

# CITOLOGIA DE BASE-LÍQUIDA PELO SISTEMA DNA-CITOLIQ® (DCS) – EFICÁCIA NA IDENTIFICAÇÃO DA MICROBIOTA VAGINAL

## LIQUID-BASED CYTOLOGY BY DNA-CITOLIQ SYSTEM (DCS) – EFFICACY IN IDENTIFICATION OF VAGINAL MICROBIOTA

Venâncio AF Alves<sup>1</sup>, Aauto Castelo Filho<sup>2</sup>, Gislene Namiyama<sup>3</sup>, Adhemar Longatto Filho<sup>4</sup>, Maria Regina Vianna<sup>5</sup>, Eliane Taromaru<sup>6</sup>, Gerson Botacini das Dôres<sup>6</sup>

### RESUMO

**Introdução:** o sistema DNA-Citoliq® (DCS) (Digene, Brasil) é um novo sistema de citologia em base líquida que utiliza o UCM (*Universal Collection Medium*) como meio de preservação celular com utilidade tanto para a citologia oncológica quanto para a detecção molecular de DNA de HPV, *Neisseria gonorrhoea* e *Chlamydia trachomatis*. Estudos recentes têm mostrado sua elevada sensibilidade no diagnóstico de lesões epiteliais. **Objetivo:** comparar o diagnóstico morfológico microbiológico obtido entre o material preparado com o DCS e o de esfregaços convencionais. **Métodos:** coletaram-se amostras de 3.129 mulheres. Depois da passagem de espátula de Ayre e escova endocervical, realizaram-se os esfregaços clássicos, sendo as lâminas fixadas em solução alcoólica. A escova contendo material residual de células da endocérvice foi usada para coletar a amostra da ectocérvice e acondicionada em tubo com UCM. O processamento da lâmina DCS foi feito de acordo com o protocolo padrão. Todas as lâminas foram coradas pela técnica de Papanicolaou. **Resultados:** os métodos permitiram resultados semelhantes para lactobacilos (p=0,32), cocos (p=0,98), *Actinomyces sp.* (p=1,0), *Leptotrix vaginalis* (p=0,37), *Chlamydia trachomatis* (p=0,45) e *Candida sp.* (p=0,75). A detecção de *Gardnerella vaginalis* foi significativamente maior nos preparados DCS (p=0,0001), enquanto *Trichomonas vaginalis* foi observada mais frequentemente nos esfregaços convencionais (p=0,001). **Conclusão:** conclui-se que a colheita de amostras pelo sistema DCS foi capaz de identificar agentes microbiológicos com eficácia similar à obtida com os esfregaços convencionais.

**Palavras-chave:** citologia, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Candida sp*

### ABSTRACT

**Introduction:** DNA-Citoliq System® (DCS) (Digene, Brasil) is a new liquid based cytology system for cervical material intended both for oncologic cytology and molecular tests for HPV, *Neisseria gonorrhoea*, and *Chlamydia trachomatis*. Recent studies have shown its high sensitivity for identifying epithelial lesions. **Objective:** compare the efficacy between specimens prepared with DCS and conventional Pap for morphological infectious agent's diagnosis. **Methods:** samples were collected from 3,129 women. After cervical scraping with Ayre spatula and endocervical brushing, the sample was immediately smeared on the slides and alcohol-fixed. The same brush with residual endocervical cells was again used to scrape the ectocervical surface and placed in a tube with Universal Collection Medium (UCM) and processed at the laboratory according to DCS protocol. All slides were stained by the conventional Papanicolaou method. **Results:** both methods yielded equal results for lactobacilli (p=0.32), cocci (p=0.98), *Actinomyces sp* (p=1.0), *Leptotrix vaginalis* (p=0.37), *Chlamydia trachomatis* (p=0.45) and *Candida sp* (p=0.75). *Gardnerella vaginalis* (p=0.0001) was seen significantly more on DCS slides, whereas *Trichomonas vaginalis* was more frequently seen on the conventional slides (p=0.001). **Conclusion:** besides yielding high sensitivity for detecting squamous lesions and proving to be suitable for molecular tests as reported in other studies, DNA-Citoliq performed as well as conventional smear in the identification of microbiological agents.

