parejas con

quien una persona ha practicado sexo oral, besar a otra persona con boca abierta, y el número de parejas que ha besado con boca abierta.²² Mientras que en individuos con CCECC de entre 50 y 64 años de edad⁷ se han reportado como factores asociados al VPH tipo 16 en boca el número de parejas sexuales vaginales (4 parejas, rango 2-7 parejas), la edad temprana de la primera relación sexual (16 años, rango 15-18 años)⁷ y, el uso infrecuente de barreras durante la relación sexual (oral y/o vaginal).²⁹ La Tabla 3 que a continuación se presenta, enlista los elementos de la conducta sexual (hechos concretos de las prácticas sexuales) que pudieran estar asociados a una transmisión.

2.7 VPH y consumo de tabaco y alcohol

La información sobre la relación directa entre el consumo de tabaco, el consumo de alcohol y la presencia en boca de VPH es escasa e inconsistente. Algunos autores han reportado alteraciones específicas en los micronúcleos de las células del epitelio bucal asociadas al consumo de tabaco.³⁰ Otros especulan que el consumo de tabaco deteriora la respuesta inmunológica, lo que podría promover la presencia de VPH en la boca.^{31,32,33,34} También se ha reconocido que el consumo de tabaco está asociado significativamente con la presencia de CCECC¹⁰ y de cérvix,³⁵ y en las biopsias de ambos tipos de cáncer se ha documentado la presencia de VPH 16 y 18.^{8,36} En el caso de la infección genital por VPH en mujeres, la asociación con el tabaco parece depender de la dosis de consumo,³⁷ y la infección ha mostrado desaparecer después de que han dejado de fumar.³⁵

Tratándose del consumo de alcohol, estudios experimentales han mostrado que el alcohol incrementa la penetración de carcinógenos asociados al tabaco como la N-nitrosonor nicotina (NNN)³⁸ a través de la mucosa bucal en muestras *post mortem* de seres humanos,³⁹ de porcinos,³⁸ y de ratas.⁴⁰ Squier y cols., reportaron que el alcohol tiene la capacidad de eliminar el componente lípido de barrera presente en la cavidad bucal que rodea los gránulos del estrato espinoso del epitelio.⁴⁰ Un estudio realizado en mucosa ventral de lengua tomada en

autopsia de individuos entre 31 y 87 años, muestra que una exposición a corto plazo de 15% de alcohol incrementa la permeabilidad de la mucosa bucal.⁴¹

Tabla 3. Elementos de la conducta sexual

Variable	Justificación
Sexo oral activo	D'Souza et al 2009, sugirieron que la práctica de sexo oral activo se relaciona con la presencia de VPH bucal. ²²
Número de parejas con quien ha tenido sexo oral activo	Algunos autores han propuesto que a mayor número de parejas con quien se ha tenido sexo oral mayor es la probabilidad de tener VPH en boca. ^{22,42}
Edad de la primera relación sexual oral activo	En el supuesto de que la edad temprana de la primera relación sexual es un factor de riesgo para la presencia de VPH, ^{43,44} podría suceder lo mismo en boca.
Frecuencia de uso del condón durante el sexo oral activo	El uso infrecuente del condón ha sido asociado con una mayor probabilidad de tener VPH-16 ²⁹ en individuos con carcinomas de cabeza y cuello. Se incluye para identificar si existe una relación semejante entre el uso de condón y la presencia de VPH bucal en individuos jóvenes aparentemente sanos.
Besar con la boca abierta	D'Souza y cols., indicaron que el besar con boca abierta se relaciona (posiblemente) con la presencia en boca de VPH. ²²
Relaciones sexuales vaginales	Las relaciones sexuales vaginales son un factor de riesgo para la adquisición de VPH genital. ^{45,46} Se incluyen para identificar si existía alguna relación con la adquisición del VPH bucal.
Número de personas con quien ha tenido relaciones sexuales vaginales	Se ha documentado que el número incrementado de personas con quien un individuo ha practicado el coito vaginal aumenta la probabilidad de tener VPH-16 en individuos con carcinomas de cabeza y cuello. ⁴⁷
Edad de la primera relación sexual	La edad temprana de la primera relación sexual vaginal se considera factor de riesgo para la presencia de infección bucal ^{7,42} y genital por VPH. ^{43,44} Se incluyó, también, para identificar si existía alguna relación entre la edad de la primera relación sexual vaginal y la presencia de VPH bucal.
Orientación sexual	En el estudio de D'Souza se midió esta variable en relación a la presencia de VPH bucal, pero debido a que la muestra de estudio fue pequeña los resultados no fueron suficientemente sólidos. ²²

2.8 VPH y consumo de marihuana

La marihuana es una sustancia psicoactiva. Una mezcla verde, café o gris de hojas, tallos, semillas y flores de la planta conocida como cáñamo (*cannabis sativa*). El término "cannabis" se refiere a la marihuana y otras drogas derivadas

de la misma planta. Usualmente es consumida fumada.⁴⁵ La mayoría de las personas que la consumen la enrollan en forma de cigarrillo (conocido como canuto, churro, carrucho o moto) o la fuman en una pipa.⁴⁸ Con limitaciones en los datos disponibles, Versteeg y cols., sugieren que el incremento en el consumo de cannabis puede tener efectos colaterales en la cavidad bucal como la xerostomía (boca seca).⁴⁹ A la fecha, la evidencia es insuficiente para establecer una relación entre el consumo de marihuana y algunos tipos de cáncer.⁵⁰ Darling y cols., reportaron la presencia de células escamosas atípicas en muestras bucales tomadas mediante citología en individuos que fuman marihuana; y señalaron que estas células, los coilocitos, son indicadores de la infección bucal por VPH, aún cuando no exista lesión clínica aparente.⁵¹ Dado que generalmente las personas que consumen marihuana lo hacen en grupos, compartiendo el mismo churro o cigarro de marihuana, éste podría ser un vector para la transmisión de la infección bucal por VPH.

2.9 VPH y su diagnóstico

En la actualidad, el diagnóstico definitivo del VPH se realiza mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés). La PCR es considerada como el estándar de oro para el diagnóstico definitivo de este virus debido a que es una técnica de amplificación capaz de discriminar diferencias selectivas en la secuencia del DNA blanco.⁵² El VPH no es cultivable, por lo que la búsqueda directa mediante electromicroscopía o análisis inmunológicos no es especialmente útil (ya que los componentes virales antigénicos no están siempre presentes en los tejidos infectados) y la histopatología sólo es sugerente. En una reacción de PCR, la secuencia objetivo del DNA viral es desnaturalizada e hibridada con dos secuencias pequeñas genómicas complementarias (primers y/o cebadores), los cuales permiten la unión de Taq enzima-polimerasa y duplicar la secuencia de DNA objetivo.²

La elección del instrumento y método para la recolección de la muestra pueden influir en la variabilidad de las proporciones reportadas en individuos sin

lesiones clínicas bucales.² Existen varios métodos para coleccionar células del epitelio bucal, desde el uso de cepillo cónico estéril, la biopsia, el cepillo dental suave, el enjuague bucal y el raspado con espátula metálica estéril. El cepillo cónico estéril es un instrumento efectivo para recolectar células del epitelio estratificado escamoso que recubre carrillos y bordes laterales de lengua ya que su procedimiento es sencillo, mínimamente invasivo y fiable.⁵³ No ha sido estandarizado el uso del enjuague bucal, el cepillo dental suave y raspado con espátula metálica estéril. En el caso de la biopsia la dificultad es más bien ética, dado que se trata de un procedimiento invasivo que no es recomendado realizar en personas sin lesión clínica aparente.⁵⁴ La Tabla 4 muestra los reportes de prevalencia de infección bucal por VPH empleando diferentes instrumentos.

Tabla 4. Prevalencia de VPH en boca según el instrumento de colección de muestras.

	Cepillo cónico estéril	Cepillo dental suave	Enjuague bucal	Raspado espátula	Biopsia
Anaya-Saavedra G, 2008 ⁷	17.3%				
Luo CW, 2007 ¹²	13.3%				
Kujan O, 2006 ²³	8%				
Giovanelli L, 2002 ¹⁶	5.6%				
Marais DJ, 2006 ¹⁹	5.5%				
D'Souza G, 2009 ²²	4.8%		2.9%		
Herrero R, 2003 ²⁶		6.9%			
Tachezy R, 2009 ¹⁵			12.9%		
Furrer VE, 2006 ¹⁴				9%	
Sugiyama M, 2003 ¹³					36%

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La presencia de VPH ha sido reportada en hombres y mujeres en todo el mundo y no hay grupos de edad que no estén afectados. De acuerdo con los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC), la mayoría de los adultos tienen la infección por VPH en algún momento de la vida.^a En algunos casos, el sistema inmunológico de la persona combate naturalmente la infección en un período de dos años; sin embargo, la mayoría de las personas con VPH no desarrollan síntomas visibles, lo que favorece que el número de portadores aumente dado que las personas desconocen que tienen la infección.

Diversos autores han reportado la presencia de VPH en boca y algunos tipos como el 16 y 18 han sido relacionados con la presencia de cáncer bucal. La información disponible sobre la presencia de VPH en individuos jóvenes, con mucosa bucal aparentemente sana, es poco concluyente, y aún se desconoce la prevalencia del virus y los factores que podrían estar relacionados como la conducta sexual, el consumo de tabaco, consumo de alcohol y el consumo de marihuana. Algunos autores han reportado la presencia de VPH en boca, sin embargo la información ha surgido de investigaciones realizadas en individuos participantes como sujetos controles de estudios que involucraron a pacientes con carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello. Pocos estudios han buscado directamente VPH en la boca de personas jóvenes aparentemente sanos.

Aunque a la fecha se desconoce el mecanismo de transmisión de VPH en boca, el principal supuesto involucra algunas prácticas sexuales como el número de personas con quien ha tenido relaciones sexuales vaginales y el número de personas con quien ha tenido sexo oral activo, el uso infrecuente de barreras durante la relación sexual (oral y/o vaginal) y la edad temprana de la primera relación sexual. Se desconoce si existe relación entre el VPH en boca y el consumo de tabaco. Algunos autores especulan que el consumo de tabaco deteriora la respuesta inmunológica, lo que podría promover la presencia de VPH

^a CDC-STD [Centers for Disease Control and Prevention - Sexually Transmitted Diseases]. Genital HPV infection – CDC fact sheet, 2009.

en boca. En el caso del consumo de alcohol, estudios experimentales solo han señalado que el alcohol favorece la penetración de carcinógenos asociados al tabaco a través de la mucosa bucal, pero no hay evidencia suficiente que sustente una relación entre la presencia de VPH en boca y el consumo de alcohol.

Por tanto, ante la ausencia de información suficiente sobre el tema, es relevante determinar la prevalencia de VPH bucal en individuos jóvenes aparentemente sanos, así como los factores que pudieran estar relacionados, dado que:

- la información sobre la prevalencia del VPH en mucosa bucal de sujetos aparentemente sanos y los factores asociados es escasa y deficiente,
- aún se desconoce la prevalencia del VPH en boca de jóvenes, y
- la infección bucal por tipos oncogénicos de VPH es un factor de riesgo para el desarrollo de cáncer bucal (CB).

4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la prevalencia del VPH en la mucosa bucal de jóvenes universitarios aparentemente sanos y cuáles son los factores relacionados?

5. JUSTIFICACIÓN

La presencia de tipos oncogénicos de VPH en la boca, principalmente 16 y 18, es considerada un factor de riesgo para cáncer bucal. Considerado por Globocan en 2005 como la octava causa de muerte por cáncer a nivel mundial, motivo por el cual es importante detectar si este virus se presenta en individuos jóvenes con mucosa bucal aparentemente sana, y más aún, cuando la incidencia del CB parece ir en aumento en este grupo de edad.

A la fecha varios autores han reportado en estudios de casos y controles la presencia en boca de VPH; sin embargo, la información correspondiente a las personas con mucosa bucal aparentemente sana y que en la prueba de VPH tienen un resultado positivo, se considera poco concluyente. Puesto que, estos mismos estudios han empleado muestreos por conveniencia para la selección de los participantes y no han ofrecido datos demográficos suficientes sobre los sujetos controles del estudio.

En México, como parte de las iniciativas de salud pública para la prevención del cáncer bucal, se ha divulgado información sobre la relación entre éste y el consumo de tabaco y alcohol.^b Además de promover la búsqueda temprana de cambios pre-malignos y malignos en boca, e incluso se tienen bien documentadas las prevalencias del consumo de tabaco y alcohol en la población joven. A pesar de estos antecedentes en nuestro país aún se desconoce si en la boca de jóvenes mexicanos se encuentra presente el VPH, considerado como uno de los principales factores de riesgo para CB. Por lo que en esta investigación, derivada del proyecto PAPIIT IN218709-3^c se ha elegido a un numeroso grupo de jóvenes universitarios (estudiantes de odontología) para participar en este estudio, donde al final del mismo se le otorga información sobre la presencia o ausencia de VPH y otros factores de riesgo para CB (consumo de tabaco y alcohol), y se exploran hechos concretos de la conducta sexual como factores relacionados con la presencia de VPH en boca.

^b Boletín informativo mensual de la Asociación Mexicana de lucha contra el cáncer, A.C. No. 4 Septiembre 2008.

^c Exposición de jóvenes universitarios a tipos oncogénicos de virus papiloma humano y al tabaquismo como factores de riesgo para el cáncer bucal.

6. OBJETIVOS DE INVESTIGACIÓN

6.1 Objetivo general

Determinar la prevalencia del VPH en la mucosa bucal de jóvenes universitarios alumnos de la Facultad de Odontología de la UNAM (FO-UNAM), Campus Ciudad Universitaria, inscritos en el ciclo escolar 2010-0 y sus factores asociados.

6.2 Objetivos específicos

1. Identificar mediante PCR e hibridación en muestras obtenidas por citología exfoliativa la prevalencia de VPH en boca.
2. Establecer la prevalencia de la conducta sexual, el consumo de tabaco, el consumo de alcohol y el consumo de marihuana entre los participantes.
3. Identificar la relación entre la presencia en boca de VPH y los factores asociados como conducta sexual, consumo de tabaco, consumo de alcohol y consumo de marihuana.

7. HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN

La presencia de VPH en boca se relaciona positivamente con hechos concretos de la conducta sexual, el consumo de tabaco y el consumo de alcohol en los alumnos de la Facultad de Odontología de la UNAM-Campus CU, inscritos en el ciclo escolar 2010-0.

8. METODOLOGÍA

8.1 Estrategia general del estudio

Estudio transversal que tuvo el propósito de establecer la prevalencia de VPH en la mucosa bucal de jóvenes estudiantes de licenciatura y posgrado de la Facultad de Odontología de la UNAM (FO-UNAM), inscritos en el ciclo escolar 2010-0.

Inicialmente se realizó la revisión de la literatura en las bases de datos PubMed, Ovid-Medline, Elsevier-Science, MeSH y Biblioteca Virtual en Salud, donde se ingresaron las palabras clave: infección por VPH, VPH en boca, VPH en mucosa bucal normal, citología exfoliativa bucal, conducta sexual, sexo oral activo, relaciones sexuales vaginales, uso de condón, consumo de tabaco, consumo de alcohol, consumo de marihuana, universitarios y estudiantes de odontología; así como las combinaciones pertinentes. Se incluyeron los documentos publicados desde 1983 a la fecha, tanto en inglés como en español.

Se realizó la descripción detallada del protocolo del estudio, diseño, población, criterios de selección, técnica de muestreo, cálculo del tamaño de muestra. Además se contempló la descripción del modelo conceptual, definición operacional de las variables del estudio, así como su tipo y medición.

Se desarrolló el instrumento de recolección de datos, el cual fue estandarizado en una muestra de alumnos de odontología de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco (UAM-X). Se realizó el trabajo de campo que incluyó la aplicación del cuestionario, la colección de muestras biológicas, y posteriormente se llevó a cabo el procesamiento de las muestras obtenidas en el Laboratorio de Virus y Cáncer del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM (IIB-UNAM).

Se capturaron los datos, se creó la base de datos y se realizaron los análisis estadísticos pertinentes sobre la información obtenida en el estudio. Todos los aspectos metodológicos del estudio se describen a continuación.

8.2 Diseño del estudio

Se trata de un estudio transversal que se realizó de acuerdo con los principios de Kleinbaum para estudios transversales.⁵⁵ Además, se consideraron las recomendaciones del *STROBE statement* para estudios epidemiológicos observacionales.⁵⁶

8.3 Descripción de la población de estudio

8.3.1 Ubicación temporal y unidad de análisis

Esta investigación se realizó entre agosto de 2009 y diciembre de 2010 según lo previsto en el cronograma de actividades. Los participantes fueron alumnos inscritos de primero a cuarto año en la División de Estudios Profesionales (DEP) de la FO-UNAM, Campus Ciudad Universitaria, en el ciclo escolar 2010-0 y, los alumnos inscritos al curso propedéutico de ingreso al Plan Único de Especialidades Odontológicas (PUEO) de la División de Estudios de Posgrado e Investigación (DEPeI) de la FO-UNAM, del mismo campus en el mismo ciclo escolar.

8.4 Selección de la muestra de estudio

8.4.1 Cálculo del tamaño de muestra

Para la estimación del tamaño de muestra en este estudio transversal se empleó la fórmula de Scheaffer RL, 1987.⁵⁷

$$n = \frac{N * p * q}{(N - 1) * D + (p * q)}$$

$$D = \frac{B^2}{4}$$

donde

n = tamaño de la muestra

N = total poblacional

p = proporción de interés

q = 1 – p

D = cociente de los errores α y β que se desean evadir.

B = magnitud del límite de error, que para este estudio será de 0.015.

Se tomó como proporción la prevalencia de 3% de VPH en boca de jóvenes universitarios, reportado por D'Souza en 2009.²² Se realizó un cálculo de tamaño de muestra para los alumnos de licenciatura y otro para los alumnos de posgrado, quedando como sigue:

$$D = \frac{(0.015)^2}{4} = 0.000225$$

Para licenciatura:

$$n = \frac{(2,747) (0.03) (0.97)}{(2,746) (0.000225) + (0.03) (0.97)} = \frac{79.9377}{0.18345} = 435.7465$$

Se agregó 20% más para compensar las posibles pérdidas:

$$n = 435.7465 + 87.1493 = 522.8958$$

n = **523** alumnos de pregrado.

Para posgrado: se incluyó al total de alumnos inscritos al curso propedéutico de ingreso al PUEO (n=146).

8.4.2 *Diseño muestral*

8.4.2.1 *Marco muestral*

El listado que incluye al total de alumnos inscritos en el ciclo escolar 2010-0, en la DEP de la FO-UNAM, Campus Ciudad Universitaria. Así como el listado

que incluye al total de alumnos inscritos al curso propedéutico de ingreso al PUEO en la DEPel de la FO-UNAM en marzo 2010, Campus Ciudad Universitaria.

