

## Carta Aberta à Presidenta Dilma Rousseff

4 de fevereiro de 2011, Dia Mundial do Câncer.

Li em **O Globo** de 05/02/2011, na página 13, matéria sobre o assunto. Dados já bem conhecidos foram, mais uma vez, citados: por ano, no Brasil, 4.800 mulheres morrem por câncer do colo uterino e mais 18.430 mulheres são acometidas do mesmo mal.

Para se fazer um paralelo, pode-se lembrar que a grande tragédia que castigou a Região Serrana do estado do Rio neste mês de janeiro totalizou, entre mortos e desaparecidos, menos da metade das 4.800 mortes causadas pelo câncer de colo uterino. Vale destacar um aspecto importante em relação a estes números: o câncer de colo uterino mata este número de mulheres (cerca de 5.000), anualmente, há décadas.

Em outro ponto da matéria, lê-se: “O câncer tem atingido cada vez mais a população jovem. Mudanças de hábitos podem fazer as pessoas saírem do grupo de risco... No entanto, o diagnóstico precoce e o acesso ao tratamento são fundamentais”. Esta informação fez-me lembrar do Plano de Ação para a Redução da Incidência e Mortalidade por Câncer de Colo de Útero (disponível em: [http://www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/sumario\\_colo\\_uterio\\_versao\\_2011.pdf](http://www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/sumario_colo_uterio_versao_2011.pdf)), lançado no final de novembro de 2010. A página 8 deste documento inicia-se assim: “O Programa Nacional de Controle do Câncer de Colo de Útero no Brasil baseia-se na detecção precoce deste câncer em mulheres assintomáticas, processo conhecido como rastreamento ou *screening*”.

Em nenhum momento deste documento, deixa-se claro que o câncer de colo de útero tem o HPV como o seu elemento básico, e que este agente infeccioso é, primariamente, uma doença sexualmente transmissível. Logo, como uma DST, o uso de preservativos durante as relações sexuais diminui sensivelmente sua transmissibilidade.

Neste documento, o câncer de colo de útero é, equivocadamente, dissociado de outras doenças causadas pelo mesmo HPV, tais como condiloma acuminado, neoplasias intraepiteliais/câncer de vulva, de vagina, de ânus, de pênis, papilomatose respiratória recorrente, entre outras enfermidades.

A relação entre atividade sexual e câncer do colo do útero não é um pensamento novo. Em 1842, dois médicos de Verona, Stern & Rigoni, já citavam que este câncer era transmitido por via sexual, pois, em suas pesquisas, constataram que a doença era rara em mulheres virgens e freiras, ao se comparar com os índices entre mulheres casadas e viúvas.

A documentação por via molecular da associação entre HPV e câncer do colo uterino tornou-se realidade na década de 1980. Em 2008, o médico alemão Harald zur Hausen foi laureado com o Prêmio Nobel de Medicina por suas pesquisas em câncer de colo uterino e o envolvimento de HPV. No entanto, muitas “autoridades” da área da saúde pública brasileira ainda não se deram conta da associação entre HPV/DST e cânceres, além de outras tantas doenças causadas por HPV. Ainda assim, muitos dos que negam a vacinação contra HPV entre a população que mais necessita deste cuidado, a atendida pelo SUS, não hesitam em vacinar seus entes queridos e indicar o procedimento para as clientes de clínicas privadas.

Até mesmo os exemplos de países como Austrália, Estados Unidos, Canadá, França, Alemanha, Itália, Espanha, Suíça, Portugal, Áustria, Noruega, Dinamarca, Suécia e México são ignorados por aqueles que têm o poder de compor comissões na área. Pesquisadores da Austrália, por exemplo, publicam há 2 anos o impacto da vacinação contra HPV na população jovem daquele país.