**Keywords:** cytology, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Candida sp*

ISSN: 0103-0465

DST – J bras Doenças Sex Transm 16(4):27-31, 2004

## INTRODUÇÃO

O advento da citologia em base líquida promoveu impacto importante na rotina do exame periódico de Papanicolaou, pois, com uma única coleta, pode-se avaliar a existência de lesões epiteliais escamosas ou glandulares, além de permitir o uso de outros recursos diagnósticos moleculares por técnicas como a captura híbrida e o PCR<sup>1,2</sup>.

As infecções vaginais constituem um dos mais frequentes problemas do ambulatório de ginecologia e, portanto, reconhecer os agentes envolvidos é de grande interesse na seleção da conduta adequada. Dentre os processos mais frequentes que acometem a

<sup>1</sup>Professor Associado de Patologia, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo e Patologista do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brasil

<sup>2</sup>Professor Adjunto de Doenças Infecciosas da Escola de Medicina da Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, Brasil

<sup>3</sup>Pesquisadores Científicos do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brasil.

<sup>4</sup>Postdoctoral fellowship Universidade do Minho, Escola de Ciências da Saúde, Braga, Portugal.

<sup>5</sup>Diretora, CICAP, Laboratório de Patologia Cirúrgica, Hospital Alemão Oswaldo Cruz, São Paulo, Brasil

<sup>6</sup>Diretor Científico e a senhora Taromaru é Responsável Técnica da Digene Brasil, São Paulo, Brasil

**Grupo de Estudo DNA-Citoliq São Paulo, Brasil.** Para serem creditados como **co-autores:** Sueli Maeda; Mauricio SB Leite; Elias F Miziara; Alvaro P Pinto; Antonio LMA.Horta; José L Portugal; Carlos A Ribeiro; Ruy Luzzatto.

**Fonte Financiadora:** este estudo teve parte de seu financiamento realizado pela Digene do Brasil Ltda.

população geral citam-se as infecções por *Trichomonas vaginalis*, *Candida sp.* e *Gardnerella vaginalis*<sup>3</sup>.

Muito embora o teste de Papanicolaou tenha sido preconizado, fundamentalmente, para o reconhecimento das alterações epiteliais de natureza neoplásica ou pré-neoplásica do colo uterino, por meio dele, apesar de não ser o ideal, pode-se sugerir, com alta correlação aos testes considerados como padrão ouro, a presença de certos agentes infecciosos<sup>3,4</sup>. Dessa forma, a identificação morfológica ou a suspeição diagnóstica de determinados vírus e bactérias são informes adicionais do exame citopatológico como tem sido relatado na vaginose bacteriana<sup>5</sup>, situação em que a coloração de Papanicolaou apresenta desempenho diagnóstico similar a outros métodos<sup>6</sup>, sobretudo quando as *clue-cells* são consideradas<sup>7,8</sup>.

Por sua vez, as uretrites masculinas também podem ser estudadas em esfregaços corados pelo método de Papanicolaou com 90% de especificidade para a identificação de *Chlamydia trachomatis*<sup>9</sup>.

É muito elevada, variando de 93 a 99% para *Chlamydia trachomatis* e de 81 a 83 % para *Neisseria gonorrhoeae*, a sensibilidade e a especificidade de métodos moleculares realizados com amostras coletadas em fluidos desenvolvidos para a citologia de base líquida<sup>10,11</sup>. Esses dados são muito estimulantes, uma vez que esses métodos poderão ser associados às rotinas clínico-laboratoriais, envolvendo a investigação ginecológica de doenças sexualmente transmissíveis, cuja prevalência tem se mostrado crescente no decorrer dos últimos anos<sup>12</sup>.

O objetivo do presente trabalho foi comparar o desempenho do sistema DNA-Citoliq com o esfregaço convencional na suspeita citológica da presença de certos agentes microbianos que comumente acometem o trato genital feminino inferior.

## MÉTODOS

As amostras foram coletadas em seis laboratórios privados distribuídos pelo Brasil: Ciap (Brasília); Instituto Roberto Alvarenga (Belo Horizonte); Analab (Curitiba); Biocito (Goiania) e Salomão e Zoppi (São Paulo). 3.129 mulheres encaminhadas para exame rotineiro de prevenção do câncer ginecológico tiveram amostras coletadas segundo o seguinte protocolo:

1. raspado do colo com espátula de Ayre e escova endocervical, realização imediata do esfregaço clássico e fixação em solução alcoólica;
2. a escova contendo o material residual de células da endocérvice foi usada para coletar amostra da ectocérvice e, após, acondicionada em tubo contendo um mililitro de solução de