8.4.2.2 Última unidad de muestreo

Aquellos alumnos seleccionados en la DEP del ciclo escolar 2010-0, y en la DEPel de la FO-UNAM, Campus Ciudad Universitaria.

8.4.3 Método de muestreo

En licenciatura, se realizó un muestreo aleatorio simple, en el que todas las unidades últimas de muestreo tuvieron la misma probabilidad de participar en el estudio. El muestreo se estratificó por grado escolar dado que no se tenía el mismo número de alumnos en cada grado. En una hoja de Microsoft Office Excel 2007 se generaron números aleatorios para seleccionar a los participantes.

Se solicitó a la Secretaría de Servicios Escolares de la Facultad de Odontología (licenciatura y posgrado): el número total de alumnos por grupo inscritos en el ciclo escolar 2010-0, y en el curso propedéutico de ingreso a posgrado; así como el nombre y número de cuenta de los alumnos que resultaron seleccionados aleatoriamente para la recolección de muestras.

Para licenciatura, se propuso seleccionar a 130 alumnos de primer año, 131 de segundo año, 107 de tercero, y 155 de cuarto año. Estas proporciones se obtuvieron como se presenta en la Tabla 5.

Tabla 5. Proporciones para la selección de alumnos en licenciatura.

Grado escolar	Alumnos por grado/N	(Alumnos por grado/N)*n	Alumnos elegibles por grado
1°	$(683/2,747) = 0.2486$	$(0.2486*523) = 130.01$	130
2°	$(688/2,747) = 0.2504$	$(0.2504*523) = 130.95$	131
3°	$(562/2,747) = 0.2045$	$(0.2045*523) = 106.95$	107
4°	$(814/2,747) = 0.2963$	$(0.2963*523) = 154.96$	155

En posgrado se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia a partir del número de alumnos que ingresaron al curso propedéutico. Se eligió esta población y este tipo de muestreo debido a la factibilidad y accesibilidad a los sujetos, ya que el comité de ética del posgrado de odontología rechazó la realización del estudio entre los alumnos formalmente inscritos en el PUEO.

8.5 Criterios de selección

8.5.1 Criterios de Inclusión

- Todo individuo ≥ 18 años inscrito de 1° a 4° año en la DEP de la FO-UNAM, Campus Ciudad Universitaria.
- Todo individuo ≥ 18 años inscrito al curso propedéutico para ingresar al PUEO de la DEPel de la FO-UNAM, Campus Ciudad Universitaria.

8.5.2 Criterios de Exclusión

- Todo individuo ≥ 18 años inscrito en 5° año en la DEP de la FO-UNAM, Campus Ciudad Universitaria.
- Todo individuo de ≥ 18 años que no esté inscrito al curso propedéutico para ingresar al PUEO, y que realice alguna actividad académica en la DEPel de la FO-UNAM, Campus Ciudad Universitaria.

8.5.3 Criterio de Eliminación

- Todo individuo que reuniendo los criterios de inclusión decida no participar en el estudio.

8.6 Instrumento

El instrumento de recolección de datos se desarrolló con base en las variables de investigación que se presentan en el modelo conceptual (Figura 2), las cuales fueron definidas mediante criterios teóricos y de relación. Para estandarizar el instrumento, la primera versión del cuestionario fue auto-aplicada a

88 alumnos voluntarios de la Facultad de Odontología de la UAM-X (Anexo 1). Posteriormente fue sometido a varios análisis conceptuales y técnicos por el grupo de investigación que realizó este proyecto. Por ejemplo, se realizaron ajustes a la presentación del cuestionario y de los reactivos, a las instrucciones, a la selección de preguntas a ser incluidas. Además, se revisó cuidadosamente el lenguaje y la redacción, se realizaron los cambios necesarios, como por ejemplo la eliminación de la oración “*pase a la pregunta...*” ubicada en las opciones de respuesta de varios reactivos del Anexo 1. Entonces se llegó a la versión final: un cuestionario de auto-aplicación conformado por 29 reactivos cerrados sobre hechos concretos de la actividad sexual, consumo de tabaco y consumo de alcohol (Anexo 2), y que fue aplicado a nuestra población de estudio.

Durante la elaboración del instrumento se revisó que los reactivos incluyeran y midieran todas las variables de estudio de acuerdo con los objetivos de la investigación (validez de contenido). A cada reactivo se le asignaron valores numéricos como parte de la codificación, para su posterior análisis estadístico. Estos valores asignados se presentan dentro de cada reactivo del Anexo 2.

8.7 Trabajo de campo

8.7.1 Entrevistadores

La autora de esta tesis acudió a cada grupo de la FO-UNAM para la aplicación del cuestionario y dio las mismas instrucciones a todos los participantes (Anexo 3). Además realizó la obtención y procesamiento de muestras biológicas.

8.7.2 Capacitación

Fueron capacitados cuatro alumnos de servicio social para facilitar la distribución y recepción de cuestionarios en los grupos, coleccionar los datos de los participantes y proveer los materiales al momento de tomar las muestras biológicas. Una alumna de servicio social fue capacitada como auxiliar en el procesamiento de laboratorio de las muestras. Para el desarrollo y estandarización

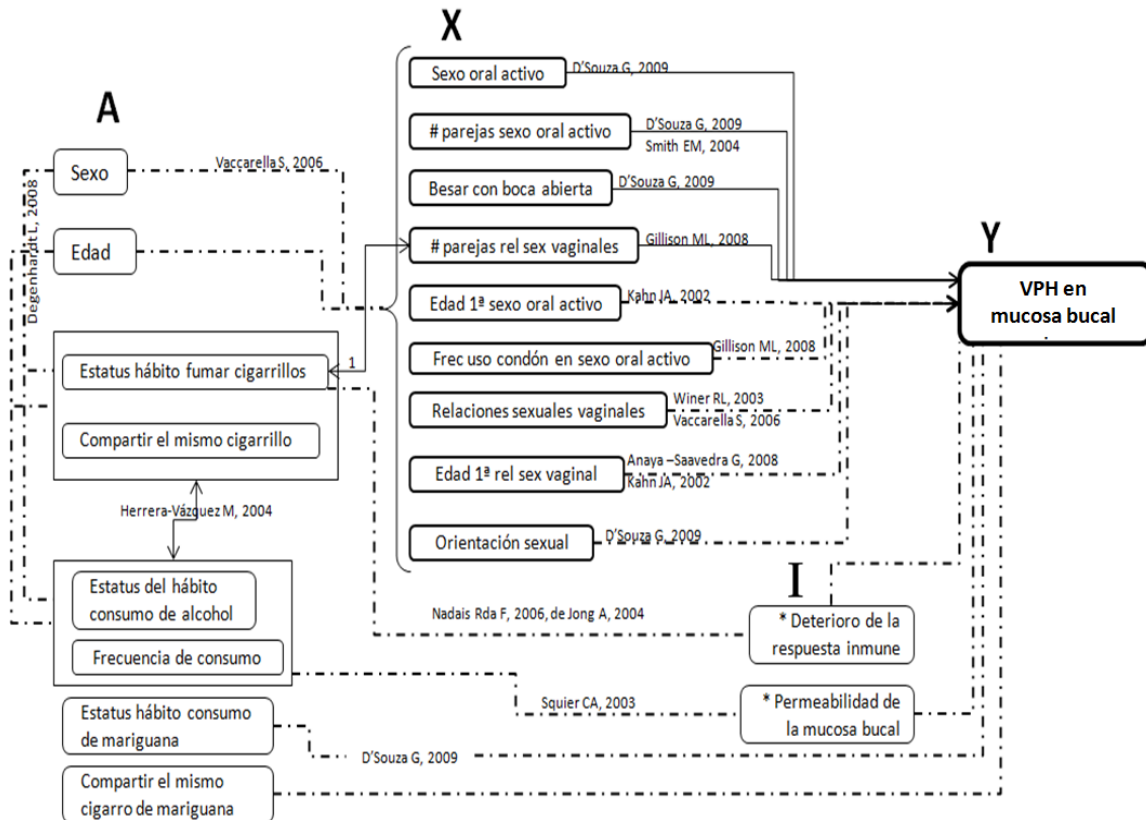
de los procedimientos de laboratorio, se recibió capacitación en el Laboratorio de Virus y Cáncer del IIB-UNAM.

8.8 Modelo conceptual de las variables de estudio

A partir del marco teórico descrito en el apartado 2 de esta tesis, y con base en la pregunta de investigación, se desarrolló el modelo conceptual de este proyecto. Éste se encuentra esquematizado en la Figura 2 y a continuación se presenta una breve descripción del mismo.

Hechos concretos de la conducta sexual como la *práctica de sexo oral activo*, el *número de personas con quien se ha practicado sexo oral*, *besar a otra persona con la boca abierta*, el *número de personas con quien ha tenido relaciones sexuales vaginales*, la *edad de la primera vez que practicó sexo oral activo*, la *frecuencia del uso del condón en la práctica del sexo oral activo*, haber tenido *relaciones sexuales vaginales*; así como la *orientación sexual* están relacionados con la presencia de VPH en la boca. El deterioro de la respuesta inmunitaria favorece la presencia de VPH en boca, independientemente del estatus en el hábito de fumar cigarrillos. El incremento en la permeabilidad de la mucosa bucal favorece la presencia de VPH en boca, y esta relación es mayor en los individuos que son bebedores actuales de alcohol. Debido a que la medición de las variables respuesta inmune y permeabilidad de la mucosa bucal implica un estudio de tipo experimental, no serán incluidas en este estudio. Los individuos que acostumbran compartir el mismo cigarro de marihuana tienen mayor probabilidad de tener VPH en boca que aquellos que no acostumbran compartirlo, y esta relación es mayor en fumadores actuales de marihuana. Las variables sexo y edad serán incluidas en este estudio para describir a la muestra de sujetos participantes.

MODELO CONCEPTUAL:
“Prevalencia de VPH en la mucosa bucal de jóvenes universitarios y sus factores asociados”



Dámaris Sosa De Antuñano
 Dra. Claudia Infante Castañeda
 Dr. Enrique Acosta Gío

Figura 2. Modelo conceptual “Prevalencia de VPH en la mucosa bucal de jóvenes universitarios y sus factores asociados”

A. Variables antecedentes

X. Variables intermedias

Y. Variable independiente

*No se incluyeron en el estudio, dado que su medición implicaba un estudio de tipo experimental.

1. Herrera-Vázquez, 2004⁵⁸ y Sánchez-Zamorano LM, 2006⁵⁹

Las líneas continuas indican asociaciones estadísticamente significativas.

Las líneas punteadas indican relaciones sugeridas.

8.9 Operacionalización de variables

La operacionalización de las variables se realizó con base en la revisión de la literatura y en función de los principios establecidos para el desarrollo de modelos conceptuales causales tomando en cuenta la temporalidad, y se presenta en el Anexo 4.

8.10 Procedimientos

Con autorización del Secretario General de la Facultad de Odontología, se acudió a los grupos para invitar a los alumnos a participar en el estudio. El acercamiento a los alumnos se realizó en dos etapas, la aplicación del cuestionario y la colección de muestras biológicas.

En la primera etapa además de aplicar el cuestionario, se verificó mediante el número de cuenta, que el alumno previamente seleccionado al azar para participar en la etapa de colección de muestras biológicas, realmente perteneciera al grupo en el que había sido ubicado en el listado de alumnos proporcionado por la Secretaría Académica de la FO-UNAM.

El contacto con los alumnos se realizó en horas de clase teórica y previa autorización del profesor en turno. No se interrumpió a los alumnos en sus actividades clínicas. A los participantes se les explicó en qué consistía el estudio y se invitó a todos los alumnos presentes a responder un cuestionario.

En una hoja adicional los alumnos anotaron su nombre, dirección de correo electrónico y número de cuenta, para que se les enviara la notificación vía electrónica para la colección de células exfoliadas de mucosa bucal.

8.10.1 Colección de células exfoliadas de mucosa bucal

De cada participante se obtuvo el consentimiento informado por escrito (Anexo 5) y posteriormente se recolectaron células del epitelio estratificado escamoso que recubre carrillos y bordes laterales de lengua.^{16,60,61} Para exfoliar

las células se frotó 10 veces cada sitio^{23,61} con el mismo cepillo citológico cónico estéril.⁷ Las células recolectadas de los sitios seleccionados se colocaron junto con el cepillo¹⁶ en tubos Falco (de 15mL) que contenían 4mL de la solución preservadora PreservCyt (Cytoc Corp., Marlborough, MA), y fueron almacenadas a 4°C para su análisis posterior.

8.10.2 Procedimientos de Laboratorio

La presencia en boca del VPH se estableció de acuerdo con el protocolo estandarizado en el Laboratorio de Virus y Cáncer del IIB-UNAM. El procedimiento incluyó tres etapas: 1) extracción de DNA, 2) amplificación (identificación del gen β -globina, para la evaluación de la presencia y calidad de DNA genómico humano en las muestras colectadas), y 3) la detección del genoma viral mediante PCR.

8.10.2.1 Extracción de DNA

Los pasos que se siguieron para la extracción de DNA de cada una de las muestras obtenidas se enuncian a continuación.

Se concentraron células bucales suspendidas en la solución preservadora Preservcyt en un microtubo tipo eppendorf de 1.5mL. A cada tubo se agregaron 600 μ l de Nuclei Lysis Solution (Wizard Genomic DNA Purification kit Promega Madison, WI), se resuspendió, se agregaron 17.5 μ l de proteinasa K (20mg/mL), se resuspendió y se incubó a 55°C durante toda la noche a 700 rpm. Al retirar de la incubación se adicionaron 3 μ l de RNasa, se incubó nuevamente a 36°C durante 30 minutos sin agitación. Al término, se agregaron 200 μ l de solución para precipitar proteínas, se mezcló fuertemente en el agitador vórtex y se incubó en hielo durante 5 minutos. Posteriormente se centrifugó a 14,000 rpm durante 5 minutos a temperatura ambiente, se observó el botón de proteínas, se removió cuidadosamente el sobrenadante a un tubo nuevo, se agregaron 600 μ l de isopropanol a temperatura ambiente para promover la precipitación del DNA y se mezcló por inversión. Se centrifugó a 14,000 rpm durante 4 minutos a temperatura

ambiente, se decantó el sobrenadante en un vaso de precipitado y se agregaron 600µl de etanol al 70% para lavar el DNA. Nuevamente se centrifugó a 14,000 rpm durante 4 minutos a temperatura ambiente y se decantó el sobrenadante en un vaso de precipitado. Cada tubo destapado fue colocado en la centrífuga de vacío (SpeedVac) a fin de dejar secar el pellet. Los tubos fueron revisados cada 15 minutos y se retiraron del SpeedVac cuando se hubiera evaporado completamente el etanol. Al término, se agregaron 30µl de solución rehidratante para DNA y se incubó a 65°C durante 50 minutos. Al retirar de incubación se almacenaron en cajas para 96 tubos de 1.5mL a -20°C. Se verificó la presencia de producto por electroforesis en gel de agarosa al 1.5%. La pureza y concentración del DNA extraído se obtuvo con el espectrofotómetro Nanodrop^{MR} 1000 (Anexo 6).

8.10.2.2 Amplificación

La amplificación es el procedimiento en el que se identificó un fragmento de 280 pb del gen β-globina, y que fue empleado para la evaluación de la presencia y calidad de DNA genómico humano en las muestras colectadas. Se usaron los primers PCO₄ (5'-CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC-3') y GH₂O (5'-GAA GAG CCA AGG ACA GGT AC-3').⁶² La PCR fue realizada en un volumen final de 25µl, la cual estuvo conformada por: 5µl de DNA extraído a una concentración ≥30ng/µl, 6µl de 5X PCR buffer, 3µl de MgCl₂ a una concentración de 4mM, 3µl de dNTPs a una concentración de 200µM, 0.6µl de PCO₄ a una concentración de 0.1µM, 0.6µl de GH₂O a una concentración de 0.1µM, 0.2µl de Taq polimerasa a 1U y 6µl de H₂O. Se verificó la presencia de producto por electroforesis en gel de agarosa al 1.5% (Anexo 7).

8.10.2.3 Detección de VPH mediante PCR

La detección de la infección bucal por VPH se realizó mediante los primers MY09/PGMY09 (CGT CCM ARR GGA WAC TGA TC) y MY11/PGMY11 (GCM CAG GGW CAT AAY AAT GG) procesados en una PCR.

La PCR fue realizada en un volumen final de 25µl, la cual estuvo conformada por: 5µl de DNA extraído a una concentración $\geq 30\text{ng}/\mu\text{l}$, 6µl de 5X PCR buffer, 3µl de MgCl_2 a una concentración de 4mM, 3µl de dNTPs a una concentración de 200µM, 0.6µl de MY09 a una concentración de 0.1µM, 0.6µl de MY11 a una concentración de 0.1µM, 0.2µl de Taq polimerasa a 1U y 6µl de H_2O . La secuencia objetivo del DNA viral fue desnaturalizada e hibridizada con dos primers, los cuales permitieron la unión de Taq enzima-polimerasa y se duplicó la secuencia de DNA objetivo.² La PCR se inició a 94° C por 10 minutos, seguida por una amplificación de 25 ciclos (desnaturalización a 94° C por 30 segundos, alineamiento a 55° C por 30 segundos y una extensión a 72° C por 45 segundos) con una extensión final a 72° C por 7 min. Se verificó la presencia de producto por electroforesis en gel de agarosa al 1.5% (Anexo 8, 9 y 10).

8.11 Plan de análisis estadístico

El análisis de los datos se realizó mediante estadística descriptiva e inferencial. Se creó una base de datos en el paquete SPSS versión 18, donde se capturaron las variables incluidas en el cuestionario, las opciones de respuesta se codificaron, sustituyendo su contenido por un símbolo numérico.

Como primer paso se procedió a preparar los datos para su tratamiento estadístico mediante la limpieza de la base de datos, verificación de ausencia de datos faltantes, identificación de los datos extremos. Posteriormente, se procedió al cálculo de los estadísticos descriptivos medidas de tendencia central y de dispersión para las variables cuantitativas (número de personas con quien ha practicado SOA, edad de la primera relación de SOA, número de personas con quien ha tenido RSV, edad de la primera vez que tuvo RSV y, edad); y razones y proporciones para las variables cualitativas (presencia de VPH en boca, práctica de SOA, uso de condón durante SOA, besar con boca abierta, orientación sexual, práctica de RSV, sexo, consumo de tabaco, alcohol y mariguana). Se consideró un valor de $p < 0.05$ como estadísticamente significativo. Además, se obtuvo la

prevalencia global (positivos a VPH/total de la muestra) como medida de frecuencia.