Enquanto o mundo já trabalha com a prevenção primária há anos, ou seja, evitar a infecção pelo HPV na população jovem, preferencialmente antes do início da atividade sexual, documentos do Ministério da Saúde do Brasil insistem em ter como objetivo apenas a detecção precoce do câncer. Ou seja, da lesão precursora ou da doença já instalada. As duas ações não são excludentes, pelo contrário, se fortalecem. Até porque, infelizmente, já existem milhares e milhares de pessoas infectadas pelo HPV que, em breve, desenvolverão lesões pré-neoplásicas e neoplásicas.

Enquanto o mundo investe de forma pesada em prevenção, no Brasil, 80% do orçamento do Ministério da Saúde são para pagar tratamento de doenças.

Por que esta carta dirigida à presidenta da República Federativa do Brasil, senhora Dilma Rousseff? Porque os técnicos até agora não conseguiram dar respostas eficientes à questão das doenças sexualmente transmissíveis.

Tenho convicção de que uma decisão política da parte de uma mulher que tem discursado sob a égide de inovação, eficiência técnico-administrativa, fortalecimento das ações em ciência e tecnologia, buscando o avanço na equidade dos direitos da mulher, pode liderar a mudança no entendimento de que a prevenção primária é o objetivo básico para a redução (quicá, eliminação) da incidência de cânceres causados por HPV, da infecção e de suas complicações (incluindo o hepatocarcinoma), do vírus da hepatite B e demais DSTs.

Finalmente, uma última reflexão, pois já me estendo. O Departamento Nacional de DST, AIDS e Hepatites Virais tem Comitê Assessor de Vacinas, mas não é possível identificar atividades que não sejam exclusivas para HIV. A vacinação na rede pública (SUS) contra hepatite B é restrita a pessoas até 24 anos. Acima desta idade, só será possível, caso a pessoa seja classificada com “lésbica, bissexual ou transgêneros” (<http://www.aids.gov.br/node/40143>). Logo, quem se disser heterossexual estará fora do grupo a ser vacinado.

O Dia Internacional da Mulher (8 de março), neste ano, coincide com o Carnaval. É possível que os eventos de empoderamento das mulheres se percam no meio da sensualização feminina, tão explorada pela mídia, nesta época. Assim, como uma forma de realmente celebrar esta data, a presidenta Dilma Rousseff poderia abrir o Congresso da Sociedade Brasileira de DST, no dia 18 de maio de 2011, em Curitiba, onde o tema central a ser debatido será “O impacto das DSTs na mulher”.

Niterói, 7 de fevereiro de 2011.

**MAURO ROMERO LEAL PASSOS**

Professor associado chefe do Setor de DST da Universidade Federal Fluminense

## *Open Letter to the President Dilma Rousseff*

---

February 4, 2011, World Cancer Day.

I read in **The Globe** 05.02.2011, page 13, a story on the subject. Data already well known, were once again cited: in Brazil, 4.800 women a year die of cervical cancer and 18.430 more women are affected of the same evil.

To draw a parallel, it may be remembered that the great tragedy that hit the mountainous region of Rio in the month of January totaled, among dead and missing, less than half of the 4.800 deaths from cervical cancer. It is worth noting an important point about these numbers: the cervical cancer kills this number of women (about 5.000) annually for decades.

At another point in the story: "The cancer has reached more young people. Changes in habits can make people leave the group at risk... However, early diagnosis and access to treatment are critical". This information reminded me of the Action Plan for the Reduction of Incidence and Mortality from Cancer of the Cervix (available at: [http://www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/sumario\\_colo\\_uterio\\_versao\\_2011.pdf](http://www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/sumario_colo_uterio_versao_2011.pdf)), released in November 2010. Page 8 of this document begins like this: "The National Program for Control of Cervical Cancer in Brazil is based on the early detection of cancer in asymptomatic women, a process known as screening".

At no time this document makes it clear that the cervical cancer have HPV as its basic element and that this infectious agent is primarily a sexually transmitted disease. So, as an STD, condom use during sexual intercourse, significantly decreases its transmissibility.