UCM. No laboratório de citopatologia, para a feitura da lâmina citológica, esse material foi processado de acordo com o protocolo padrão do sistema DCS, a saber:

- a. agitar individualmente os tubos em vórtex, em alta velocidade, por 15 segundos, para desprender as células contidas nas cerdas da escova e homogeneizar a solução;
- b. imediatamente antes de pipetar cada amostra, agitar novamente o tubo, em vortex, por mais cinco segundos;
- c. remover a tampa do tubo e pipetar 200 µl da amostra;
- d. distribuir uniformemente a amostra sobre toda a superfície da membrana de policarbonato;
- e. após completar as 12 amostras, fechar a tampa do Prepgene® com as travas laterais. Manter nessa posição por 10 segundos a fim de filtrar o espécime e promover a transferência das células para as lâminas;
- f. fixar as lâminas contendo o *imprint* celular com fixador em *spray* ou imergir todo o Lamigene® em cuba com álcool absoluto;
- g. retirar as lâminas e corar pelo método habitual de Papanicolaou.

O reconhecimento morfológico da microflora obedeceu aos seguintes critérios<sup>13</sup>:

- 1- *Trichomonas vaginalis*: protozoário flagelado com cerca de 15 a 20 micra, forma ovalada, coloração cinza ou rosada, com núcleo pequeno excêntrico, ovalado e hipercrômico, com grânulos eosinófilos citoplasmáticos.
- 2- *Actinomyces sp.*: bactérias de aspecto filamentosas, que aparecem como grupos amorfos mais escuros centralmente e com projeções periféricas lembrando “ouriço do mar”.
- 3- *Gardnerella vaginalis*: reconhecidos pela identificação de *clue-cells* (células pistas), células cariopictóticas com citoplasma recoberto por diminutos cocobacilos.
- 4- *Chlamydia trachomatis*: aspecto variável de acordo com o ciclo do microorganismo. Podem-se observar vacúolos compostos de corpúsculos elementares intracitoplasmáticos, desde minúsculos fragmentos, geralmente escuros, até aglomerados maiores com tonalidades azul-avermelhada, acometendo, preferencialmente, células metaplásicas. Podem ocorrer alterações mais discretas, com aspecto de “mordedura de traça” (*moth eaten*), representado por fina microvacuolização pericitoplasmática que, ao exame cuidadoso, evidencia a presença de pequenos microorganismos.
- 5- *Candida sp.*: reconhecimento de hifas e/ou esporos. As hifas ou micélios têm comprimento variável, geralmente segmentado e coloração rosada. Os esporos também aparecem rosados e medem cerca de três a seis micra.

6- *Leptothrix vaginalis*: aparecem como estruturas curvilíneas, mais longas que os bacilos de *Döderlein* e de coloração acinzentada.

Os citopatologistas participantes da pesquisa tiveram dois períodos de treinamento específico com o novo método de preparação citológica. Esses treinamentos objetivaram discutir as minúcias diagnósticas e uniformizar os resultados. Dessa forma, computou-se como resultado de cada lâmina e de cada método de preparação, aquele que foi encaminhado pelo laboratório de origem da paciente.

As freqüências de positividade entre os dois métodos na detecção dos diversos agentes microbiológicos pesquisados foram comparadas através do teste do Qui-quadrado. Foram consideradas significantes, diferenças com erro alfa inferior a 5%.

## RESULTADOS

A **Tabela 1** apresenta os resultados da detecção de cada agente infeccioso conforme o preparado citológico empregado. Como

pode ser visto, daqueles que não são constituintes normais da microflora vaginal, a maior percentagem encontrada, por qualquer um dos métodos, foi de *Trichomonas vaginalis*, *Gardnerella vaginalis* e *Candida sp.* Vale ressaltar que 84,9% das pacientes não apresentavam qualquer suspeita de infecção.

A **Tabela 2** apresenta a análise estatística para os agentes pesquisados. A suspeição diagnóstica foi semelhante nos dois métodos para os agentes lactobacilos ( $p=0,32$ ); cocos ( $p=0,98$ ); *Actinomyces sp* ( $p=1,0$ ); *Leptotrix vaginalis* ( $p=0,37$ ); *Chlamydia trachomatis* ( $p=0,45$ ) e *Candida sp* ( $p=0,75$ ). Por sua vez, a suspeição de infecção por *Gardnerella vaginalis* foi significativamente maior nas amostras preparadas com o sistema DNA-Citoliq ( $p=0,0001$ ), em contrapartida, *Trichomonas vaginalis* foi mais freqüentemente evidenciada nos esfregaços convencionais ( $p=0,001$ ).