Para identificar alguna asociación entre la presencia en boca de VPH y las variables independientes (conducta sexual), y con las variables antecedentes (estatus de consumo de tabaco, estatus de consumo de alcohol, la frecuencia de consumo de bebidas que contengan alcohol y el estatus consumo de mariguana), se empleó la Razón de Prevalencias como medida de asociación, debido a que a los participantes se les realizó una medición única en el tiempo (cuestionario y toma de muestras). Se determinó la presencia o ausencia en boca de VPH, y no fue posible establecer si se trataba de una infección reciente, persistente y/o re-infección.

Para las variables que resultaron estadísticamente significativas se calculó la Razón de Prevalencias a fin de identificar alguna asociación entre la variable dependiente y las variables independientes. Para determinar la significancia estadística de la Razón de Prevalencias se empleó Ji cuadrada como prueba de homogeneidad entre niveles dado que las variables que resultaron estadísticamente significativas tuvieron más de dos opciones de respuesta. Para la comparación de medias para muestras independientes se usó el estadístico t, Por tanto, se categorizaron las variables según el rango intercuartil y tanto las razones de prevalencia como los intervalos de confianza al 95% y estadístico t fueron calculados en EPIDAT.⁶³

9. RESULTADOS

Se encontró una prevalencia de 3.2% (n=20) de VPH en la mucosa bucal, de los que fue posible tipificar una muestra que se identificó con VPH tipo 13. En total se obtuvieron 619 observaciones válidas (cuestionario aplicado y muestra biológica) entre los individuos seleccionados aleatoriamente en licenciatura y los participantes en posgrado. La tasa de respuesta fue de 91.3% en licenciatura (n=478) y de 96.5% en posgrado (n=141). Dos tercios de los participantes fueron mujeres. La edad promedio de todos los participantes fue de 21.5 años. La Tabla 6 presenta las características demográficas de los participantes en licenciatura, mientras que la Tabla 7 muestra las características demográficas de los participantes de posgrado. En ambos casos, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre quienes aceptaron formar parte del estudio y quienes declinaron la invitación.

Tabla 6. Características demográficas de la población estudiada en pregrado.

	Licenciatura* n=478 (%)	Licenciatura~ n=45 (%)	p
<i>Sexo</i>			
Mujer	359 (75)	34 (75)	0.9466 [§]
Hombre	119 (25)	11 (25)	
<i>Grado escolar</i>			
1°	142 (30)	14 (30)	0.9905 [¥]
2°	111 (23)	10 (23)	
3°	90 (19)	9 (20)	
4°	135 (28)	12 (27)	

Licenciatura*. Total de alumnos seleccionados al azar que participaron en el estudio (cuestionario y muestra biológica).

Licenciatura~. Total de alumnos seleccionados al azar decidieron no participar en el estudio.

[§]. Prueba Ji cuadrado de asociación.

[¥]. Prueba Ji cuadrado de homogeneidad entre niveles.

Tabla 7. Características demográficas de la población estudiada en posgrado.

	Posgrado* n=141 (%)	Posgrado~ n=5 (%)	p
<i>Sexo</i>			
Mujer	109 (77)	4 (80)	0.8874 [§]
Hombre	32 (23)	1 (20)	
<i>Especialidad</i>			
Endodoncia	20 (14)	1 (20)	0.8093 [¥]
Odontopediatría	26 (18)	2 (40)	
Ortodoncia	36 (26)	2 (40)	
Prótesis Maxilofacial	8 (6)	0 (0)	
Patología bucal	6 (4)	0 (0)	
Periodoncia	20 (14)	0 (0)	
Prótesis bucal	24 (17)	0 (0)	
Materiales dentales	1 (1)	0 (0)	

Posgrado*. Total de alumnos que participaron en el estudio (cuestionario y muestra biológica).

Posgrado~. Total de alumnos que declinaron participar en el estudio.

[§]. Prueba Ji cuadrado de asociación.

[¥]. Prueba Ji cuadrado de homogeneidad entre niveles.

Tampoco hubo diferencias estadísticamente significativas por sexo entre la población de licenciatura y posgrado ($p=0.5929$).^d Por tanto, a continuación se presentan resultados en los que se agrupa al total de participantes según su estatus como positivo y negativo a VPH en boca.

De las 20 personas que tuvieron VPH en boca, dos tercios fueron mujeres y todos declararon ser solteros. 17 eran alumnos de licenciatura, nueve de ellos cursaban el primer año de la carrera, cinco cursaban segundo año y tres eran alumnos de cuarto año. De los tres restantes alumnos de posgrado, dos cursaban la especialidad en ortodoncia y uno patología bucal.

De los participantes con resultado positivo (VPH+) y negativo a VPH (VPH-) en boca, 45% ($n=9$) y 46% ($n=276$) reportaron haber practicado SOA al menos una vez en la vida, respectivamente y, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos. La edad promedio en que practicaron por primera vez SOA fue de 17 años para los VPH+, y de 19 años para los VPH-. Sin embargo, se encontró una relación estadísticamente significativa entre la

^d Prueba Ji cuadrado de asociación (Estadístico=0.2858).

presencia de VPH en boca y haber practicado con ≥ 6 personas SOA en toda la vida (RP=18.2; IC_{95%}=6.38-51.86; $p=0.0001$) y en los últimos 12 meses (RP=5.85; IC_{95%}=1.65-20.75; $p=0.0051$). 15% (n=3) de los participantes VPH+ y 16% (n=96) de los participantes VPH- reportaron que “nunca” usan el condón como barrera protectora durante la práctica de SOA. Del total de individuos que respondieron el cuestionario, 95% se declararon heterosexuales. Estas variables no se asociaron significativamente con la presencia de VPH en boca (Tabla 8).

Ni la práctica de besar con boca abierta (beso francés y/o de lengüita) ni haber tenido RSV alguna vez en la vida se relacionaron significativamente con la presencia de VPH en boca. En cambio, haber tenido RSV por primera vez a los ≤ 16 años (RP=5.17; IC_{95%}=1.87-14.27; $p=0.0152$), haber tenido RSV con ≥ 4 personas en toda la vida (RP=5.07; IC_{95%}=1.64-15.62; $p=0.0027$), y con ≥ 4 personas en los últimos 12 meses (RP=3.07; IC_{95%}=1.39-6.78; $p=0.0074$) se relacionaron significativamente con el hallazgo de VPH en boca. Estos resultados se muestran en la Tabla 9.

Tabla 8. Respuestas de los participantes sobre la práctica de sexo oral activo y su orientación sexual.

	VPH en boca		RP [IC _{95%} [¶]]	Valor <i>p</i>
	Positivo n=20	Negativo n=599		
Ha practicado sexo oral activo.	9 (45%)	276 (46%)	0.91 [0.3680 – 2.2975]	0.8575 [§]
Edad promedio de la primera vez que tuvo SOA (Q ₁ -Q ₃).	17 (17-18)	19 (18-20)		0.1370 [¥]
Número promedio de personas con quien tuvo SOA <i>en toda la vida</i> (Q ₁ -Q ₃).	3 (1-6)	2 (1-3)		
- Ninguno	0 (0%)	90 (27%)	1.00	0.0001*
- 1 a 5	7 (78%)	231 (69%)	1.92 [0.6971 – 5.3321]	
- ≥6	2 (22%)	12 (4%)	18.20 [6.3863 – 51.8676]	
Número promedio de personas con quien tuvo SOA <i>últimos 12 meses</i> (Q ₁ -Q ₃).	2 (1-6)	1 (1-3)		
- Ninguno	0 (0%)	40 (17%)	1.00	0.0051*
- 1 a 5	5 (56%)	189 (80%)	1.46 [0.5462 – 3.9256]	
- ≥6	4 (44%)	6 (3%)	5.85 [1.6527 – 20.7574]	
Frecuencia de uso del condón como barrera protectora durante la práctica de SOA.				
- Siempre/uso sistemático	6 (30%)	113 (19%)	1.00	0.5636*
- En ocasiones	2 (10%)	98 (17%)	0.39 [0.0819 – 1.9221]	
- Prefiero no responder	2 (10%)	46 (8%)	0.82 [0.1728 – 3.9516]	
- Nunca	3 (15%)	93 (16%)	1.29 [0.3375 – 4.9571]	
Orientación sexual.				
- Homosexual	1 (5%)	12 (2%)	-	0.6936*
- Heterosexual	19 (95%)	564 (95%)	-	
- Bisexual	0 (0)	11 (2%)	-	
- Prefiero no responder	0 (0)	8 (1%)	1.00	

RP. Razón de prevalencias.

[¶]. Intervalo de confianza al 95%.

SOA. Sexo oral activo (haber colocado su boca o lengua en la vagina de una mujer o en el pene de un hombre).

Q₁-Q₃. Rango intercuartil.

[§]. Prueba Ji cuadrado de asociación.

[¥]. Prueba de comparación de medias para muestras independientes. Estadístico t=1.4017; gl=261.

*. Prueba Ji cuadrado de homogeneidad entre niveles.

Tabla 9. Respuestas de los participantes sobre la práctica de relaciones sexuales vaginales y beso francés.

	VPH en boca		RP [IC _{95%} [¶]]	Valor p
	Positivo n=20	Negativo n=599		
Ha tenido relaciones sexuales vaginales.	12 (60%)	400 (67%)	0.66 [0.2651 – 1.6429]	0.4562 [§]
Edad promedio de la primera vez que tuvo RSV (Q ₁ -Q ₃).	17 (17-19)	18 (17-19)		
- ≥20	1 (8%)	86 (22%)	1.00	0.0152*
- 17 a 19	6 (50%)	215 (57%)	2.36 [0.8667 – 6.4367]	
- ≤16	5 (41%)	79 (20%)	5.17 [1.8791 – 14.2719]	
Número promedio de personas con quien tuvo RSV en toda su vida (Q ₁ -Q ₃).	3 (1-3)	2 (1-3)		
- Ninguno	1 (11%)	70 (21%)	1.00	0.0027*
- 1 a 3	6 (66%)	229 (70%)	1.81 [0.6659 – 4.9350]	
- ≥4	2 (22%)	26 (8%)	5.07 [1.6457 – 15.6285]	
Número promedio de personas con quien tuvo RSV en los últimos 12 meses (Q ₁ -Q ₃).	2 (1-3)	1 (1-3)		
- Ninguno	0 (0%)	19 (5%)	1.00	0.0074*
- 1 a 3	7 (78%)	318 (91%)	0.37 [0.1818 – 0.7547]	
- ≥4	2 (22%)	11 (3%)	3.07 [1.3959 – 6.7821]	
Ha dado un beso francés (de lengüita~).	17 (85%)	547 (92%)	0.65 [0.1458 – 2.9202]	0.5739 [§]

RP. Razón de prevalencia.

[¶]. Intervalo de confianza al 95%.

RSV. Relaciones sexuales vaginales (unión sexual que implica penetración vaginal).

Q₁-Q₃. Rango intercuartil.

[§]. Prueba Ji cuadrado de asociación.

[¥]. Prueba de comparación de medias para muestras independientes. Estadístico t=1.4017; gl=261.

*. Prueba Ji cuadrado de homogeneidad entre niveles.

~. O bien, haber puesto la lengua dentro de la boca de una mujer o de un hombre.

60% (n=12) de los VPH+ y 67% (n=402) de los VPH- reportaron haber fumado cigarrillos de tabaco al menos una vez en la vida. De los participantes con VPH en boca, 45% (n=9) indicaron haber fumado tabaco en los últimos 12 meses y 40% (n=8) en los últimos 30 días. De las personas VPH+ que fuman cigarrillos diariamente 26% (n=5) fuma de 1 a 5 por día, y sólo 5% (n=1) fuma de 6 a 10 cigarrillos de tabaco en un día. 28% (n=5) de los participantes con resultado

positivo a VPH acostumbran compartir el cigarrillo con otra persona. Por otro lado, 10% (n=2) de los VPH+ reportaron haber fumado marihuana alguna vez en la vida, y también acostumbrar compartir el mismo churro de marihuana con otra persona. Aunque, ni el consumo de tabaco ni de marihuana se asociaron significativamente con el VPH en boca. Las respuestas con respecto al consumo de tabaco y marihuana *versus* la presencia de VPH en boca se presentan en la Tabla 10.

Tabla 10. Respuestas de los participantes sobre su consumo de tabaco y marihuana.

	VPH en boca		RP [IC _{95%} [¶]]	Valor p
	Positivo n=20	Negativo n=599		
Fumó tabaco alguna vez en la vida.	12 (60%)	402 (67%)	0.73 [0.2956 – 1.8274]	0.5062 [§]
En los últimos 12 meses.	9 (45%)	285 (47%)	0.90 [0.3681 – 2.2070]	0.8202 [§]
En los últimos 30 días.	8 (40%)	205 (34%)	1.28 [0.5155 – 3.1843]	0.5927 [§]
Cigarrillos fumados diariamente en los últimos 30 días.				
- Más de 20	0 (0%)	10 (2%)	-	0.8826*
- De 11 a 20	0 (0%)	6 (1%)	-	
- De 6 a 10	1 (5%)	15 (3%)	1.60 [0.2134 – 12.0206]	
- De 1 a 5	5 (26%)	90 (15%)	1.34 [0.4532 – 4.0136]	
- Nunca fumó	8 (69%)	197 (79%)	1.00	
Acostumbra compartir el cigarrillo con otra persona.	5 (28%)	213 (37%)	0.74 [0.2124 – 2.6224]	0.6472 [§]
Fumó marihuana alguna vez en la vida.	2 (10%)	105 (18%)	0.52 [0.1192 – 2.2825]	0.3795 [§]
Acostumbra compartir el mismo churro de marihuana con otra persona.	2 (10%)	82 (14%)	0.67 [0.1527 – 2.9448]	0.5944 [§]

[¶]. Intervalo de confianza al 95%.

[§]. Prueba Ji cuadrado de asociación.

*. Prueba Ji cuadrado de homogeneidad entre niveles.

Todos los jóvenes con resultado positivo a VPH en boca indicaron haber probado alguna vez cualquier bebida con alcohol. 90% (n=18) reportaron haber consumido alguna bebida con alcohol en los últimos 12 meses y 15% (n=3) de estos, señalaron que consumían bebidas alcohólicas de 1 a 2 veces por semana. No hubo relación estadísticamente significativa entre las respuestas de los participantes con respecto al consumo de alcohol y la presencia de VPH en boca (Tabla 11).

Tabla 11. Respuestas de los participantes sobre su consumo de alcohol.

	VPH en boca		RP [IC _{95%} [¶]]	Valor p
	Positivo n=20	Negativo n=599		
Alguna vez ha consumido cualquier bebida que contenga alcohol.	20 (100%)	582 (97%)	-	0.4449 [§]
En los últimos 12 meses.	18 (90%)	542 (91%)	0.92 [0.2102 – 4.1117]	0.9236 [§]
Frecuencia con la que consumió alguna bebida con alcohol en los últimos 12 meses.				
- Casi diario	0 (0%)	2 (0.3%)	-	0.4196*
- 3-4 veces/semana	0 (0%)	9 (2%)	-	
- 1-2 veces/semana	3 (15%)	82 (14%)	-	
- 2-3 veces/mes	4 (20%)	123 (21%)	-	
- Una vez/mes	1 (5%)	104 (18%)	-	
- 7-11 veces/año	0 (0%)	41 (7%)	-	
- 3-6 veces/año	6 (30%)	92 (16%)	-	
- 2 veces/año	3 (15%)	51 (9%)	-	
- Una vez/año	0 (0%)	25 (4%)	1.00	

RP. Razón de prevalencias.

[¶]. Intervalo de confianza al 95%.

[§]. Prueba Ji cuadrado de asociación.

*. Prueba Ji cuadrado de homogeneidad entre niveles.

10. DISCUSIÓN

En esta investigación se encontró una prevalencia de VPH en boca de 3.2% (n=20). Poco más de dos tercios de la población estudiada estuvo conformada por mujeres (n=468), lo cual es representativo de la población de alumnos de odontología (licenciatura y posgrado) que fueron seleccionados aleatoriamente. En población joven, pocos estudios han buscado directamente VPH en boca. Los resultados de nuestro estudio pueden ser comparados con los de D'Souza y cols., quienes en un grupo de estudiantes de licenciatura y posgrado reportaron una prevalencia de 2.9% de VPH en boca y una asociación significativa entre el virus y haber tenido ≥ 10 parejas de sexo oral en toda la vida y ≥ 6 parejas de SOA recientes ($p=0.046$), y con el número de parejas a quien besó con la boca abierta ($p=0.023$).²² Sin embargo, en este estudio realizado en Maryland, EUA, sólo incluyeron hombres (n=210) a partir de muestra de conveniencia, y emplearon el enjuague bucal riguroso para la colección de células. En nuestra investigación, la presencia de VPH en boca se asoció significativamente con haber tenido SOA con ≥ 6 personas en toda la vida y en los últimos 12 meses y aunque el intervalo de confianza es amplio, parece ser que el número de compañeros sexuales para SOA es la vía (piel-mucosas) que podría explicar la presencia de VPH en la boca de los participantes en el estudio.

Por otra parte, en Manchester, RU, Kujan y cols., reportaron una prevalencia de VPH en boca de 8% en un grupo de voluntarios estudiantes de odontología (hombres y mujeres).²³ En este caso, no se evaluó la relación del VPH en boca con posibles factores asociados. Además, el tamaño de muestra fue menor (n=50) y los participantes se incorporaron al estudio a partir de una muestra de conveniencia.

Otros reportes de VPH en boca han incluido a poblaciones con individuos de diferentes edades.^{7,15,16} Esto, aunado a las diferentes técnicas e instrumentos para la colección de muestras biológicas, deriva en reportes heterogéneos sobre la prevalencia de VPH en boca. Por ejemplo: Furrer y cols., emplearon la espátula metálica estéril para obtener células de la mucosa bucal y encontraron VPH en 9%

de su población de estudio (n=23).¹⁴ Mientras que Herrero y cols., usaron el cepillo dental suave y reportaron una prevalencia de 6.9% (n=42),²⁶ aunque ninguna de estas técnicas ha sido estandarizada en individuos sin lesiones clínicas bucales.