In this document, cervical cancer is mistakenly separated from other diseases caused by the same HPV, such as condyloma acuminatum, intraepithelial neoplasia / cancer of the vulva, vagina, anus, penis, recurrent respiratory papillomatosis, among other diseases.

The relationship between sexual activity and cervical cancer is not a new thought. In 1842, two doctors of Verona, Rigoni & Stern, already quoted that this cancer was transmitted through sex, because, in their research, was found that this disease was rare in nuns and virgin women, when compared with rates among widows and married women.

The documentation by molecular association of HPV and cervical cancer has become reality in the 1980s. In 2008, the German doctor Harald zur Hausen was awarded the Nobel Prize in Medicine for his research into cervical cancer and the involvement of HPV. However, many "authorities" in the field of public health in Brazil has not yet realized the association between HPV / STDs and cancers and many other diseases caused by HPV. Still, many who deny the HPV vaccination among the population in most need of care, attended by SUS, do not hesitate to vaccinate their loved ones and indicate the procedure for clients of private clinics.

Even the examples of countries like Australia, United States, Canada, France, Germany, Italy, Spain, Switzerland, Portugal,

Austria, Norway, Denmark, Sweden, Mexico, are ignored by those who have the power to compose committees in the area. Researchers from Australia, for example, published, two years ago, the impact of HPV vaccination among young people of that country.

While the world is already working with primary prevention for years, namely to prevent HPV infection in young people, preferably before the onset of sexual activity, documents of the Ministry of Health of Brazil insist on having as objective only the early detection of cancer. That is, the precursor lesion or disease is already established. Both actions are not exclusive, however, are strengthened. Especially because, unfortunately, there are already thousands and thousands of people infected with HPV soon will develop precancerous lesions and cancer.

As the world invests heavily in prevention, in Brazil, 80% of the budget of the Ministry of Health are to pay for treatment of diseases.

Why this letter to the President of the Federative Republic of Brazil, Mrs. Rousseff? Because technicals have so far failed to give efficient answers to the question of sexually transmitted diseases.

I am convinced that a political decision on the part of a woman who has spoken under the auspices of innovation, technical and administrative efficiency, strengthening actions in science and technology, seeking to advance equity for women's rights can lead change on the understanding that primary prevention is the primary objective to reduce (hopefully, eliminate) the incidence of cancers caused by HPV infection and its complications (including hepatocellular carcinoma) of hepatitis B virus and other STDs.

Finally, one last thought, as I already stretch. The National Department of STDs, AIDS and viral hepatitis has the Vaccine Advisory Committee, but it is not possible to identify activities that are not unique to HIV. Vaccination in the public system (SUS) for hepatitis B is restricted to people under 24 years old. Above this age, it will only be possible if the person is classified as "lesbian, bisexual or transgender" (<http://www.aids.gov.br/node/40143>). So, who say he is heterosexual, is out of the group that can be vaccinated.

The International Women's Day (March 8) this year coincides with the Carnival. It is possible that the events of women's empowerment get lost in the middle of the female sensualization, as exploited by the media at this time. So, as a way to truly celebrate this date, the president Rousseff could open the Congress of the Brazilian Society of STD, on May 18, 2011 in Curitiba, where the central theme to be discussed will be "The impact of STDs in woman".

Niteroi, February 7, 2011.