## DISCUSSÃO

A importante missão de representar adequadamente a amostra colhida em serviços privados ou públicos de ginecologia é passo

**Tabela 1** - Agentes infecciosos. Correlação entre preparado convencional e DNA-Citoliq.

	DNA-Citoliq								
Convencional	Lactobacilos	Cocos	Actinomyces	Gardnerella	Leptotrix	Candida	Chlamydia	Trichomonas	Total
Lactobacilos	1307	108		26		35	2	60	1538
Cocos	115	949		26	4	8		17	1119
Actinomyces		1	4						5
Gardnerella	8	6		111		1	1	8	135
Leptotrix		1	4						5
Candida	39	3		1		82	1	3	129
Chlamydia	1			1					2
Trichomonas	91	52		11		2	1	39	196
<b>Total</b>	<b>1561</b>	<b>1119</b>	<b>4</b>	<b>176</b>	<b>8</b>	<b>129</b>	<b>5</b>	<b>127</b>	<b>3129</b>

**Tabela 2** - Análise estatística da correlação entre preparado convencional e DNA-Citoliq na identificação de agentes microbiológicos.

Agente	p
Lactobacilos	0,32
Cocos	0,98
Actinomyces	1,00
Leptotrix	0,37
Candida sp.	0,75
Chlamydia	0,45
Trichomonas	0,001*
Gardnerella	0,0001**

(\*) – para lâminas convencionais

(\*\*) – para lâminas DNA-Citoliq

fundamental para a confiabilidade dos resultados obtidos pelo teste de Papanicolaou. O elevado número de amostras insatisfatórias é parâmetro importante de ser constantemente checado nesses serviços, pois dele depende a eficácia do teste. Além disso, o diagnóstico de alterações citopatológicas compatíveis com lesões intra-epiteliais e de agentes freqüentemente associados às infecções pelo HPV, devem nortear a questão da qualidade da citologia<sup>1,4</sup>.

Em nosso meio é alta a prevalência de agentes bacterianos, fúngicos e protozoários no conteúdo vaginal, com oscilações ao longo do tempo, demonstrando que certas infecções, como a *Trichomonas vaginalis*, podem estar apresentando curva descendente, enquanto outras, como a *Candida sp*, apresentam-se ascendentes<sup>3</sup>. A *Gardnerella vaginalis*, por sua vez, tem alta prevalência e pode estar relacionada com as infecções pelo HPV<sup>4</sup>. De fato, em Brasília, Simões-Barbosa *et al.*<sup>12</sup> constataram que de 2000 a 2002, aumentou 2,2 vezes a prevalência de vaginose bacteriana, tricomoníase, candidíase e lesões intra-epiteliais. A despeito de eventuais diferenças regionais, o cuidado na investigação citopatológica é necessidade nacional premente.

Dessa forma, a identificação ou a presença de sinais citopáticos de agentes infecciosos no trato genital feminino inferior é de grande importância para o controle das doenças sexualmente transmitidas. Nesse escopo, o teste de Papanicolaou, embora não tenha sido originalmente proposto para esse fim, acaba por representar instrumento de grande impacto para a saúde pública, uma vez que é largamente empregado para o rastreamento das lesões HPV-induzidas<sup>12</sup>. Por essa razão, como apregoa a Sociedade Brasileira de Citopatologia, se identificados, deve-se referir a presença desses agentes no laudo citopatológico.

É imperativo, portanto, que qualquer novo preparado para ser utilizado como padrão para o rastreamento citológico do câncer cervical, deve, além de ser mais sensível que o convencional no diagnóstico das lesões HPV-induzidas, ser também capaz de identificar os agentes que acometem o trato genital inferior. Foi com essa finalidade que se realizou o presente estudo.

O sistema DNA-Citoliq mostrou desempenho diagnóstico semelhante ao convencional na identificação dos agentes infecciosos mais comuns. Por sua vez, fez exceção à identificação da *Gardnerella vaginalis* e do *Trichomonas vaginalis*.