En esta investigación, se empleó el cepillo cónico estéril como instrumento para coleccionar células del epitelio bucal en sujetos sin lesión clínica aparente ya que, de acuerdo con la literatura, el procedimiento es sencillo, mínimamente invasivo y fiable.⁵³ Sin embargo, aún cuando se ejecutó adecuadamente el protocolo recomendado,^{23,16,61} valdría la pena que para futuras investigaciones se obtuviera una mayor cantidad de células bucales de cada participante, ya que la cantidad obtenida apenas es suficiente para los procedimientos de extracción de DNA, evaluación de calidad del DNA genómico extraído y para la PCR de MY y PGMY. Esto podría lograrse tomando al menos dos muestras bucales de cada participante, ya sea mediante el uso de dos cepillos cónicos estériles y suspendiendo las células de ambos cepillos en un solo tubo falco que contuviera la solución conservadora (PreservCyt), o bien, empleando los dos cepillos cónicos estériles y coleccionar células bucales que sean colocadas en dos tubos falco independientes.

Para esta investigación se realizó un estudio transversal que permitió abordar adecuadamente el problema de investigación. De origen, el estudio transversal es una “instantánea” que en un momento dado indica simultáneamente, en este caso, si el VPH estuvo presente en la boca o no, y si estuvieron presentes o no los factores asociados. De tal manera que se pudieron identificar relaciones estadísticamente significativas entre la presencia de VPH en boca y algunos hechos concretos de la conducta sexual.

La veracidad de la información obtenida en el cuestionario está apoyada en las consideraciones éticas que fueron tomadas en cuenta para la ejecución del estudio, resaltando el respeto por las personas, el manejo confidencial de la información y la participación voluntaria de los alumnos. De tal manera que las respuestas conseguidas fueron tomadas como “declaraciones del participante”, asumiendo que respondieron con apego a la verdad.

Para disminuir el *sesgo de selección* y dar a todos los alumnos la misma oportunidad de participar se realizó un muestreo aleatorio simple sobre el listado de alumnos inscritos en licenciatura; se realizó el cálculo de tamaño de muestra para estudios transversales y se obtuvieron 478 observaciones válidas en licenciatura, corrigiendo así las deficiencias de otros estudios. Además se alcanzó una tasa de respuesta de 91.3% para licenciatura y de 96.5% (n=141) para posgrado, en donde se incluyó, mediante una muestra de conveniencia, a los alumnos del curso propedéutico de ingreso al PUEO. Cabe destacar que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre ambas poblaciones. El estudio realizado tiene la ventaja de que al haber aplicado el mismo cuestionario a todos los participantes y al haber ejecutado la misma técnica de obtención y procesamiento a todas las muestras biológicas obtenidas, fue posible controlar el *sesgo de instrumentación*. Para controlar el *efecto Hawthorne* durante la aplicación de los cuestionarios y dado que la muestra de estudio estuvo conformada por estudiantes, se ofreció a todos los participantes la información suficiente y oportuna sobre el proyecto en el que se les invitaba a participar, así como la privacidad para contestar el cuestionario, su derecho de no participación y la confidencialidad de la información que los alumnos proporcionaban (Anexo 3).

Por otro lado, aunque algunos autores han sugerido que el consumo de tabaco deteriora la respuesta inmunológica,^{31,32,33,34} y que en las mujeres con infección genital por VPH la asociación con el tabaco depende de la dosis de consumo,³⁷ en la investigación realizada no se encontró asociación entre el VPH en boca y el consumo de tabaco. En los jóvenes participantes ni el consumo de alcohol ni el consumo de marihuana se asociaron significativamente con la presencia de VPH en boca, aún cuando algunos estudios han sugerido un incremento en la permeabilidad de la mucosa bucal⁴¹ y xerostomía^{49,51} por el consumo de alcohol y marihuana, respectivamente.

Finalmente, este proyecto de investigación ha sido muy ambicioso, especialmente teniendo en cuenta el tiempo y los recursos humanos y financieros invertidos, así como las disciplinas científicas involucradas: epidemiología, biología

bucal, biología molecular básica, entre otras. Una *limitación del estudio* fue que en la población de alumnos de posgrado no fue posible realizar un muestreo aleatorio simple para la selección de los participantes, debido a que no nos fue permitido incluir a los alumnos formalmente inscritos en el PUEO, por lo que se decidió invitar abiertamente a todos los alumnos del curso propedéutico de ingreso a posgrado. Otra restricción del estudio en el área de trabajo de campo, fue que se debió coleccionar una mayor cantidad de células bucales del epitelio, ya que la cantidad obtenida en cada participante con resultado positivo a VPH no fue suficiente para realizar la tipificación. Con respecto al cuestionario, durante el análisis de los datos se identificó que se debió preguntar de forma simultánea el número de parejas de SOA y RSV en toda la vida y en los últimos 12 meses. Así también se debió preguntar la edad de inicio de consumo de alcohol, marihuana y tabaco. De ésta última variable, en el instrumento se debieron dejar abiertas las opciones de respuesta (sin categorizar) para el reactivo que preguntaba sobre el número de cigarrillos que se fumaban por día.

11. CONCLUSIÓN

Esta investigación epidemiológica aporta información científica relevante sobre la prevalencia de VPH en la boca de jóvenes con mucosa bucal aparentemente sana y sus factores asociados.

Los resultados de esta investigación muestran que la presencia en boca de VPH se relaciona significativamente con hechos concretos de su conducta sexual, entre los cuales destacan el número de personas con quien ha tenido sexo oral activo en toda la vida (≥ 6) y en los últimos 12 meses (≥ 6), la edad (≤ 16) al momento de practicar por primera vez relaciones sexuales vaginales, el número de personas con quien ha tenido relaciones sexuales vaginales en toda la vida (≥ 4) y en los últimos 12 meses (≥ 4). No hubo asociación estadísticamente significativa con el consumo de tabaco o alcohol, ni con el consumo de marihuana.

12. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Esta investigación formó parte del Proyecto PAPIIT IN218709-3 “Exposición de jóvenes universitarios a tipos oncogénicos de virus papiloma humano y al tabaquismo como factores de riesgo para cáncer bucal”. El proyecto fue aprobado por la Comisión de Bioética de Investigaciones con Seres Humanos del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM (Anexo 11). Los recursos de este proyecto fueron destinados a la adquisición de insumos y materiales para el desarrollo de esta investigación. No existieron ingresos para los investigadores.

El estudio se condujo de acuerdo con lo señalado en la Declaración de Helsinki.⁵⁴ Los procedimientos a seguir cumplieron con las normas para realizar un protocolo de investigación ético y asegurar la protección de los sujetos participantes, tales como proteger la vida, la salud, la intimidad y la dignidad del ser humano. Además, el estudio incluyó pruebas consideradas como mínimamente invasivas.

Sólo se incluyeron alumnos inscritos en la Facultad de Odontología de la UNAM Campus CU (licenciatura y propedéutico de ingreso a posgrado), que al momento de participar el estudio tuvieran ≥ 18 años. La participación de los universitarios fue voluntaria, no se les ofrecieron incentivos económicos, académicos, ni de ningún tipo.

Con base en los principios éticos y recomendaciones para la investigación en sujetos humanos propuestos en el Reporte Belmont,⁶⁴ para la planeación de este estudio se dio prioridad a los siguientes puntos:

- **Respeto por las personas** participantes como individuos autónomos quienes decidieron participar voluntariamente en el estudio, o bien, decidieron retirarse del estudio en el momento que deseaban. No existió coerción.
- Al participar en esta investigación, los universitarios recibieron el **beneficio concreto** de conocer gratuitamente su estatus de VPH en boca en un

momento determinado, así como una exploración visual de la cavidad bucal. Además, la participación de los alumnos en este estudio contribuyó al esclarecimiento del significado de la presencia en boca de VPH. Al término del estudio, los participantes conocieron el resultado de la prueba a la que fueron sometidas las muestras proporcionadas. En los casos en los que los participantes presentaron alguna lesión, anomalía, o padecimiento en tejidos blandos bucales, fueron canalizados para su evaluación oportuna y tratamiento necesario.

Confidencialidad

La información proporcionada para esta investigación se mantuvo bajo estricta confidencialidad. La información del cuestionario y muestras colectadas se guardaron en archivos no accesibles para personas ajenas al estudio.

La participación de los alumnos en este estudio fue voluntaria, ellos pudieron negarse a participar en cualquier etapa del estudio. Al invitarlos a participar se hizo énfasis en que la información proporcionada sería manejada con estricta confidencialidad, que su identidad sería codificada, y que ni sus padres, profesores, parejas y/o personas ajenas al estudio tendrían acceso a la información de los cuestionarios, muestras, etc.

En ningún momento se conoció el nombre de los participantes, puesto que a las muestras y cuestionarios se les asignó una clave. Bajo ninguna circunstancia se mencionó algún dato relacionado directamente con la identidad del alumno.

Consentimiento informado.

Para completar el cuestionario no se requirió consentimiento informado por escrito, porque luego de la explicación verbal sobre el estudio, los universitarios decidieron si respondían o no el cuestionario, dando su aprobación tácita para participar en el estudio. Para la etapa de investigación biomédica, donde se colectaron células exfoliadas de bordes laterales de lengua y carrillos

(procedimiento mínimamente invasivo), se ofreció a los alumnos el consentimiento informado por escrito (Anexo 5). Mediante la información, repetición y explicación se aseguró que cada participante entendiera todos los procedimientos y se respondió a las preguntas que surgieron. A cada participante se le dio el tiempo necesario para tomar su decisión.⁶⁵

Dado que informar un resultado positivo a la infección por VPH podría provocar diversas emociones en las personas, al momento de proporcionar el resultado se ofreció a todos los participantes una hoja informativa con la información suficiente, simple, relevante y completa sobre el virus (Anexo 12).

13. INFRAESTRUCTURA

Esta investigación fue desarrollada en el Laboratorio de Microbiología de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología, UNAM. El procesamiento de las muestras obtenidas se realizó en el Laboratorio de Virus y Cáncer de la Unidad de Investigación Biomédica en Cáncer perteneciente al Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM.

14. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Actividades	2009-2	2010-1	2010-2	2011-1	2011-2
	1er Sem.	2° Sem.	3° Sem.	4° Sem	
Revisión bibliográfica	x				
Elaboración marco teórico	x				
Planteamiento del problema	x				
Objetivos e hipótesis de la investigación	x				
Identificación y operacionalización de variab		x			
Diseño de investigación		x			
Plan de análisis estadístico		x			
Construcción del instrumento		x			
Planeación del trabajo de campo			x		
Entrevista con autoridades			x		
Estandarización del instrumento			x		
Versión final del instrumento de medición				x	
Elaboración de la base de datos				x	
Selección de la muestra			x		
Aplicación del instrumento				x	x
Colección de muestras biológicas				x	x
Procesamiento de las muestras en lab				x	x
Procesamiento de datos				x	x
Redacción del estudio de investigación					x
Análisis de los resultados de investigación					
Discusión					
Conclusiones					
Evaluación avances semestrales		x		x	
Actualización del marco teórico	x	x	x	x	x
Actualización del protocolo	x	x	x	x	x
Integración del documento					
Impresión de la tesis					
Presentación de la tesis					

15. REFERENCIAS

1. **de Villiers EM**, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology* 2004; 324(1):17-27. Review.
2. **Campisi G**, Panzarellav, Giuliani M, Lajolo C, Di Fede O, Falaschini S, Di Liberto C, Scully C, Lo Muzio L. Human papillomavirus: Its identikit and controversial role in oral oncogenesis, premalignant and malignant lesions (Review). *International Journal of Oncology* 2007; 30:813-823.
3. **Los Alamos National Laboratory**. Human papillomavirus type 16 (HPV16), complete genome. 1991. Disponible en URL: <http://hpv-web.lanl.gov/stdgen/virus/hpv/> Accesado en Abril 07, 2008.
4. **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; 348:518-27.
5. **Syrjänen KJ**, Pyrhönen S, Syrjänen SM, Lamberg MA. Immunohistochemical demonstration of human papilloma virus (HPV) antigens in oral squamous cell lesions. *Br J Oral Surg* 1983; 21(2):147-53.
6. **Grulich AE**, Jin F, Conway EL, Stein AN, Hocking J. Cancers attributable to human papillomavirus infection. *Sex Health* 2010; 7(3):244-52.
7. **Anaya-Saavedra G**, Ramírez-Amador V, Irigoyen-Camacho ME, García-Cuellar CM, Guido-Jiménez M, Méndez-Martínez R, García-Carrancá A. High association of human papillomavirus infection with oral cancer: a case-control study. *Archives of Medical Research* 2008; 39:189-197.
8. **D'Souza G**, Kreimer AR, Viscidi R, Pawlita M, Fakhry C, Koch WM, Westra WH, Gillison ML. Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *N Engl J Med* 2007; 356:1944-56.
9. **Deng Z**, Hasegawa M, Matayoshi S, Kiyuna A, Yamashita Y, Maeda H, Suzuki M. Prevalence and clinical features of human papillomavirus in head and neck squamous cell carcinoma in Okinawa, southern Japan. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2011. Artículo en prensa.
10. **Smith EM**, Ritchie JM, Summersgill KF, Hoffman HT, Wang DH, Haugen TH, Turek LP. Human papillomavirus in oral exfoliated cells and risk of head and neck cancer. *J Natl Cancer Inst* 2004a; 96:449-55.
11. **Ha PK**, Califano JA. The role of human papillomavirus in oral carcinogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004; 15:188e196.
12. **Luo CW**, Roan CH, Liu CJ. Human papillomaviruses in oral squamous cell carcinoma and pre-cancerous lesions detected by PCR-based gene-chip array. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2007; 36(2):153-8.
13. **Sugiyama M**, Bhawal UK, Dohmen T, Ono S, Miyauchi M, Ishikawa T. Detection of human papillomavirus-16 and HPV-18 DNA in normal, dysplastic, and malignant oral epithelium. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003; 95(5):594-600.

-
14. **Furrer VE**, Benitez MB, Furnes M, Lanfranchi HE, Modesti NM. Biopsy vs. superficial scraping: detection of human papillomavirus 6, 11, 16, and 18 in potentially malignant and malignant oral lesions. *J Oral Pathol Med* 2006; 35(6):338-44.
 15. **Tachezy R**, Klozar J, Rubenstein L, Smith E, Saláková M, Smahelová J, Ludvíková V, Rotnáglóvá E, Kodet R, Hamsíková E. Demographic and risk factors in patients with head and neck tumors. *J Med Virol* 2009; 81(5):878-87.
 16. **Giovannelli L**, Campisi G, Lama A, Giambalvo O, Osborn J, Margiotta V, Ammatuna P. Human papillomavirus DNA in oral mucosal lesions. *J Infect Dis* 2002; 185:833-836.
 17. **Sánchez-Vargas LO**, Díaz-Hernández C, Martínez-Martínez A. Detection of Human Papilloma Virus (HPV) in oral mucosa of women with cervical lesions and their relation to oral sex practices. *Infect Agent Cance*. 2010; 5(1):25.
 18. **Kreimer AR**, Villa A, Nyitray AG, Abrahamsen M, Papenfuss M, Smith D, Hildesheim A, Villa LL, Lazcano-Ponce E, Giuliano AR. The epidemiology of oral HPV infection among a multinational sample of healthy men. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011; 20(1):172-82.
 19. **Marais DJ**, Sampson C, Jeftha A, Dhaya D, Passmore JA, Denny L, Rybicki EP, Van Der Walt E, Stephen LX, Williamson AL. More men than women make mucosal IgA antibodies to Human papillomavirus type 16 (HPV-16) and HPV-18: a study of oral HPV and oral HPV antibodies in a normal healthy population. *BMC Infect Dis* 2006; 6:95.
 20. **Matsushita K**, Sasagawa T, Miyashita M, Ishizaki A, Morishita A, Hosaka N, Saikawa K, Hoshina S, Bi X, Ichimura H. Oral and Cervical Human Papillomavirus Infection among Female Sex Workers in Japan. *Jpn J Infect Dis* 2011; 64(1):34-9.
 21. **Saini R**, Khim TP, Rahman SA, Ismail M, Tang TH. High-risk human papillomavirus in the oral cavity of women with cervical cancer, and their children. *Virology* 2010; 7:131.
 22. **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):1263-1269.
 23. **Kujan O**, Desai M, Sargent A, Bailey A, Turner A, Sloan P. Potential applications of oral brush cytology with liquid-based technology: Results from a cohort of normal oral mucosa. *Oral Oncology* 2006; 42, 810– 818.
 24. **Esquenazi D**, Bussoloti Filho I, Carvalho Mda G, Barros FS. The frequency of human papillomavirus findings in normal oral mucosa of healthy people by PCR. *Braz J Otorhinolaryngol* 2010; 76(1):78-84.
 25. **Castellsagué X**. Natural history and epidemiology of HPV infection and cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2008; 110(3 Suppl 2):S4-7. Review.
 26. **Herrero R**, Castellsagué X, Pawlita M, Lissowska J, Kee F, Balaram P, Rajkumar T, Sridhar H, Rose B, Pintos J, Fernández L, Idris A, Sánchez MJ, Nieto A, Talamini R, Tavani A, Bosch FX, Reidel U, Snijders PJ, Meijer CJ, Viscidi R, Muñoz N, Franceschi S; IARC Multicenter Oral Cancer Study Group. Human papillomavirus and oral cancer: The International Agency for Research on Cancer Multicenter Study. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95:1772-83.
 27. **MeSH DATABASE**: 2004, 1998, 1995, 1988. Ingresar como palabra clave. Disponible en URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>, Accesado: Junio 17, 2009.