**MAURO ROMERO LEAL PASSOS**

Associate Professor Head of the Division of STD  
Universidade Federal Fluminense

O caminho percorrido é longo, os obstáculos proliferam, mas as soluções para controlar o câncer de colo do útero estão aí para todos verem (ou para aqueles que querem ver)

Nas últimas três décadas, vivemos intensa atividade de pesquisa científica, que gerou inúmeros estudos, debates e milhares de publicações, até que aprendêssemos que o câncer de colo do útero é causado por vírus; não um vírus qualquer, mas um que se situa dentre os de maior capacidade de causar câncer já descritos. Suas características foram desnudadas; as invasões sorrateiras, identificadas; as manifestações clínicas, reconhecidas, catalogadas, e de forma escancarada apontadas como doenças de transmissão sexual, carregadas de preconceito e culpa. Mas os culpados nunca aparecem: a sociedade julga-os impiedosamente, para em seguida chorar as milhares de mortas a cada ano. E como se não bastasse, o diagnóstico de pré-câncer, ou mesmo câncer invasor, é proferido a mulheres cada vez mais jovens, consequência direta da precocidade da exposição aos HPV's de alto risco oncogênico, com os quais se infectam logo nas primeiras relações sexuais.

Medidas mais efetivas para reverter esta dramática situação não são apenas necessárias, são urgentes! Sobretudo quando estão disponíveis alternativas tanto para o rastreamento, baseadas em testes de HPV, quanto para a prevenção primária do câncer de colo do útero, com vacinas contra os tipos principais de HPV causadores de câncer, alternativas essas com demonstrada eficácia tanto em países desenvolvidos quanto em desenvolvimento. A hesitação em sua aplicação, ou pelo menos em sua ampla discussão, é, portanto, incompreensível, senão inaceitável.

Para alguém que participou de todo o processo, desde a descoberta do agente que causa o segundo câncer mais comum entre as mulheres brasileiras, até o desenvolvimento de vacinas para controlá-los, a manutenção de diretrizes nacionais conservadoras de controle do câncer e em alguns aspectos até desatualizadas, é no mínimo, frustrante. O que dizer para uma mulher, frequentemente com a prole em idade escolar, uma carreira em ascensão, um negócio florescendo, que tem um câncer que poderia ter sido prevenido... como explicar a injustificada omissão na oferta de alternativas mais eficientes no rastreamento de nossas mulheres... por que adiar a oferta de vacinas contra HPV às meninas, protegendo-as contra os tipos causadores da maior proporção de cânceres de colo do útero ... Nossas mulheres merecem as respostas. E a sociedade como um todo se beneficiará.

**LUISA LINA VILLA, PHD**

Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do HPV  
(INCT-HPV)

The path is long and tortuous, obstacles thrive, but solutions to control cervical cancer are available for all to see (or for those who want to see).

Three decades of intense scientific research have passed, which generated many studies, debates and thousands of publications, until we learned that cervical cancer is caused by viruses with great potential to cause cancer. Its features were stripped; sneaky invasions identified; the clinical manifestations known in detail, catalogued, and so blatantly labelled as sexually transmitted diseases, with the accompanying prejudice and guilt. But no one is to blame: a ruthless society first judges, then cry for thousands of women killed each year. In addition, we are observing an increase in incidence of precancer and cancer in younger women, a direct result of early exposure to oncogenic HPV's, which they get as soon as they start sexual activity.

Therefore, more effective measures to reverse this tragic situation are not only necessary, they are imperative! Especially when alternatives are available both for screening based on HPV testing, as well as for primary prevention of cervical cancer with vaccines against the most common HPV types. Such interventions have been demonstrated to be effective in both developed and developing countries, which led some countries to adopt them. Postponing its implementation in Brazil is incomprehensible if not unacceptable. At least we should promote more discussions, demonstration studies, in depth cost-effectiveness evaluation concerning the available alternatives.

For someone who participated in the whole process of linking papillomavirus to cancer up to the development of vaccines to control it, it is very frustrating to see no changes in national guidelines to control the second most common cancer among Brazilian women. What to tell a woman, often raising her offspring, a career on the rise, a flourishing business, that her cancer could have been prevented ... How to explain the unjustified deferment of more efficient alternatives in cervical cancer screening ... How to communicate the postponing of HPV vaccines delivery to girls, protecting them from developing a considerable proportion of cervical cancers... Our women deserve the answers. Our entire society will benefit.