A retirada do muco, *debris* celulares e aglomerados leucocitários, além da distribuição homogênea das células epiteliais sobre a lâmina, proporcionada pelo sistema DCS, faz com que o aspecto microscópico desse preparado se apresente de forma mais "limpa", permitindo melhor visibilização das *clue-cells* e, conseqüentemente, melhor sensibilidade para o diagnóstico de *Gardnerella vaginalis*<sup>6,7</sup>.

A maior freqüência de *Trichomonas vaginalis* identificada nos esfregaços convencionais pode ser atribuída a maior experiência com esse método por parte da maioria dos observadores, uma vez

que não houve qualquer relato de dificuldade diagnóstica para o reconhecimento do protozoário com o meio líquido.

## CONCLUSÃO

Conclui-se, pelos resultados obtidos, que a citologia em base-líquida, com o sistema DNA-Citoliq, para a suspeita diagnóstica das infecções vulvovaginais mais comumente encontradas, tem desempenho diagnóstico similar ao preparado convencional.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MIELZYNSKA-LOHNAS, I; TANG, Y; ZHUL, J; MCGLYNN, S; HALLENBERG, R; WRIGHT, T; PAYNE, J; LORINCZ, A. Universal Collection Medium (UCM): a versatile medium for cytology, HPV DNA testing, and HPV RNA testing from a single patient specimen. *4<sup>th</sup> International Multidisciplinary Congress Eurogin 2000 Abstract Book*, page 74.
2. FIEL-GAN MD, VILLAMIL CF, MANDAVILLI SR, LUDWIG ME, TSONGALIS GJ. Rapid detection of HSV from cytologic specimens collected into ThinPrep fixative. *Acta Cytol.* Nov-Dec;43(6):1034-8. 1999.
3. ADAD SJ, DE LIMA RV, SAWAN ZT, SILVA ML, DE SOUZA MA, SALDANHA JC, FALCO VA, DA CUNHA AH, MURTA EF. Frequency of *Trichomonas vaginalis*, *Candida sp* and *Gardnerella vaginalis* in cervical-vaginal smears in four different decades. *São Paulo Med J.* Nov 1;119(6):200-5, 2001.
4. MOTTA EV, FONSECA AM, BAGNOLI VR, RAMOS L, PINOTTI JA. Colpocytology in a preventive gynecological ambulatory service. *Rev Assoc Med Bras.* Oct-Dec;47(4):302-10. 2001.
5. FORSUM U, JAKOBSSON T, LARSSON PG, SCHMIDT H, BEVERLY A, BJORNEREM A, CARLSSON B, CSANGO P, DONDERS G, HAY P, ISON C, KEANE F, MCDONALD H, MOI H, PLATZ-CHRISTENSEN JJ, SCHWEBKE J. An international study of the interobserver variation between interpretations of vaginal smear criteria of bacterial vaginosis. *APMIS.* Nov;110(11):811-8. 2002.
6. VARDAR E, MARAL I, INAL M, OZGUDER O, TASLI F, POSTACI H. Comparison of Gram stain and Pap smear procedures in the diagnosis of bacterial vaginosis. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 10(4):203-7. 2002..
7. LIN DP, PAN BJ, FUH JC, HUANG TH. Improving Gram-stained reproducible result by further adding clue cells in diagnosing bacterial vaginosis. *Kaohsiung J Med Sci.* Apr;18(4):164-70. 2002.
8. OKWOLI RN, ADINMA JL, NNAEZE CN. Laboratory diagnosis of *Gardnerella vaginalis* vaginosis *West Afr J Med.* Jul-Sep;21(3):244-7. 2002.
9. MAZUECOS BLANCA J, AZNAR MARTIN J, TORRES OLIVERA FJ, RODRIGUEZ PICHARDO A, PEREA PEREZ EJ, CAMACHO MARTINEZ F. Study of urethritis in males using Papanicolaou smears. *Rev Clin Esp.* Oct;201(10):568-71. 2001.
10. KOUMANS EH, BLACK CM, MARKOWITZ LE, UNGER E, PIERCE A, SAWYER MK, PAPP JR. Comparison of methods for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* using commercially available nucleic acid amplification tests and a liquid pap smear medium. *J Clin Microbiol.* Apr;41(4):1507-11. 2003.
11. TAHA NSA, FOCCHI J, CASTELO A, RODRIGUES DE LIMA G, LORINCZ A, DÔRES GB - *Estudo comparativo entre o Specimen Transport Medium e o Universal Collection Medium para a detecção de Papilomavírus Humano, Chlamydia trachomatis e Neisseria gonorrhoeae pela Captura*

*Híbrida II* - São Paulo, (Tese - Doutorado - Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina). 2003.