-
- 28. Promoción de la Salud Sexual** - Recomendaciones para la acción. Actas de una Reunión de Consulta convocada por: Organización Panamericana de la Salud (OPS), Organización Mundial de la Salud (OMS), en colaboración con la Asociación Mundial de Sexología. Antigua Guatemala, Guatemala, Mayo 2000. Disponible en URL: <http://www.amssac.org/biblioteca%20salud%20sexual%20recomendaciones.pdf>
Accesado: Mayo 30, 2009.
- 29. Faílde-Garrido JM**, Lameiras Fernández M, Bimbela Pedrola JL. [Sexual behavior in a Spanish sample aged 14 to 24 years old]. *Gac Sanit* 2008; 22(6):511-9; discussion 519.
- 30. Proia NK**, Paszkiewicz GM, Sullivan-Nasca MA, Franke GE, Pauly JL. Smoking and Smokeless Tobacco-Associated Human Buccal Cell Mutations and Their Association with Oral Cancer—A Review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; 15(6):1061–77.
- 31. Barton SE**, Maddox PH, Jenkins D, Edwards R, Cuzick J, Singer A. Effect of cigarette smoking on cervical epithelial immunity: a mechanism for neoplastic change? *Lancet* 1988; 2:652–54.
- 32. Nadais Rda F**, Campaner AB, Piato S, Longo Galvão MA, dos Santos RE, Aoki T. Langerhans' cells and smoking in intraepithelial neoplasia of the cervix. *Gynecol Oncol*. 2006; 102(2):356-60.
- 33. Hawthorn RJ**, Murdoch JB, MacLean AB, MacKie RM. Langerhans' cells and subtypes of human papillomavirus in cervical intraepithelial neoplasia. *BMJ* 1988; 297(6649):643-6.
- 34. de Jong A**, van Poelgeest MI, van der Hulst JM, Drijfhout JW, Fleuren GJ, Melief CJ, Kenter G, Offringa R, van der Burg SH. Human papillomavirus type 16-positive cervical cancer is associated with impaired CD4 β T-cell immunity against early antigens E2 and E6. *Cancer Res* 2004; 64:5449–55.
- 35. International Collaboration of Studies of Cervical Cancer**. Carcinoma of the cervix and tobacco smoking: collaborative reanalysis of individual data on 13,541 women with carcinoma of the cervix and 23,017 women without carcinoma of the cervix from 23 epidemiological studies. *Int J Cancer* 2006; 118:1481–95.
- 36. Lazcano-Ponce E**, Herrero R, Muñoz N, Cruz A, Shah KV, Alonso P, Hernández P, Salmerón J, Hernández M. Epidemiology on HPV infection among Mexican women with normal cervical cytology. *Int J Cancer* 2001; 91:412–20.
- 37. Vaccarella S**, Herrero R, Snijders PJF, Min M, Thomas JO, Hieu NT, Ferreccio C, Matos E, Posso H, Sanjosé S, Shin HR, Sukvirach S, Lazcano-Ponce E, Muñoz N, Meijer CJLM, Franceschi S. Smoking and human papillomavirus infection: pooled analysis of the International Agency for Research on Cancer HPV Prevalence Surveys. *International Journal of Epidemiology* 2008; 37:536–546.
- 38. Du X**, Squier CA, Kremer MJ, Wertz PW. Penetration of N-nitrosornicotine (NNN) across oral mucosa in the presence of ethanol and nicotine. *J Oral Pathol Med* 2000; 29(2):80-5.
- 39. Reis SR**, do Espírito Santo AR, Andrade MG, Sadigursky M. Cytologic alterations in the oral mucosa after chronic exposure to ethanol. *Braz Oral Res* 2006; 20(2):97-102.
- 40. Squier CA**, Kremer MJ, Wertz PW. Effect of ethanol on lipid metabolism and epithelial permeability barrier of skin and oral mucosa in the rat. *J Oral Pathol Med* 2003; 32(10):595-9.
-

-
41. **Howie NM**, Trigkas TK, Cruchley AT, et al. Short-term exposure to alcohol increases the permeability of human oral mucosa. *Oral Dis* 2001; 7:349–354.
 42. **Smith EM**, Ritchie JM, Summersgill KF, Klusmann JP, Lee JH, Wang D, Haugen TH, Turek LP. Age, sexual behavior and human papillomavirus infection in oral cavity and oropharyngeal cancers. *Int J Cancer*. 2004; 108(5):766-72.
 43. **Kahn JA**, Rosenthal SL, Succop PA, Ho GY, Burk RD. Mediators of the association between age of first sexual intercourse and subsequent human papillomavirus infection. *Pediatrics* 2002; 109(1):E5.
 44. **Kahn JA**, Rosenthal SL, Succop PA, Ho GYF, Burk RD. The interval between menarche and age of first sexual intercourse as a risk factor for subsequent HPV infection in adolescent and young adult women. *J Pediatr* 2002; 141:718-23.
 45. **Winer RL**, Lee SK, Hughes JP, Adam DE, Kiviat NB, Koutsky LA. Genital human papillomavirus infection: incidence and risk factors in a cohort of female university students. *Am J Epidemiol*. 2003; 157(3):218-26. Erratum in: *Am J Epidemiol* 2003; 157(9):858.
 46. **Vaccarella S**, Franceschi S, Herrero R, Muñoz N, Snijders PJ, Clifford GM, Smith JS, Lazcano-Ponce E, Sukvirach S, Shin HR, de Sanjosé S, Molano M, Matos E, Ferreccio C, Anh PT, Thomas JO, Meijer CJ; IARC HPV Prevalence Surveys Study Group. Sexual behavior, condom use, and human papillomavirus: pooled analysis of the IARC human papillomavirus prevalence surveys. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; 15(2):326-33.
 47. **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.
 48. **National Institute on Drug Abuse (NIDA)**, National Institutes of Health (NIH), U.S. Department of Health and Human Services. Febrero 18, 2009. La Marihuana: lo que los padres deben saber. Disponible en URL: <http://www.drugabuse.gov/MarijBroch/spanish/Marijparetxt-sp.html#Anchor-11481> Accesado Julio 16, 2009.
 49. **Versteeg PA**, Slot DE, van der Velden U, van der Weijden GA. Effect of cannabis usage on the oral environment: a review. *Int J Dent Hyg* 2008; 6(4):315-20.
 50. **Hashibe M**, Straif K, Tashkin DP, Morgenstern H, Greenland S, Zhang ZF. Epidemiologic review of marijuana use and cancer risk. *Alcohol* 2005; 35(3):265-75.
 51. **Darling MR**, Learmonth GM, Arendorf TM. Oral cytology in cannabis smokers. *SADJ* 2002; 57(4):132-5.
 52. **Hubbard RA**. Human papillomavirus testing methods. *Arch Pathol Lab Med* 2003; 127(8):940-5.
 53. **Acha A**, Ruesga MT, Rodríguez MJ, Martínez de Pancorbo MA, Aguirre JM. Applications of the oral scraped (exfoliative) cytology in oral cancer and precancer. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2005; 10(2):95-102. Review.
 54. **World Medical Association**. Declaration of Helsinki - Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 59th WMA General Assembly, Seoul, October 2008. Disponible en URL: <http://www.wma.net/e/policy/b3.htm>, Accesado en Mayo 12, 2009.
-

-
55. **Kleinbaum DG** (1982). "Types of epidemiologic research". *Epidemiologic research: principles and quantitative methods*. Ed. Wiley and Sons. ISBN: 0-471-28985-X. USA (New York).
 56. **Vandenbroucke JP**, von Elm E, Altman DG, Gøtzsche PC, Mulrow CD, et al. Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE): Explanation and Elaboration. *PLoS Med*, 2007; 4(10):e297. doi:10.1371/journal.pmed.0040297.
 57. **Scheaffer RL**, Mendenhall W (1987). Elementos de muestreo. Grupo Editorial Iberoamérica.
 58. **Herrera-Vázquez M**, Wagner FA, Velasco-Mondragón E, Borges G, Lazcano-Ponce E. [Onset of alcohol and tobacco use and transition to other drug use among students from Morelos, Mexico] *Salud Publica Mex* 2004; 46(2):132-40.
 59. **Sánchez-Zamorano LM**, Hernández-Avila M, Lazcano-Ponce E. [Immoderate alcohol consumption as predictor of tobacco persistence among youth] *Salud Publica Mex* 2006; 48 Suppl 1:S41-7.
 60. **González JV**, Gutiérrez RA, Keszler A, Colacino M, Alonio LV, Teyssie AR, Picconi MA. Human Papillomavirus In Oral Lesions. *Medicina (Buenos Aires)* 2007; 7:363-368.
 61. **Ammatuna P**, Campisi G, Giovannelli L, Giambelluca D, AlaimoC, MancusoS, Margiotta V. Presence of Epstein–Barr virus, cytomegalovirus and human papillomavirus in normal oral mucosa of HIV-infected and renal transplant patients. *Oral Diseases* 2001; 7:34–40.
 62. **Saiki RK**, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA, et al. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 1985; 230:1350e1354.
 63. **PAHO**. Organización Panamericana de la Salud. EPIDAT 3.0 Programa de libre distribución para el manejo de datos tabulados, 2000. Disponible en URL: <http://www.paho.org/spanish/sha/epidat.htm> Accesado en Febrero 07, 2011.
 64. **The Belmont Report**, Ethical Principles and Guidelines for the Protection of Human Subjects of Research. National Commission for the Protection of Human Subjects of Biomedical and Behavioral Research. 1979.
 65. **Pautas éticas internacionales para la investigación biomédica en seres humanos**. Consejo de organizaciones internacionales de las ciencias médicas (CIOMS). Organización Mundial de la Salud. Programa Regional de Bioética OPS/OMS. Ginebra, 2002. Disponible en URL: <http://www.bioetica.ops-oms.org/>. ISBN 956-7938-03-2.
 66. **Degenhardt L**, Chiu WT, Sampson N, Kessler RC, Anthony JC, Angermeyer M, Bruffaerts R, de Girolamo G, Gureje O, Huang Y, Karam A, Kostyuchenko S, Lepine JP, Mora ME, Neumark Y, Ormel JH, Pinto-Meza A, Posada-Villa J, Stein DJ, Takeshima T, Wells JE. Toward a global view of alcohol, tobacco, cannabis, and cocaine use: findings from the WHO World Mental Health Surveys. *PLoS Med* 2008; 5(7):e141.
 67. **Tapia-Conyer R**, Kuri P, Cravioto P, Galván F, Jiménez B, Cortés M, Medina-Mora ME, Villatoro J. Encuesta Nacional de Adicciones 2002, Capítulo de Tabaco. Consejo Nacional contra las Adicciones, CONADIC, Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz, INPRFM, Dirección General de Epidemiología, DGE, Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, INEGI. México.

-
- 68. White MM**, Gilpin EA, Emery SL, Pierce JP. Facilitating adolescent smoking: who provides the cigarettes? *Am J Health Promot* 2005; 19(5):355-60.
- 69. Medina-Mora ME**, Cravioto P, Villatoro J, Galván F, Fleiz C, Rojas E, Kuri P, Ruiz C, Castrejón J, Velez A, García A. Encuesta Nacional de Adicciones 2002, Capítulo de Alcohol. Consejo Nacional contra las Adicciones, CONADIC, Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz, INPRFM, Dirección General de Epidemiología, DGE, Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, INEGI. México.
- 70. Villatoro J**, Medina-Mora ME, Cravioto P, Fleiz C, Galván F, Rojas E, Kuri P, Ruiz C, Castrejón J, Velez A, García A. Encuesta Nacional de Adicciones 2002, Capítulo de Drogas. Consejo Nacional contra las Adicciones, CONADIC, Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz, INPRFM, Dirección General de Epidemiología, DGE, Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, INEGI. México.

16. ANEXOS

Anexo 1. Instrumento de recolección de datos. Versión piloto.

ID:	Fecha: _____ (día-mes-año)	N° de Cuenta:
<p>Este cuestionario ha sido elaborado con el propósito de identificar factores relacionados con la presencia de virus papiloma humano en boca. Una vez que haya respondido, se vaciará el contenido en una hoja de Excel, y el cuestionario será almacenado bajo llave durante el desarrollo de esta investigación. Con excepción del responsable del proyecto, ninguna persona tendrá acceso a esta información. Al término del estudio, los cuestionarios serán destruidos.</p> <p>INSTRUCCIONES: Lea cuidadosamente las preguntas y marque con una X la respuesta que considere se apega más a la verdad. No deje alguna respuesta en blanco.</p>		
Datos generales:		
1. Sexo: (1) Hombre (2) Mujer	2. Edad: _____ (años cumplidos)	
3. Email:	4. Tel-CELULAR:	
Consumo de tabaco:		
5. ¿Ha fumado tabaco alguna vez en su vida? (1) Si → pase a la preg. 6 (2) No → salte a la preg. 10	8. Aproximadamente, ¿cuántos cigarrillos ha fumado diariamente en los últimos 30 días? ↓ (1) No fuma diario (2) De 1 a 5 (3) De 6 a 10 (4) De 11 a 20 (5) Más de 20	
6. En los últimos 12 meses ¿ha fumado tabaco? (1) Si → pase a la preg. 7 (2) No → salte a la preg. 9		
7. En los últimos 30 días ¿ha fumado tabaco? (1) Si → pase a la preg. 8 (2) No → salte a la preg. 9	9. Cuando fuma un cigarrillo, ¿acostumbra compartirlo otra persona? ↓ (1) Si (2) No	
Consumo de alcohol:		
10. ¿Ha consumido alguna vez cualquier bebida que contenga alcohol? (1) Si → pase a la preg. 11 (2) No → salte a la preg. 13	12. ¿Con qué frecuencia tomó alguna bebida que contenga alcohol en los últimos 12 meses? ↓ (1) A diario (2) Casi diario (3) 3-4 veces a la semana (4) 1-2 veces a la semana (5) 2-3 veces al mes (6) Una vez al mes (7) 7-11 veces al año (8) 3-6 veces al año (9) 2 veces al año (10) Una vez al año (11) Menos de una vez al año	
11. ¿En los últimos 12 meses tomó alguna bebida que contenga alcohol? (cerveza, pulque, vino, brandy, whisky, ron, tequila, coolers, etc.) (1) Si → pase a la preg. 12 (2) No → salte a la preg. 13		
Consumo de mariguana:		
13. ¿Alguna vez en su vida, ha fumado mariguana (también llamada hashish, mota, churro, etc.)? (1) Si → pase a la preg. 14 (2) No → salte a la preg. 15	14. Cuando ha fumado mariguana, ¿acostumbra compartir el mismo churro otra persona?" (1) Si fuma mariguana y si comparte el mismo churro con otra persona. (2) Si fuma mariguana y no comparte el mismo churro con otra persona. (3) No fuma mariguana.	

Conducta sexual:	
15. Indique su orientación sexual: (1) Homosexual (2) Heterosexual (3) Bisexual (99) Prefiero no responder → pase a la preg. 16	
16. ¿Alguna vez ha practicado sexo oral activo (colocado su boca o lengua en la vagina de una mujer o en el pene de un hombre)? (1) Si → pase a la preg. 17 (2) No → salte a la preg. 19 (99) Prefiero no responder → pase a la preg. 17	17. Edad (en años cumplidos) al momento de practicar por primera vez sexo oral activo: _____ (99) Prefiero no responder → pase a la preg. 18
18. Indique el número de personas con quien ha practicado sexo oral activo a lo largo de la vida: _____ (99) Prefiero no responder → pase a la preg. 19	19. Indique el número de personas con quien ha tenido sexo oral activo en los 12 meses previos a la participación en el estudio: _____ (99) Prefiero no responder → pase a la preg. 20
20. ¿Con qué frecuencia usa el condón como barrera protectora durante la práctica de sexo oral activo? (1) Siempre/uso sistemático (2) En ocasiones (3) Nunca (99) Prefiero no responder → pase a la preg. 21	21. ¿Alguna vez ha dado un beso francés, o puesto la lengua dentro de la boca de una mujer, o de un hombre? (1) Si (2) No (99) Prefiero no responder → pase a la preg. 22
22. ¿Alguna vez ha tenido relaciones sexuales vaginales (unión sexual que implica penetración vaginal)? (1) Si (2) No (99) Prefiero no responder → pase a la preg. 23	23. Edad (en años cumplidos) al momento de tener la primera relación sexual vaginal: _____ (99) Prefiero no responder → pase a la preg. 24
24. Indique el número de personas con quien ha tenido relaciones sexuales vaginales a lo largo de la vida: _____ (99) Prefiero no responder → pase a la preg. 25	25. Indique el número de personas con quien ha tenido relaciones sexuales vaginales, en los 12 meses previos a la participación en el estudio: _____ (99) Prefiero no responder

Muchas gracias por su participación.

Anexo 2. Instrumento de recolección de datos. Versión final.

Código:	Fecha: _____ (día-mes-año)	N° de Cuenta:
<p>Este cuestionario ha sido elaborado con el propósito de identificar algunos hábitos en universitarios. La información que nos proporcione será manejada con estricta confidencialidad, el cuestionario será almacenado bajo llave durante el desarrollo de esta investigación. Con excepción del responsable del proyecto, ninguna persona tendrá acceso a esta información. Al término del estudio, los cuestionarios serán destruidos.</p> <p>INSTRUCCIONES: Lea cuidadosamente las preguntas y marque con una X la respuesta que considere se apegue más a la verdad. No deje alguna respuesta en blanco.</p>		
Datos generales:		
1. Sexo: (1) Hombre (2) Mujer	2. Edad: _____ (años cumplidos)	
Consumo de tabaco:		
3. ¿Ha fumado tabaco alguna vez en su vida? (1) Si (2) No	4. En los últimos 12 meses ¿ha fumado tabaco? (1) Si (2) No	6. Aproximadamente, ¿cuántos cigarrillos ha fumado diariamente en los últimos 30 días? ↓ (1) No fuma diario (2) De 1 a 5 (3) De 6 a 10 (4) De 11 a 20 (5) Más de 20
5. En los últimos 30 días ¿ha fumado tabaco? (1) Si (2) No	7. Cuando fuma un cigarrillo, ¿acostumbra compartirlo con otra persona? ↓ (1) Si (2) No	
Consumo de alcohol:		
8. ¿Ha consumido alguna vez cualquier bebida que contenga alcohol? (1) Si (2) No	9. ¿En los últimos 12 meses tomó alguna bebida que contenga alcohol? (cerveza, pulque, vino, brandy, whisky, ron, tequila, coolers, etc.) (1) Si (2) No	10. ¿Con qué frecuencia tomó alguna bebida que contenga alcohol en los últimos 12 meses? ↓ (1) A diario (2) Casi diario (3) 3-4 veces a la semana (4) 1-2 veces a la semana (5) 2-3 veces al mes (6) Una vez al mes (7) 7-11 veces al año (8) 3-6 veces al año (9) 2 veces al año (10) Una vez al año (11) Menos de una vez al año
Consumo de marihuana:		
11. ¿Alguna vez en su vida, ha fumado marihuana (también llamada hashish, mota, churro, etc.)? (1) Si (2) No	12. Cuando ha fumado marihuana, ¿acostumbra compartir el mismo churro con otra persona? (1) Si fuma marihuana y si comparte el mismo churro con otra persona. (2) Si fuma marihuana y no comparte el mismo churro con otra persona. (3) No fuma marihuana.	
Conducta sexual:		

<p>13. Indique su orientación sexual:</p> <p>(1) Homosexual (2) Heterosexual (3) Bisexual (98) Prefiero no responder</p>	
<p>14. ¿Alguna vez ha practicado sexo oral activo (colocado su boca o lengua en la vagina de una mujer o en el pene de un hombre)?</p> <p>(1) Si (2) No (98) Prefiero no responder</p>	<p>15. Indique su edad al momento de practicar por primera vez sexo oral activo: _____ (años cumplidos)</p> <p>(97) No he practicado sexo oral activo (98) Prefiero no responder</p>
<p>16. Indique el número de personas con quien ha practicado sexo oral activo <i>en toda su vida</i>: _____</p> <p>(97) No he practicado sexo oral activo (98) Prefiero no responder</p>	<p>17. Indique el número de personas con quien ha tenido sexo oral activo <i>en los últimos 12 meses</i>: _____</p> <p>(97) No he practicado sexo oral activo (98) Prefiero no responder</p>
<p>18. ¿Con qué frecuencia usa el condón como barrera protectora durante la práctica de sexo oral activo?</p> <p>(1) Siempre/uso sistemático (2) En ocasiones (3) Nunca (98) Prefiero no responder</p>	<p>19. ¿Alguna vez ha dado un beso francés (<i>de lengüita</i>), o puesto la lengua dentro de la boca de una mujer, o de un hombre?</p> <p>(1) Si (2) No (98) Prefiero no responder</p>
<p>20. ¿Alguna vez ha tenido relaciones sexuales vaginales (unión sexual que implica penetración vaginal)?</p> <p>(1) Si (2) No (98) Prefiero no responder</p>	<p>21. Indique su edad al momento de tener la primera relación sexual vaginal: _____ (años cumplidos)</p> <p>(97) No he tenido relaciones sexuales vaginales (98) Prefiero no responder</p>
<p>22. Indique el número de personas con quien ha tenido relaciones sexuales vaginales <i>en toda su vida</i>: _____</p> <p>(97) No he tenido relaciones sexuales vaginales (98) Prefiero no responder</p>	<p>23. Indique el número de personas con quien ha tenido relaciones sexuales vaginales <i>en los últimos 12 meses</i>: _____</p> <p>(97) No he tenido relaciones sexuales vaginales (98) Prefiero no responder</p>
<p>24. ¿Con qué frecuencia se ha realizado el examen del Papanicolaou? [sólo mujeres]</p> <p>(1) Nunca me han realizado tal examen (2) Anualmente (3) Menos de 1 vez al año (98) Prefiero no responder</p>	<p>25. ¿Alguna vez le han diagnosticado alguna enfermedad de transmisión sexual?</p> <p>(1) Si (2) No (98) Prefiero no responder</p>
<p>26. ¿Le aplicaron la vacuna contra el virus papiloma humano?</p> <p>(1) Si (2) No (98) Prefiero no responder</p>	<p>27. Indique su edad al momento de ser vacunado contra el virus papiloma humano: _____ (años cumplidos)</p> <p>(2) No he recibido la vacuna (98) Prefiero no responder</p>
<p>28. En caso de que tuviera acceso a la vacuna contra el virus papiloma humano, ¿permitiría que se la aplicaran?</p> <p>(1) Si (2) No (98) Prefiero no responder</p>	<p>29. Cree que la aplicación de la vacuna contra el virus papiloma humano beneficiaría su salud.</p> <p>(1) Si (2) No (98) Prefiero no responder</p>

Muchas gracias por su participación.