**LUISA LINA VILLA, PHD**

National Institute of Science and Technology of HPV  
(HPV Institute)

# Reflexões críticas sobre os três erres, ou os periódicos brasileiros excluídos

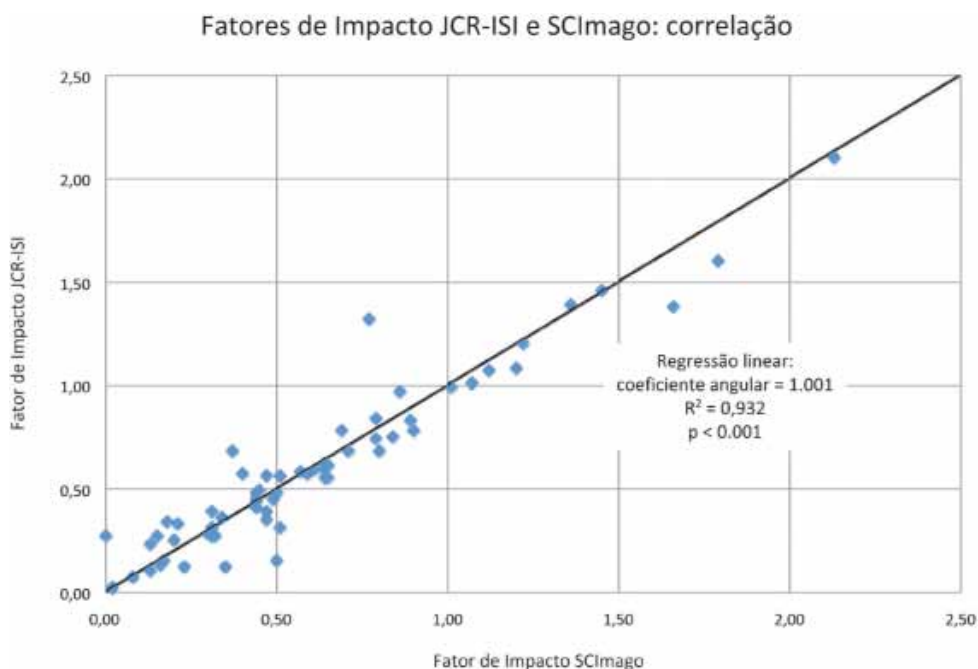
Maurício Rocha e Silva

Recentemente, CLINICS propôs para debate a ideia de que o QUALIS 2010 era passível de aperfeiçoamento, através do conceito dos três erres (Remover periódicos de revisão, Reconhecer outras métricas de avaliação, Reavaliar periódicos brasileiros).<sup>1</sup> Submetido ao debate por pares, por ocasião do II Seminário Satélite para Editores Plenos (ABEC novembro de 2010), concluiu-se que idealmente haveria que focalizar num único erre, a saber, o reconhecimento por parte da CAPES para 2.013 das métricas de avaliação SCImago (*cites/document*) e SciELO (*Impact Factor*).

Já demonstramos anteriormente que o Impact Factor ISI THOMSON, única métrica reconhecida pela CAPES, é praticamente idêntico ao *cites/document* da SCImago. A correlação geral por amostragem entre os dois índices é maior que 0,9 e o coeficiente angular é indistinguível da unidade.

A recente divulgação da coleção 2009 do SCImago Journal & Country Rank junta-se aos já divulgados Fatores de Impacto JCR-ISI e SciELO para aquele ano e permite o cotejo em tempo real dos três índices. Salientamos que este cotejo não se aplica a qualquer tabela QUALIS, pois a Tabela 2010 já é história e a Tabela 2013 será decidida no futuro. Em outras palavras, o cotejo que se segue, relativo ao ano 2009, é oferecido como base argumentativa adequada para reivindicar a correção de curso relativa à exclusão dos índices SCImago e SciELO.