12. SIMOES-BARBOSA A, COUTINHO FEIJO G, DA SILVA JX, RAMA LEAL II, WANDERLEY PAES BARBOSA T. Six-year follow-up survey of sexually transmitted diseases in Brasília, the Capital of Brazil. *Braz J Infect Dis*. Jun;6(3):110-8. 2002.
13. SILVA FILHO AM, LONGATTO FILHO, A. Cervicocolpites por agentes biológicos. IN. *Colo uterino & vagina*. Processos inflamatórios. Aspectos histológicos, citológicos e colposcópicos. Revinter: Rio de Janeiro, RJ, , p. 85-165. 2000.

#### Endereço para correspondência:

**DR. VENANCIO AF ALVES**

Instituto Adolfo Lutz – Divisão de Patologia  
Avenida Dr. Arnaldo , 355 – Cerqueira Cezar  
CEP: 01246-902, São Paulo, SP, Brasil  
E-mail: venancio@uol.com.br

Recebido em: 14/10/04

Aprovado em: 18/11/04

### PARECERISTAS QUE ATUARAM EM 2004:

- Adele Benzaken (Fundação Alfredo da Matta - Fiocruz Manaus)
- Alcía Farinati (Universidade Del Salvador, Argentina)
- Ana Brito (Universidade Federal de Pernambuco)
- Angélica Espinosa Miranda (Universidade Federal do Espírito Santo)
- Cláudio Figueiredo de Araújo Pereira (Sociedade Brasileira de Patologia Clínica)
- Edilbert Pellegrini Nhan Junior (Faculdade de Medicina de Campos)
- Eliana Amaral (Universidade de Campinas)
- Enrique Galbán (Universidade de Havana, Cuba)
- Fábio Moherdau (Programa Nacional de DST/Aids, Ministério da Saúde)
- Geraldo Duarte (Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP)
- Gesmar Volga H. Herdy (Universidade Federal Fluminense)
- Gutemberg Leão de Almeida Filho (Universidade Federal do Rio de Janeiro)
- Iara Moreno Linhares (Universidade de São Paulo)
- Isabel Chulvis do Val (Sociedade Brasileira de Patologia do Trato Genital Inferior e Colposcopia)
- Ivo Castelo Branco Coêlho (Universidade Federal do Ceará)
- José Antônio Simões (Universidade de Campinas)
- Ledy do Horto dos Santos Oliveira (Universidade Federal Fluminense)
- Luiz Carlos Moreira (Universidade Federal Fluminense)
- Maria Luiza Bezerra Menezes (Universidade de Pernambuco)
- Mariângela Silveira (Universidade Federal de Pelotas)
- Mauro Cunha Ramos (Secretaria Municipal de Saúde de Porto Alegre)
- Mauro Romero Leal Passos (Universidade Federal Fluminense)
- Nero Araújo Barreto (Universidade Federal Fluminense)
- Newton Sérgio de Carvalho (Universidade Federal do Paraná)
- Paulo Canella (Universidade Gama Filho)
- Paulo César Giraldo (Universidade de Campinas)
- Philippe Godefroy (Universidade Federal Fluminense)
- Renata de Queiroz Varella (Universidade Federal Fluminense)
- Renato de Souza Bravo (Universidade Federal Fluminense)
- René Garrido Neves (Universidade Federal do Rio de Janeiro)
- Roberto de Souza Salles (Universidade Federal Fluminense)
- Rosane Ribeiro Figueiredo Alves (Universidade Federal de Goiás)
- Rubem de Avelar Goulart Filho (Universidade Federal Fluminense)
- Sérgio Cimerman (Revista Pan Americana de Infectologia)
- Sérgio Mancini Nicolau (Universidade Federal de São Paulo)
- Sílvia Maria B. Cavalcanti (Universidade Federal Fluminense)
- Stefan Welkovic (Secretaria de Saúde do Estado do pernambuco)
- Tomaz Barbosa Isolan (Universidade Federal de Pelotas)
- Vandira Maria dos Santos Pinheiro (Universidade Federal Fluminense)
- Vilma Câmara (Universidade Federal Fluminense)
- Walter Tavares (Faculdade de Medicina de Teresópolis)
- Wilza Vieira Vilella (Instituto de Saúde da Secretaria de Saúde de São Paulo)

Nossos agradecimentos