Anexo 3. Estrategia para la aplicación del cuestionario.^e

- Llegamos al salón de clase.^f
- Nos aseguramos de que el grupo alumnos se encuentre presente, y de que conozcamos al profesor que imparte la clase.
- Hablamos con el profesor, nos presentamos con él/ella.
- Le solicitamos su autorización para aplicar el cuestionario en su grupo.
- Indicamos que el tiempo aproximado de respuesta del cuestionario es de 10 a 15 minutos.^g
- Una vez en el salón, solicito la atención de los alumnos y les digo que venimos de la Facultad de Medicina -Programa de Maestría y Doctorado-, Facultad de Odontología y del IIB de la UNAM) a aplicar un cuestionario. Que es una investigación que se está realizando en toda la facultad y que consiste en dos etapas: la primera es la aplicación del cuestionario y la segunda, es una parte clínica en la que sólo participarán poco mas de 500 alumnos seleccionados aleatoriamente.
- Se lee el párrafo introductorio del cuestionario, y les digo que si tienen alguna duda, por favor me digan y me acerco a su lugar. También se indica que estamos conscientes de que algunas preguntas del cuestionario podrían parecer un tanto personales, y que si alguien no desea contestarlo está en su libre derecho de no hacerlo.
- Por otro lado, se puntualiza que es muy importante su participación en el estudio, que respondan con apego a la verdad, que ninguna persona ajena al grupo de trabajo conocerá sus respuestas, (ni sus profesores, padres, parejas, etc.), que se procuró plantear las preguntas de la manera más clara, honesta y respetuosa posible.
- Finalmente, agradecemos su colaboración y disponibilidad para participar en el estudio.

^e Información tomada de la bitácora de trabajo de investigación.

^f Junto con el equipo de apoyo de alumnos de servicio social.

^g Algunos profesores aceptan, y salen del salón. Otros hacen más preguntas sobre nuestra procedencia y el propósito de la encuesta. Algunos más nos dice que regresemos al final de la clase.

Anexo 4. Operacionalización de variables.

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Nivel de medición
Dependiente			
Virus papiloma humano (VPH) en mucosa bucal.	Los virus papiloma humano pertenecen a la familia de los <i>Papillomaviridae</i> , y conforman un grupo heterogéneo de agentes virales que infectan epitelios. ^{1,2} Existen más de 100 tipos de VPH, ³ los cuales se han clasificado como de alto riesgo, probable riesgo y de bajo riesgo. ⁴ Cuando se presentan en la cavidad oral, la literatura científica los denomina como infección bucal por virus papiloma humano.	La presencia en boca del VPH se estableció de acuerdo con el protocolo recomendado en el Laboratorio de Virus y Cáncer del IIB-UNAM. El procedimiento incluyó tres etapas: 1) extracción de DNA, 2) amplificación (identificación del gen β -globina, para la evaluación de la presencia y calidad de DNA genómico humano en las muestras colectadas), y 3) la detección del genoma viral mediante PCR, aquí es donde se categoriza la variable dependiente: a) Negativo: no existe genoma del VPH en la muestra. b) Positivo: existe genoma del VPH en la muestra, la secuencia coincide con los primers - MY09 ó MY11 ó PGMY09 ó PGMY11 - Combinaciones entre MY09, MY11, PGMY09, PGMY11, ó - Los cuatro primers al mismo tiempo.	Cualitativa nominal.
Independientes			
Conducta sexual Sexo oral activo.	Se define como colocar la boca o lengua en la vagina de una mujer o en el pene de un hombre. ²²	Respuesta del participante a “alguna vez ha colocado su boca o lengua en la vagina de una mujer o en el pene de un hombre”: a. Sí b. No	Cualitativa nominal.

Continuación...

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Nivel de medición
Número de personas con quien ha tenido sexo oral activo.	Número de personas con quien ha tenido sexo oral activo a lo largo de la vida. ²⁰	Esta variable se midió de la siguiente manera: a. Respuesta del participante a “número de personas con quien ha tenido sexo oral activo <i>a lo largo de la vida</i> ”, b. Respuesta del participante a “número de personas con quien ha tenido sexo oral activo <i>en el último año</i> ” (en los 12 meses previos a la participación en el estudio).	Cuantitativa discreta.
Edad de la primera relación sexual oral activo.	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el momento de tener la primera relación de sexo oral activo.	Se registró la edad reportada (en años cumplidos) por los participantes al momento de tener la primera relación de sexo oral activo.	Cuantitativa discreta.
Frecuencia de uso del condón durante el sexo oral activo.	Frecuencia en el uso de condón como barrera protectora durante la práctica de sexo oral activo. ²⁹	Se registró la respuesta expresada del participante, y se midió en: a. Siempre/uso sistemático b. En ocasiones c. Nunca	Cualitativa nominal.
Besar con la boca abierta.	Besar con boca abierta, se define también como <i>beso francés</i> , y significa poner la lengua dentro de la boca de una mujer, o de un hombre. ²²	Respuesta expresada del participante a “alguna vez ha dado un beso francés, o puesto la lengua dentro de la boca de una mujer, o de un hombre”: a. Sí, b. No	Cualitativa nominal.

Continuación...

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Nivel de medición
Orientación sexual.	La orientación sexual es la organización específica del erotismo y/o el vínculo emocional de un individuo en relación al género de la pareja involucrada en la actividad sexual. La orientación sexual puede manifestarse en forma de comportamientos, pensamientos, fantasías o deseos sexuales, o en una combinación de estos elementos. ²⁸	En esta investigación se consideró como: a. Homosexual: hombre o mujer que reporte atracción y/o relación sexual con individuos de su mismo sexo. ²⁷ b. Heterosexual: hombre o mujer que reporte atracción y/o relación sexual con miembros del sexo opuesto. ²⁷ c. Bisexual: hombre o mujer que reporte atracción y/o relación sexual con miembros tanto de su mismo sexo como del sexo opuesto. ²⁷	Cualitativa nominal.
Relaciones sexuales vaginales.	Se conoce también como <i>coito</i> , y se refiere a la unión sexual entre un hombre y una mujer, implica penetración vaginal. ²⁷	Se registró la respuesta expresada del participante a la pregunta “alguna vez ha tenido relaciones sexuales vaginales”: a. Si b. No	Cualitativa nominal.
Número de personas con quien ha tenido relaciones sexuales vaginales.	Número de personas con quien ha tenido relaciones sexuales vaginales a lo largo de la vida. ⁴⁷	En esta variable se midió como sigue: a. Respuesta del participante a “número de personas con quien ha tenido relaciones sexuales vaginales <i>a lo largo de la vida</i> ”, b. Respuesta del participante a “número de personas con quien ha tenido relaciones sexuales vaginales <i>en el último año</i> ” (en los 12 meses previos a la participación en el estudio).	Cuantitativa discreta.

Continuación...

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Nivel de medición
Edad de la primera relación sexual vaginal.	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el momento de tener la primera relación sexual vaginal.	Se registró la edad reportada en años cumplidos por el participante al momento de tener su primera relación sexual vaginal.	Cuantitativa discreta.

Antecedentes

Sexo.	La literatura científica ha documentado que existen diferencias por sexo en los individuos en cuanto a conducta sexual, ⁴⁶ consumo de tabaco y alcohol. ⁶⁶ El término “sexo” se refiere al conjunto de características biológicas que definen al espectro de los seres humanos como hombres y mujeres. ²⁸ Esta variable fue incluida para describir a la muestra de estudio.	Esta variable fue medida mediante la observación directa del individuo, y se determinará si es: a. Hombre b. Mujer	Cualitativa nominal.
Edad.	Lazcano et al, reportan un “pico” en la presencia de VPH en el grupo de mujeres mexicanas <25 años sexualmente activas. ³⁶ Dado que este estudio se realizó en individuos jóvenes, fue importante registrar la edad de los participantes, para identificar si existía una relación similar en el caso de la presencia de VPH en boca.	Tiempo transcurrido desde el nacimiento de una persona. Años de vida cumplidos hasta el momento de su participación en el estudio.	Cuantitativa discreta.

Continuación...

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Nivel de medición
Consumo de tabaco.	Para fines de recopilación y análisis de información, se considera al cigarrillo como la forma preferida de consumir tabaco para la mayoría de los fumadores del país. ⁶⁷	Se emplearon reactivos de la Encuesta Nacional de Adicciones. ⁶⁷	
Estatus del hábito.	<ol style="list-style-type: none">Fumador: Individuo que al momento de la entrevista reporta fumar (en los últimos 12 meses).Ex fumador: Individuo que al momento de la entrevista reporta no haber fumado en el último año, pero si antes con cualquier patrón de consumo.Nunca fumador: Individuo que nunca en su vida ha consumido cigarros.		Cualitativa nominal.
Compartir el mismo cigarrillo.	Registro de la respuesta de los participantes a “cuando fuma un cigarrillo, ¿acostumbra compartirlo otra persona?”. ⁶⁸ <ol style="list-style-type: none">SiNo		Cualitativa nominal.
Consumo de alcohol.	Consumo de alcohol es tomar o beber cualquier bebida que contenga alcohol. ⁶⁹	Se emplearon reactivos de la Encuesta Nacional de Adicciones. ⁶⁹	
Estatus del hábito.	<ol style="list-style-type: none">Bebedor actual: Persona que ha tomado alcohol por lo menos en el último año.Ex bebedor: Persona que ha tomado alguna vez alcohol, pero que no lo ha vuelto a hacer en el último año.Abstemio: Persona que nunca ha tomado alcohol.		Cualitativa nominal.
Frecuencia del consumo.	<ol style="list-style-type: none">Diario o casi diario: El encuestado menciona que toma alcohol en la frecuencia indicada.De 1 a 4 veces por semana: El encuestado menciona que toma alcohol en la frecuencia indicada.De 1 a 3 veces por mes: El encuestado menciona que toma alcohol en la frecuencia indicada.De 3 a 11 veces al año: El encuestado menciona que toma alcohol en la frecuencia indicada.De 1 a 2 veces al año: El encuestado menciona que toma alcohol en la frecuencia indicada.Abstemio: nunca ha bebido.		Cualitativa nominal.

Continuación...

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Nivel de medición
Consumo de marihuana.	La marihuana es una sustancia psicoactiva. Es una mezcla verde, café o gris de hojas, tallos, semillas y flores de la planta conocida como cáñamo (<i>cannabis sativa</i>). Los nombres para referirse a la marihuana cambian rápidamente y varían dependiendo del país e inclusive la región del país en donde se viva. Entre los términos comunes en español para referirse a la marihuana están: mota, hierba, mafú, pasto, maría, monte, moy y café. ⁴⁸	Se empleará un reactivo de la Encuesta Nacional de Adicciones ⁷⁰ y se registrará si el participante acostumbra compartir el mismo chorro con otra persona.	
Estatus de consumo de marihuana.	<ol style="list-style-type: none">Fumador: Individuo que al momento de la entrevista reporta haber fumado marihuana en los últimos 12 meses.Ex fumador: Individuo que al momento de la entrevista reporta no haber fumado marihuana en el último año, pero si antes.Nunca fumador: Individuo que nunca en su vida ha fumado marihuana.		Cualitativa nominal.
Compartir el mismo cigarro de marihuana	Registro de la respuesta de los participantes a “cuando ha fumado marihuana, ¿acostumbra compartir el mismo chorro otra persona?”. <ol style="list-style-type: none">Si fuma marihuana y si comparte el mismo chorro con otra persona.Si fuma marihuana y no comparte el mismo chorro con otra persona.No fuma marihuana.		Cualitativa nominal.

Anexo 5. Formato de Consentimiento Informado.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Odontología, División de Estudios de Posgrado e Investigación,
Laboratorio de Microbiología
Instituto de Investigaciones Biomédicas
Laboratorio de Virus y Cáncer

Formato de consentimiento informado para estudios clínicos

Investigador Responsable:

El Dr. Enrique Acosta Gío es profesor titular “C”, y jefe del Laboratorio de Microbiología de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología. Sus estudios se enfocan a la prevención y control de enfermedades transmisibles. El Dr. Acosta Gío es el investigador responsable del PROYECTO PAPIIT IN218709-3 **“Exposición de jóvenes universitarios a tipos oncogénicos de virus papiloma humano y al tabaquismo como factores de riesgo para el cáncer bucal”**. El Dr. Alejandro García Carrancá contribuirá con su experiencia, equipamiento y materiales diversos para detectar y tipificar, mediante PCR e hibridación, virus papiloma humano en muestras bucales de jóvenes universitarios.

Hoja de información

Propósito:

El objetivo de esta investigación es evaluar la exposición a tipos oncogénicos de virus papiloma humano, y la adicción al tabaquismo como factores de riesgo para el cáncer bucal en jóvenes universitarios. Se analizará, también, la posible asociación entre la infección bucal con tipos oncogénicos de VPH o el tabaquismo, con la presencia de alteraciones visibles y cambios en la continuidad de la mucosa bucal en jóvenes universitarios expuestos a estos factores de riesgo para el desarrollo de cáncer bucal.

El cáncer bucal (CB) es más frecuente a partir de la cuarta década de la vida, posiblemente por el efecto acumulativo de la exposición a diversos factores de riesgo. Sin embargo, van en aumento los reportes sobre CB en individuos jóvenes. Los factores de riesgo para el CB mejor estudiados son el consumo de alcohol y tabaco, y la infección bucal con tipos oncogénicos de VPH. Es posible que la más temprana exposición a estos factores de riesgo esté relacionada con el incremento en la incidencia del CB en jóvenes.

Los procedimientos a seguir cumplen con las normas para realizar un protocolo de investigación ético y asegurar la protección de los sujetos participantes. El estudio propuesto incluye pruebas no-invasivas y mínimamente invasivas, entrenamiento de los participantes en procedimientos de auto-exploración bucal, y el examen bucal por clínicos calibrados.

A los alumnos seleccionados se les realizará un examen clínico estandarizado de la mucosa bucal. Se recolectarán células exfoliadas del epitelio estratificado escamoso que recubre carrillos, lengua, y piso de boca, para la identificación y tipificación de VPH mediante PCR e hibridación. Posteriormente, se coleccionarán muestras de saliva; éstas podrán ser utilizadas para la búsqueda de anticuerpos anti-VPH.

Beneficios derivados del estudio:

Al participar en esta investigación, usted no recibirá ningún beneficio concreto, pero contribuirá al esclarecimiento del significado de la presencia de infección bucal por VPH.

La presencia de lesiones bucales sospechosas será motivo para remitir a un alumno VPH-positivo, negativo o aún no evaluado hacia la consulta especializada en el “Servicio de Diagnóstico Clínico e Histopatológico” de la Facultad de Odontología. De ser necesario,

especialistas del Departamento del Cirugía Bucal y Maxilo-Facial de la Facultad de Odontología tomarán biopsias.

Incentivos:

Usted no obtendrá ningún beneficio económico por formar parte de esta investigación.

Confidencialidad de los datos:

La información recolectada para este proyecto de investigación se mantendrá bajo estricta confidencialidad. Dicha información se coleccionará y se guardará en archivos no accesibles para personas ajenas al estudio.

Derecho de no participar y de abandono:

Usted no tiene la obligación de participar en este estudio si así lo decide. Puede, por lo tanto, negarse a participar desde el inicio del estudio o en cualquier momento que usted lo decida.

A quién contactar:

Si tiene usted alguna duda relacionada con el estudio, puede contactar en cualquier momento a:

Dr. Enrique Acosta Gío
Tel. 5622-5564
E-mail: acostag@servidor.unam.mx,

Certificado de consentimiento

He sido invitado para participar en el PROYECTO PAPIIT - IN218709-3 "Exposición de jóvenes universitarios a tipos oncogénicos de virus papiloma humano y al tabaquismo como factores de riesgo para el cáncer bucal". Manifiesto que se me ha explicado el propósito de la investigación, y todos los puntos relacionados que a continuación se enumeran:

Propósito de la investigación.

Procedimientos.

Beneficios de la investigación.

Confidencialidad de la información que sea proporcionada.

Datos de las personas a quién contactar en caso de dudas.