Vamos, pois, ao cenário 2009, como simulação de uma hipotética tabela Qualis: na versão 2009 do *Journal of Citations Report* – ISI a representação brasileira saltou de 31 a 71 periódicos; já no *SCImago Journal Ranking* essa representação manteve-se constante em 235 periódicos. Exis-



**Figura 1** – Correlação entre fatores do impacto J. Citation Reports (ISI – Thomson) e SCImago (2009) para 64 periódicos brasileiros representados nos dois índices com valores maiores que zero. A identidade entre métricas é praticamente absoluta. O coeficiente angular indica um ângulo de 45° (significando identidade) e a correlação ( $R^2 = 0,932$ ;  $p < 0,001$ ) é quase perfeita.

Rocha-e-Silva M. Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo  
Email: mrsilva36@hcnnet.usp.br  
Tel.: 55 11 3069-6235

**Copyright** © 2011 CLINICS – This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

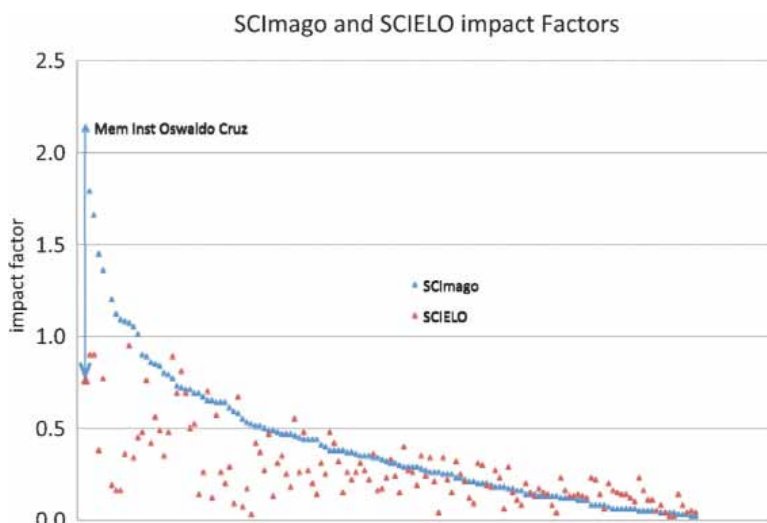
tem, portanto, 164 periódicos brasileiros (138 com impacto maior que zero) ausentes da tabela JCR-ISI. Mantida a norma Qualis aplicada em 2010, estes 138 periódicos cairiam nas categorias “sem fator de impacto”. A **Figura 1** mostra a identidade entre ISI e SCImago para as 64 revistas incluídas nos dois índices: o coeficiente angular unitário e o elevado coeficiente de correlação significam que, conhecendo-se um dos índices, pode-se estimar o outro com 95% de probabilidade de errar por menos de 5%.

**Tabela 1** – Cento e trinta e oito periódicos brasileiros excluídos do QUALIS com Fator de Impacto SCIMAGO (simulação 2009)