Leí o me fue leída la información relevante del protocolo. Tuve oportunidad de hacer preguntas y me fueron aclaradas las dudas que tenía. Consiento de manera voluntaria A participar como sujeto de este estudio. Estoy de acuerdo con responder apegado a la verdad A las preguntas que se me hagan. Sé que tengo el derecho de negarme a participar en este estudio en cualquier momento.

Nombre completo

No. de Cuenta

Fecha

Anexo 6. Concentración y pureza del DNA genómico extraído.

Muestra	Concentración ng/μl	Pureza	Muestra	Concentración ng/μl	Pureza
1	18.60	1.75	39	37.20	1.77
2	7.50	1.38	40	12.60	1.47
3	26.00	1.77	41	6.70	1.38
4	22.40	1.82	42	17.60	1.67
5	18.20	1.61	43	5.80	1.54
6	25.40	1.84	44	15.30	1.62
7	12.10	1.50	45	20.80	1.56
8	23.90	1.77	46	33.70	1.86
9	16.70	1.71	47	50.40	1.84
10	37.60	1.62	48	27.30	1.71
11	22.10	1.92	49	95.40	1.88
12	37.00	1.77	50	23.70	1.69
13	34.30	1.77	51	51.10	1.83
14	37.40	1.94	52	51.20	1.73
15	49.30	1.81	53	23.70	1.83
16	7.10	1.61	54	19.40	1.91
17	10.40	2.04	55	32.30	1.77
18	14.70	1.76	56	36.20	1.81
19	14.00	1.74	57	33.90	1.92
20	22.20	1.81	58	21.40	1.66
21	74.30	1.73	59	6.30	1.96
22	24.40	1.78	60	59.40	1.78
23	21.40	1.72	61	28.10	1.86
24	28.30	1.80	62	30.90	1.78
25	7.80	1.75	63	17.80	1.71
26	7.00	1.62	64	25.80	1.63
27	6.40	1.69	65	30.10	1.83
28	5.10	2.11	66	49.90	1.81
29	13.20	1.82	67	33.90	1.71
30	21.90	1.82	68	68.80	1.83
31	11.10	1.45	69	145.50	1.81
32	21.90	1.80	70	43.40	1.77
33	39.00	1.91	71	58.00	1.83
34	24.20	1.85	72	86.10	1.77
35	16.40	1.82	73	73.50	1.77
36	17.00	1.62	74	29.30	1.71
37	18.90	1.74	75	32.80	1.70
38	25.00	1.62	76	27.40	1.71

Continuación...

Muestra	Concentración ng/ μ l	Pureza	Muestra	Concentración ng/ μ l	Pureza
77	52.00	1.76	115	233.60	1.79
78	101.90	1.72	116	94.70	1.86
79	37.10	1.75	117	102.00	1.83
80	74.80	1.76	118	30.70	1.75
81	18.70	1.67	119	139.40	1.82
82	28.70	1.62	120	252.40	1.78
83	21.30	1.68	121	34.30	1.81
84	20.40	1.60	122	28.80	1.60
85	19.60	1.68	123	313.10	1.83
86	27.70	1.84	124	23.80	1.75
87	20.70	1.75	125	29.30	1.73
88	21.70	1.91	126	59.10	1.73
89	10.90	1.80	127	136.80	1.88
90	18.60	1.74	128	41.10	1.71
91	90.50	1.79	129	132.70	1.82
92	43.00	1.78	130	95.40	1.82
93	330.10	1.81	131	104.50	1.76
94	73.80	1.79	132	97.70	1.86
95	106.40	1.80	133	44.10	1.71
96	129.10	1.80	134	147.00	1.78
97	192.70	1.81	135	16.80	1.54
98	48.50	1.90	136	64.20	1.88
99	101.80	1.82	137	55.80	1.88
100	39.10	1.86	138	195.70	1.54
101	30.30	1.62	139	29.90	1.85
102	81.20	1.85	140	55.40	1.76
103	120.00	1.89	141	50.40	1.89
104	117.10	1.78	142	116.80	1.85
105	27.30	1.80	143	81.30	1.90
106	129.70	1.87	144	53.60	1.82
107	75.40	1.85	145	76.70	1.85
108	164.90	1.83	146	31.50	1.71
109	137.60	1.91	147	65.10	1.81
110	74.20	1.92	148	88.60	1.81
111	542.30	1.79	149	21.00	1.69
112	32.50	1.77	150	51.90	1.79
113	60.20	1.73	151	41.70	1.88
114	47.90	1.92	152	44.90	1.81

Continuación...

Muestra	Concentración ng/ μ l	Pureza	Muestra	Concentración ng/ μ l	Pureza
153	34.50	1.82	191	19.90	1.73
154	20.80	1.76	192	56.20	1.95
155	73.30	1.88	193	31.00	1.89
156	71.20	1.90	194	67.70	1.86
157	72.90	1.58	195	28.40	1.83
158	156.50	1.85	196	117.00	1.90
159	76.80	1.81	197	117.20	1.83
160	45.20	1.87	198	39.70	1.91
161	89.60	1.85	199	95.70	1.90
162	60.30	1.85	200	71.60	1.82
163	97.10	1.84	201	74.80	1.92
164	134.30	1.84	202	122.60	1.91
165	37.10	2.03	203	120.90	1.82
166	85.50	1.84	204	71.90	1.81
167	86.70	1.85	205	31.50	1.79
168	85.00	1.87	206	134.60	1.77
169	36.70	176.00	207	57.80	1.81
170	85.90	1.83	208	91.60	1.81
171	59.80	1.83	209	163.30	1.82
172	66.80	1.85	210	73.20	1.90
173	18.60	1.86	211	95.90	1.79
174	96.40	1.82	212	51.60	1.80
175	27.70	1.78	213	59.20	1.77
176	113.70	1.82	214	81.00	1.76
177	37.30	1.74	215	81.40	1.83
178	27.60	1.89	216	28.60	1.76
179	65.30	1.88	217	159.50	1.86
180	39.80	1.93	218	77.70	1.83
181	65.60	1.90	219	59.70	1.84
182	40.70	1.85	220	27.70	1.85
183	35.60	1.92	221	46.80	1.90
184	81.60	1.86	222	47.00	1.51
185	54.60	1.83	223	197.40	1.84
186	37.80	1.89	224	86.10	1.84
187	162.80	1.63	225	88.30	1.82
188	95.80	1.81	226	90.20	1.80
189	73.00	1.78	227	195.90	1.87
190	30.90	1.86	228	58.10	1.75

Continuación...

Muestra	Concentración ng/ μ l	Pureza	Muestra	Concentración ng/ μ l	Pureza
229	80.20	1.87	267	74.10	1.83
230	76.20	1.84	268	144.40	1.83
231	110.50	1.76	269	96.10	1.85
232	32.30	1.94	270	69.90	1.57
233	67.50	1.84	271	79.80	1.82
234	82.20	1.86	272	146.40	1.72
235	478.70	1.81	273	112.90	1.76
236	35.60	1.80	274	84.00	1.92
237	159.70	1.87	275	230.60	1.87
238	50.00	1.84	276	77.10	1.86
239	26.00	1.73	277	200.60	1.76
240	49.70	1.83	278	91.20	1.83
241	95.20	1.88	279	87.70	1.88
242	90.80	1.80	280	33.10	1.97
243	64.90	1.88	281	248.50	1.87
244	99.20	1.84	282	277.90	1.87
245	59.30	1.81	283	103.30	1.92
246	57.00	1.84	284	102.90	1.92
247	168.80	1.82	285	128.10	1.90
248	79.60	1.85	286	278.10	1.87
249	24.60	1.75	287	146.90	1.89
250	350.30	1.79	288	258.00	1.81
251	130.70	1.83	289	382.10	1.91
252	90.90	1.83	290	185.10	1.85
253	91.90	1.78	291	65.90	1.55
254	210.10	1.79	292	73.20	1.88
255	79.70	1.78	293	12.50	1.74
256	16.20	1.59	294	183.70	1.83
257	321.00	1.76	295	407.00	1.85
258	84.20	1.79	296	331.40	1.85
259	136.90	1.81	297	72.00	1.84
260	120.10	1.85	298	228.80	1.74
261	332.50	1.78	299	239.00	1.85
262	229.10	1.75	300	101.40	1.86
263	43.40	1.73	301	77.60	1.88
264	117.60	1.84	302	122.20	1.86
265	77.40	1.86	303	92.10	1.85
266	73.10	1.78	304	339.10	1.85

Continuación...

Muestra	Concentración ng/ μ l	Pureza	Muestra	Concentración ng/ μ l	Pureza
305	119.20	1.87	343	101.50	1.86
306	369.50	1.84	344	247.50	1.85
307	142.90	1.89	345	52.40	1.85
308	117.40	1.77	346	72.50	1.89
309	107.30	1.77	347	135.30	1.88
310	67.70	1.80	348	65.70	1.91
311	119.60	1.81	349	236.70	1.81
312	57.80	1.84	350	26.60	1.86
313	48.60	1.75	351	113.90	1.82
314	54.50	1.88	352	76.10	1.84
315	50.00	1.80	353	54.10	1.89
316	104.80	1.75	354	85.80	1.83
317	55.40	1.79	355	181.30	1.85
318	69.90	1.80	356	24.50	1.95
319	38.50	1.80	357	270.40	1.73
320	26.10	1.85	358	123.10	1.84
321	33.60	1.82	359	131.00	1.83
322	186.80	1.81	360	109.50	1.83
323	254.20	1.77	361	69.10	1.84
324	67.70	1.86	362	116.20	1.85
325	101.00	1.85	363	66.90	1.85
326	33.80	1.86	364	65.50	1.89
327	38.50	1.86	365	78.10	1.86
328	31.70	1.84	366	61.50	1.88
329	107.20	1.83	367	57.00	1.89
330	110.30	1.82	368	84.00	1.87
331	91.80	1.82	369	32.90	1.89
332	102.10	1.83	370	26.60	1.88
333	51.10	1.79	371	29.60	1.90
334	56.70	1.74	372	51.50	1.79
335	71.60	1.75	373	155.00	1.79
336	80.10	1.79	374	17.20	1.74
337	152.40	1.84	375	143.10	1.81
338	73.40	1.83	376	73.20	1.89
339	232.80	1.85	377	32.30	1.88
340	116.10	1.80	378	54.00	1.94
341	71.80	1.76	379	87.40	1.89
342	200.60	1.83	380	39.40	1.85

Continuación...

Muestra	Concentración ng/ μ l	Pureza	Muestra	Concentración ng/ μ l	Pureza
381	97.70	1.81	419	174.30	1.81
382	51.50	1.81	420	79.00	1.74
383	48.70	1.95	421	186.20	1.80
384	316.20	1.95	422	270.80	1.84
385	37.10	1.91	423	139.90	1.75
386	16.90	1.91	424	160.10	1.75
387	52.10	1.84	425	71.20	1.85
388	33.40	1.96	426	768.40	1.62
389	55.40	1.92	427	177.00	1.79
390	89.10	1.84	428	72.10	1.82
391	38.40	1.76	429	70.90	1.79
392	21.70	1.95	430	52.30	1.81
393	26.10	1.81	431	68.10	1.80
394	26.80	1.92	432	133.30	1.87
395	61.00	1.84	433	112.50	1.88
396	62.00	1.76	434	280.60	1.84
397	26.30	1.75	435	126.10	1.89
398	61.10	1.83	436	51.30	1.81
399	52.10	1.84	437	52.40	1.86
400	110.50	1.76	438	328.80	1.70
401	157.80	1.79	439	496.40	1.86
402	152.30	1.82	440	218.70	1.62
403	100.20	1.78	441	295.30	1.88
404	76.80	1.81	442	197.40	1.87
405	79.60	1.85	443	166.40	1.87
406	276.80	1.76	444	106.40	1.86
407	267.40	1.78	445	81.70	1.87
408	74.80	1.80	446	81.80	1.85
409	68.50	1.83	447	86.80	1.77
410	73.90	1.84	448	296.20	1.80
411	61.00	1.79	449	50.90	1.81
412	85.50	1.83	450	105.10	1.83
413	57.20	1.80	451	62.20	1.85
414	83.40	1.76	452	162.30	1.83
415	126.10	1.92	453	314.80	1.88
416	71.10	1.85	454	241.50	1.85
417	44.40	1.75	455	104.40	1.87
418	99.40	1.82	456	131.20	1.84

Continuación...

Muestra	Concentración ng/ μ l	Pureza	Muestra	Concentración ng/ μ l	Pureza
457	232.20	1.81	495	189.20	1.75
458	45.40	1.76	496	151.00	1.70
459	58.60	1.68	497	45.30	1.76
460	107.00	1.84	498	130.20	1.60
461	70.60	1.82	499	137.10	1.89
462	182.30	1.53	500	278.60	1.75
463	146.30	1.73	501	45.10	1.91
464	171.90	1.83	502	94.40	1.85
465	85.20	1.85	503	320.60	1.80
466	179.60	1.83	504	394.00	1.81
467	52.60	1.74	505	282.10	1.74
468	209.80	1.82	506	107.90	1.88
469	52.30	1.81	507	251.20	1.81
470	241.30	1.67	508	239.90	1.89
471	174.20	1.46	509	172.30	1.39
472	86.40	1.83	510	214.10	1.96
473	56.20	1.90	511	197.90	1.81
474	76.10	1.84	512	36.20	1.64
475	62.40	1.91	513	52.90	1.72
476	96.60	1.85	514	67.10	1.83
477	24.30	1.80	515	23.10	1.68
478	74.20	1.80	516	20.60	1.97
479	232.80	1.77	517	19.20	1.71
480	27.20	1.68	518	225.60	1.81
481	48.20	1.76	519	106.00	1.82
482	61.20	1.77	520	223.30	1.77
483	17.80	1.58	521	197.30	1.85
484	212.20	1.87	522	136.90	1.78
485	133.80	1.84	523	99.80	1.71
486	166.10	1.80	524	99.40	1.54
487	214.20	1.79	525	174.40	1.66
488	192.30	1.67	526	187.60	1.75
489	95.80	1.80	527	57.40	1.82
490	109.20	1.83	528	137.10	1.77
491	306.90	1.77	529	348.70	1.80
492	96.10	1.79	530	89.30	1.71
493	44.00	1.64	531	140.50	1.74
494	41.40	1.78	532	29.50	1.84

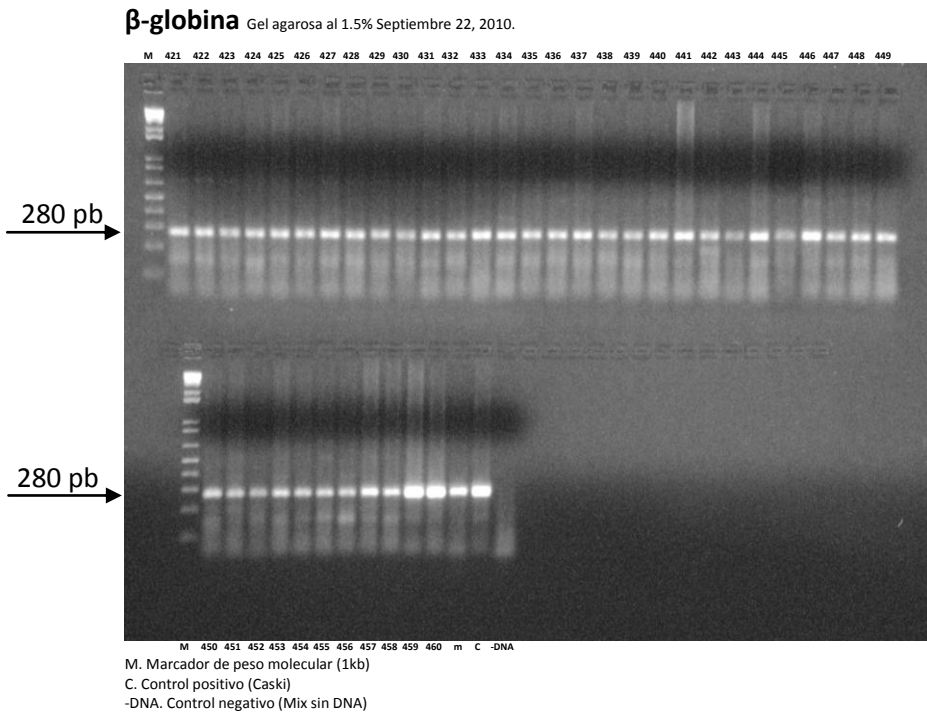
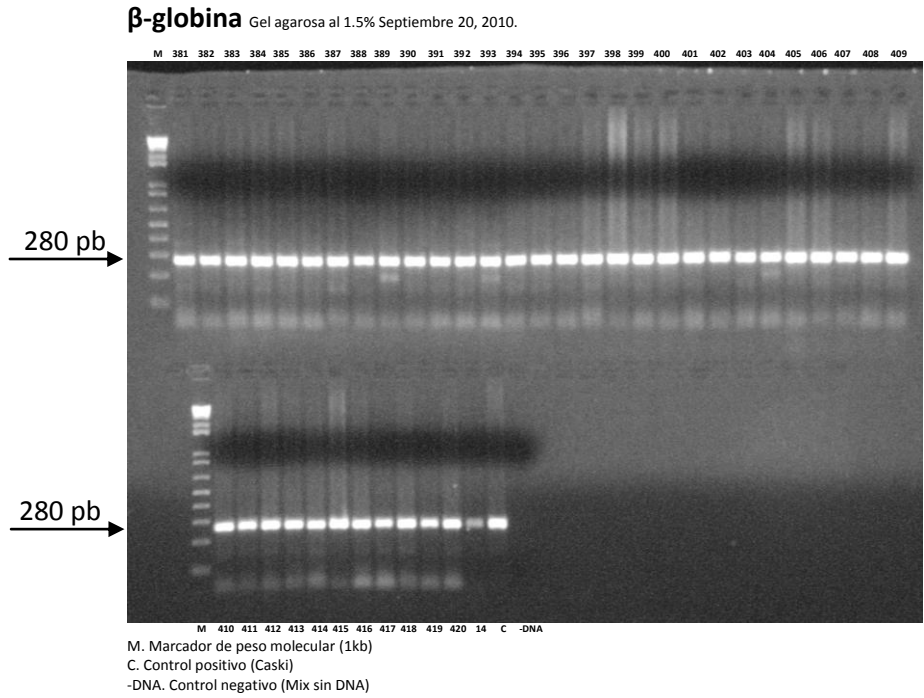
Continuación...

Muestra	Concentración ng/μl	Pureza	Muestra	Concentración ng/μl	Pureza
533	45.80	1.83	571	54.70	1.75
534	380.50	1.75	572	68.30	1.80
535	51.90	1.79	573	71.80	1.84
536	387.30	1.79	574	135.40	1.80
537	546.80	1.72	575	72.20	1.72
538	129.80	1.88	576	116.10	1.70
539	174.80	1.87	577	38.40	1.79
540	176.30	1.66	578	66.20	1.61
541	295.30	1.82	579	98.00	1.71
542	116.00	2.14	580	138.30	1.75
543	79.20	1.78	581	148.10	1.83
544	101.90	1.76	582	48.10	1.78
545	68.50	1.59	583	52.60	1.79
546	81.00	1.84	584	96.90	1.79
547	51.30	1.83	585	116.20	1.86
548	327.50	1.76	586	188.20	1.72
549	172.60	1.86	587	110.70	1.88
550	124.00	1.85	588	70.70	1.43
551	50.50	1.69	589	163.60	1.78
552	226.00	1.85	590	76.60	1.88
553	28.00	1.88	591	152.60	1.83
554	193.90	1.84	592	76.80	1.94
555	82.40	1.72	593	248.60	1.78
556	32.80	1.79	594	286.90	1.87
557	96.00	1.80	595	64.80	1.81
558	89.60	1.87	596	238.40	1.86
559	36.30	1.73	597	116.30	1.87
560	98.10	1.75	598	186.30	1.87
561	103.80	1.87	599	299.00	1.78
562	169.60	1.85	600	159.60	1.88
563	45.00	1.86	601	457.30	1.84
564	81.90	1.78	602	424.20	1.77
565	258.60	1.79	603	46.50	1.78
566	21.20	2.17	604	171.80	1.84
567	43.20	1.72	605	106.50	1.84
568	124.00	1.82	606	140.00	1.85
569	111.90	1.80	607	175.30	1.82
570	75.30	1.80	608	83.00	1.79

Continuación...

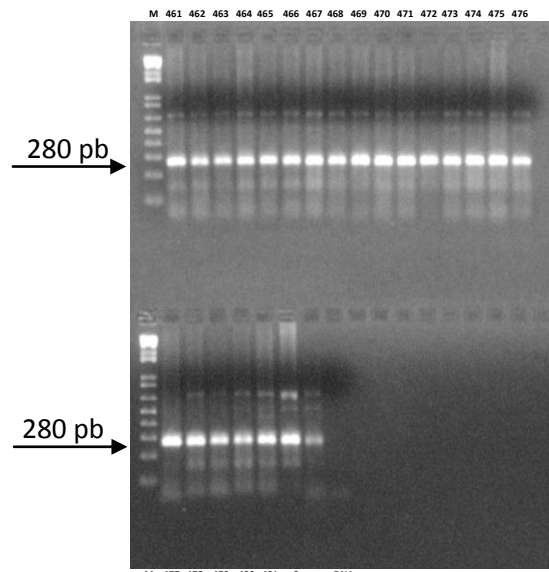
Muestra	Concentración ng/μl	Pureza
609	101.80	1.88
610	321.10	1.61
611	71.50	1.86
612	142.20	1.82
613	218.70	1.85
614	110.20	1.76
615	192.40	1.75
616	71.80	1.74
617	30.00	1.74
618	52.00	1.76
619	101.90	1.72

Anexo 7. Verificación de la presencia de producto de amplificación de DNA genómico mediante β -globina (280 pb) por electroforesis en gel de agarosa al 1.5%.^h



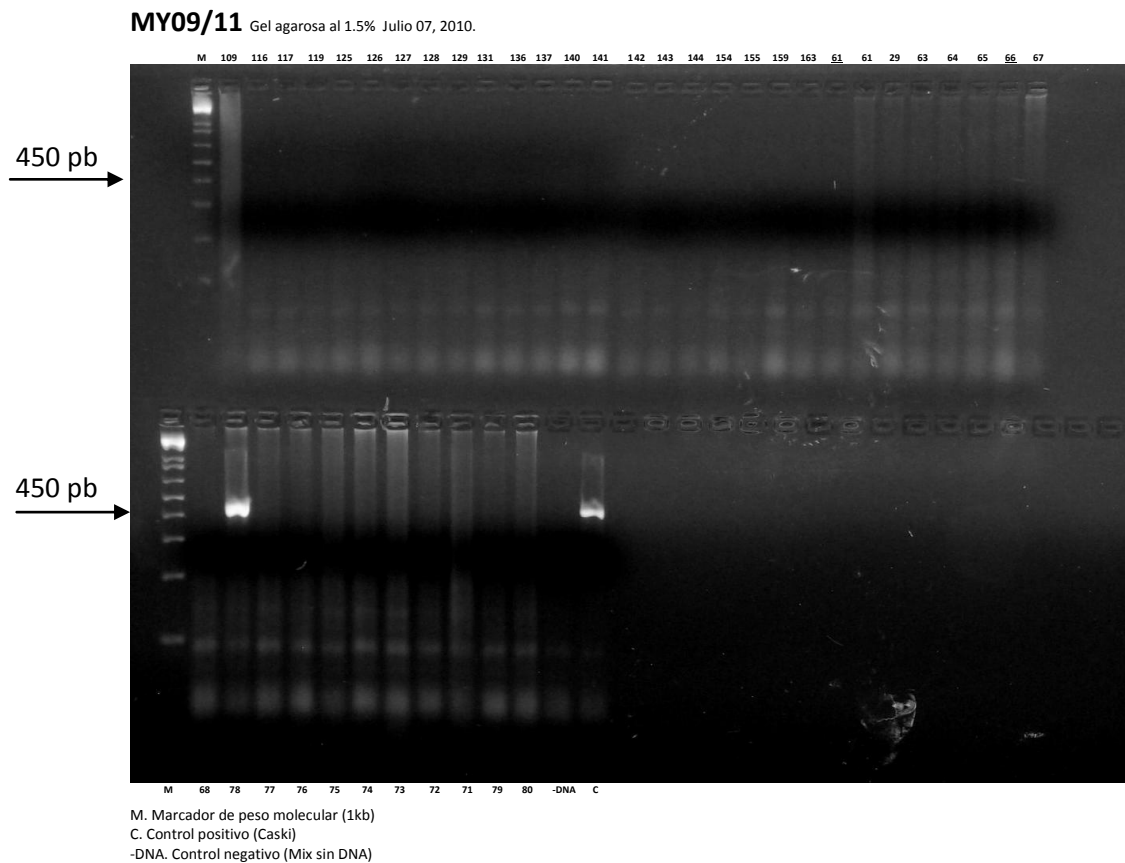
^h Las fotografías que se presentan fueron seleccionadas aleatoriamente y corresponden a las muestras #381 hasta la #481.

β -globina 461-481 Gel agarosa al 1.5%
Septiembre 22, 2010.



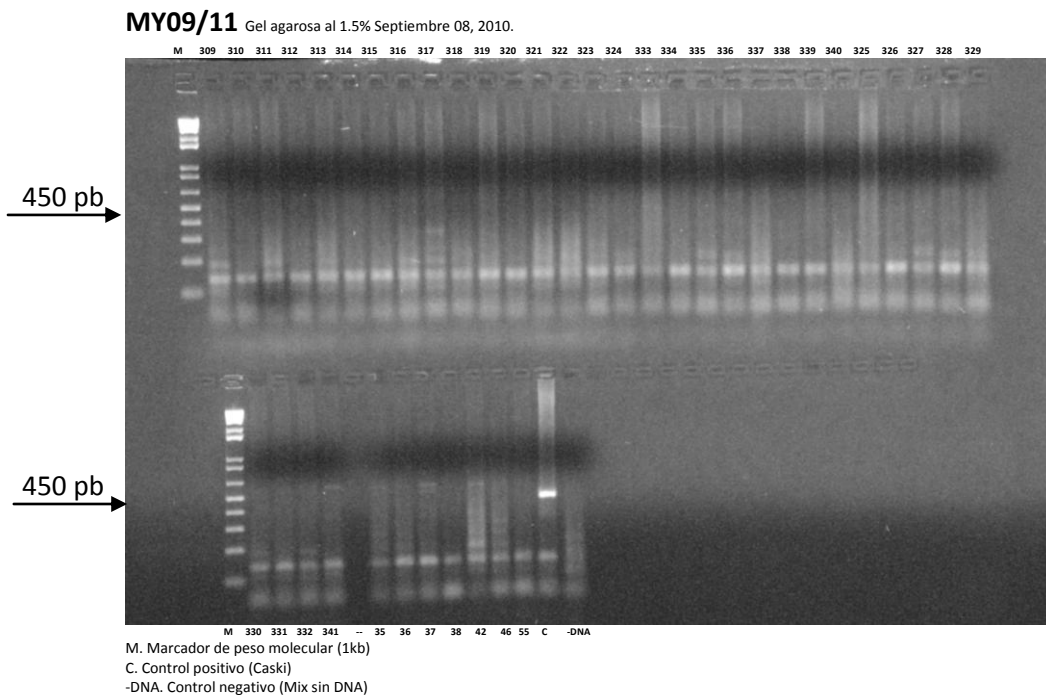
M. 477 478 479 480 481 C - -DNA
M. Marcador de peso molecular (1kb)
C. Control positivo (Caski)
-DNA. Control negativo (Mix sin DNA)

Anexo 8. Verificación de la presencia de producto de amplificación de DNA genómico mediante MY09/11 (450 pb) por electroforesis en gel de agarosa al 1.5%.ⁱ



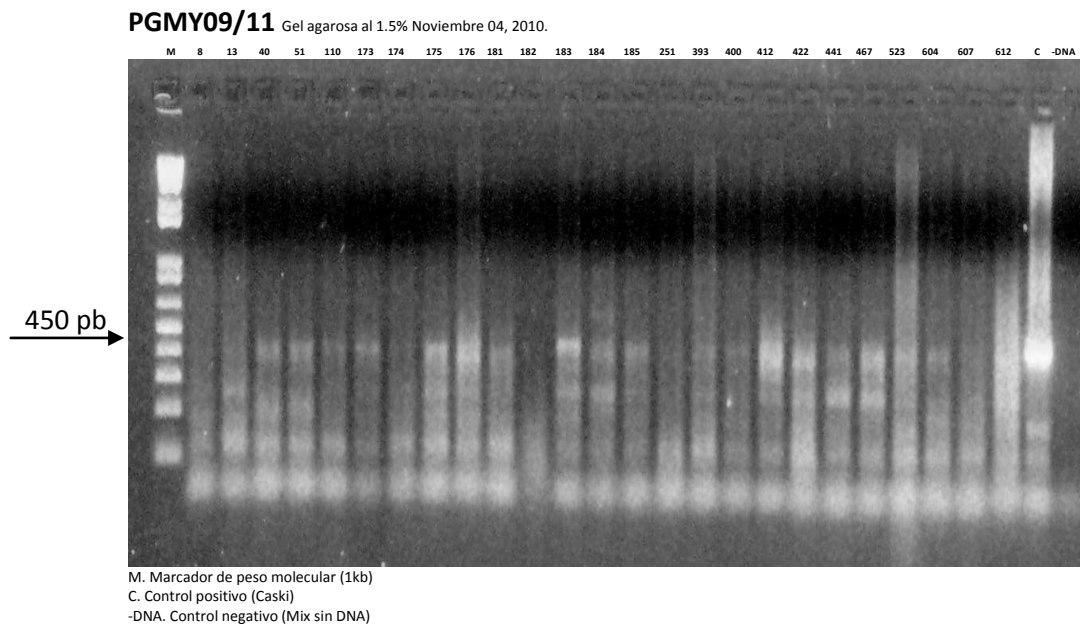
ⁱ La fotografía presenta a la muestra #78 que resultó positiva a VPH tipo 13.

Anexo 9. Verificación de la presencia de producto de amplificación de DNA genómico mediante MY09/11 (450 pb) por electroforesis en gel de agarosa al 1.5%.^j



^j La fotografía presenta a la muestra #317, #341, #35, #36, #37 y #42 que resultaron positivas a VPH. No fue posible tipificar estas muestras.

Anexo 10. Verificación de la presencia de producto de amplificación de DNA genómico mediante PGMY09/11 (450 pb) por electroforesis en gel de agarosa al 1.5%.^k



^k La fotografía presenta las muestras que resultaron positivas a VPH por amplificación de PGMY09/11 (#40, #51, #173, #175, #176, #183, #185, #393, #412, #422, #467, #523 y #612). No fue posible tipificar estas muestras.

Anexo 11. Carta de aprobación de proyecto por la Comisión de Bioética.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS
APARTADO POSTAL 70228
CIUDAD UNIVERSITARIA
04510 MEXICO, D. F.

DR. ALEJANDRO GARCÍA CARRANCÁ
Investigador Titular
Departamento de Inmunología
Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM

Estimado Dr. García Carrancá:

La Comisión de Bioética de Investigaciones con Seres Humanos del Instituto de Investigaciones Biomédicas revisó el proyecto de investigación "Exposición de jóvenes universitarios a tipos oncogénicos de Virus de Papiloma y al tabaquismo como factores de riesgo para cáncer bucal". De acuerdo con nuestro Código Ético y el Reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud, este proyecto se clasifica dentro de la categoría II y por lo tanto no requiere de una revisión exhaustiva ya que no hay sujetos humanos involucrados directamente sino que se trabajará con muestras biológicas. Por lo anterior esta Comisión emite un dictamen aprobatorio, recomendando guardar la confidencialidad respecto a la identidad de los participantes.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria a 7 de diciembre de 2010.
POR LA COMISIÓN


DR. RAÚL MANCILLA JIMÉNEZ

C.c.p. Archivo

JJE/RMJ/nlbb



Anexo 12. Hoja informativa sobre la infección bucal por VPH.



HOJA INFORMATIVA Infección bucal por Virus Papiloma Humano



Facultad de Medicina
Programa de Maestría en Ciencias de la Salud
Campo de estudios principal en Epidemiología

¿Qué es la infección bucal por VPH?



Se denomina infección bucal por Virus Papiloma Humano cuando uno de los tipos de VPH se identifica en la cavidad bucal.

Clasificación

Existen más de 100 tipos de VPH. Se clasifican en 3 grupos.

Alto riesgo: (Oncogénicos)

Producen cambios en las células pueden convertirse en cáncer si no son tratados y persisten durante varios años. Ej. 16,18.

Bajo riesgo: (No oncogénicos)

Pueden causar cambios ligeros en la mucosa bucal. son inofensivos y temporales por lo tanto no resultan en cáncer. Ej. 6,11.

Probable riesgo: Ej. 53, 66

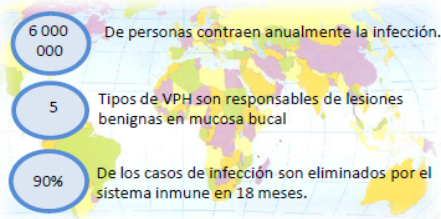


Infección por VPH

Producida por virus oncogénico: Está asociada a lesiones neoplásicas intraepiteliales.

Producida por virus no oncogénico: Está asociada a verrugas que aparecen como lesiones elevadas en forma de coliflor.

VPH en el mundo



Factores relacionados

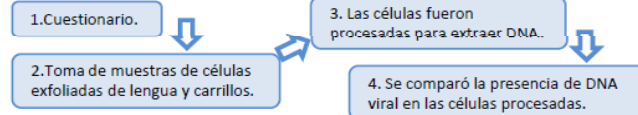
Aunque el mecanismo de transmisión de la infección bucal por VPH se desconoce, se ha reportado una posible asociación entre la infección bucal y la conducta sexual, el consumo de tabaco y alcohol.

Diagnóstico

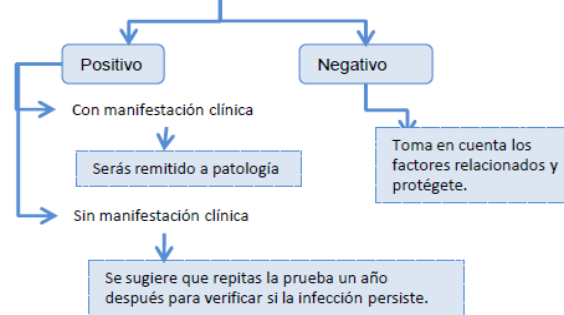
En la actualidad el diagnóstico definitivo de la infección por VPH se realiza mediante PCR (reacción en cadena de la polimerasa). Debido a su alta sensibilidad y especificidad, la PCR es considerada el estándar para el diagnóstico definitivo del virus. La PCR es una prueba en la que se determina presencia de la secuencia genética del virus en las muestras.

Proyecto de investigación y tu participación

Proyecto PAPIIT IN218709-3: "Exposición de jóvenes universitarios a tipos oncogénicos de virus papiloma humano y al tabaquismo como factores de riesgo para el cáncer bucal".



Si en la prueba genética de VPH tuviste un resultado



Consideraciones sobre VPH +

- Tener una prueba con resultado positivo no quiere decir que tendrás cáncer.
- La presencia de VPH en boca está asociada a cáncer bucal pero no es causa necesaria ni suficiente.
- La mayoría de las infecciones por VPH son eliminadas por el sistema inmune por lo cual son transitorias.
- Sé honesto con tu pareja ya que el/ella, puede estar en riesgo de adquirir la infección.

Sobre la vacuna

- La vacuna contra el VPH es más efectiva para ambos sexos cuando se administra antes de la exposición al VPH por contacto sexual.
- En 2006, la FDA aprobó la vacuna tetravalente (contra los tipos 6, 11, 16 y 18) para la prevención del cáncer cervicouterino, cáncer vaginal y vulvar (en mujeres) y las verrugas genitales (en mujeres y hombres), y una vacuna bivalente para la prevención de los cánceres de cuello uterino en las mujeres.
- Se recomienda administrar la primera dosis a las mujeres a los 11 o 12 años. La segunda dosis 1 a 2 meses después de la primera dosis y la tercera dosis 6 meses después de la primera dosis.
- La vacuna tetravalente puede administrarse en una serie de 3 dosis a los varones de 9 a 18 años para reducir su probabilidad de contraer verrugas genitales.

Mayor información

- Instituto Nacional de Cancerología (INCan) <http://www.incan.edu.mx>
- International Papillomavirus Society www.ipvsoc.org
- International Academy of Oral Oncology (IAOO) <http://www.iaoo.info/>
- Centers for Disease Control and Prevention, Division of Oral Health (CDC) <http://www.cdc.gov/oralhealth/topics/cancer.htm>
- Oral Cancer Foundation <http://www.oralcancerfoundation.org/>

Contacto

- Dr. Enrique Acosta Gío
Jefe de laboratorio de Microbiología
DEPeI Facultad de Odontología
Tel. 56 22 55 64
Mail: acostag@servidor.unam.mx
- C.D. Damaris Sosa de Antuñano
Programa de Maestría en Epidemiología
Mail: damaris_sda@hotmail.com