Rank	Título	cites/doc scimago
1	Acta Scientiarum – Agronomy	1,19
2	International Braz J Urol	1,09
3	Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo	1,08
4	Brazilian Journal of Plant Physiology	1,05
5	Annual Review of Biomedical Sciences	0,85
6	Jornal Brasileiro de Pneumologia	0,85
7	Revista Brasileira de Epidemiologia	0,73
8	Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery	0,72
9	Acta Ortopédica Brasileira	0,71
10	Brazilian Journal of Biology	0,69
11	Brazilian Dental Journal	0,67
12	Ciência e Saúde Coletiva	0,58
13	Materials Research	0,55
14	Brazilian Oral Research	0,53
15	Arquivos de Gastroenterologia	0,49
16	Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil	0,49
17	Acta Botanica Brasílica	0,48
18	Phyllomedusa	0,48
19	Acta Scientiarum - Biological Sciences	0,46
20	Revista Brasileira de Medicina do Esporte	0,46
21	Revista Brasileira de Botânica	0,45
22	PRO-FONO: Revista de Atualização Científica	0,44
23	Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental	0,41
24	Engenharia Agrícola	0,40
25	Arquivos Brasileiros de Oftalmologia	0,38
26	Biota Neotropica	0,38
27	Radiologia Brasileira	0,38
28	Revista Brasileira de Otorrinolaringologia (English ed.)	0,38
29	Revista Brasileira de Sementes	0,38
30	Acta Amazonica	0,37
31	Ciência Rural	0,36
32	Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia	0,35
33	Pan-American Journal of Aquatic Sciences	0,35
34	Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia	0,35
35	Acta Paulista de Enfermagem	0,34
36	Eclética Química	0,34
37	Papeis Avulsos de Zoologia	0,33
38	Revista Brasileira de Plantas Mediciniais	0,31
39	Bragantia	0,29
40	Revista Árvore	0,29
41	Revista Brasileira de Anestesiologia	0,29
42	Revista de Psiquiatria Clínica	0,29
43	Jornal Brasileiro de Psiquiatria	0,28
44	Journal of Microwaves and Optoelectronics	0,27
45	Pesquisa Operacional	0,27
46	Scientia Forestalis/Forest Sciences	0,27
47	Revista Brasileira de Ciência Avícola	0,26
48	Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia	0,26
49	Revista de Economia Política	0,26
50	Cerâmica	0,25
51	Estudos Avançados	0,25
52	Interface: Comunicação, Saúde, Educação	0,25
53	Online Brazilian Journal of Nursing	0,24
54	Boletim de Geociências - Petrobras	0,23
55	HAHR - Hispanic American Historical Review	0,23
56	Opinião Pública	0,23
57	Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas	0,23
58	Cadernos de Pesquisa	0,22
59	Anais Brasileiros de Dermatologia	0,21
60	Journal of Public Child Welfare	0,21
61	Lundiana	0,21
62	Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada	0,21
63	Tropical Plant Pathology	0,21
64	Jornal Vascular Brasileiro	0,20
65	Revista Brasileira de Enfermagem	0,20
66	Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial	0,19
67	História, Ciências, Saúde - Manguinhos	0,18
68	Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul	0,18
69	Geociências	0,17

Tabela 1 – Continuação.

Rank	Título	cites/doc scimago
70	Revista Brasileira de Reumatologia	0,17
71	Ararajuba	0,16
72	Revista Brasileira de Cardiologia Invasiva	0,16
73	Revista Brasileira de Economia	0,16
74	Revista Brasileira de Geofísica	0,16
75	Boletim de Ciências Geodésicas	0,15
76	Controle E Automação	0,15
77	Geologia USP – Série Científica	0,15
78	Economia Aplicada	0,14
79	Engenharia Sanitária e Ambiental	0,14
80	IRRIGA	0,14
81	Psicologia e Sociedade	0,14
82	Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões	0,14
83	Revista Gaúcha de Enfermagem / EENFUFGRS	0,14
84	Educação e Pesquisa	0,13
85	Lua Nova - Revista de Cultura e Política	0,13
86	Produção	0,13
87	Psicologia: Teoria e Pesquisa	0,13
88	Revista de Economia e Sociologia Rural	0,13
89	Educação e Sociedade	0,12
90	Physis: Revista de Saúde Coletiva	0,12
91	Revista Brasileira de Ciências Sociais	0,12
92	Sociologias	0,12
93	Ambiente & Sociedade	0,11
94	Brazilian Journal of Oral Sciences	0,11
95	Gestão e Produção	0,11
96	Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology	0,11
97	Psicologia em Estudo	0,11
98	Soils and Rocks	0,11
99	Archives of Veterinary Science	0,10
100	Estudos Feministas	0,10
101	Jornal Brasileiro de Reprodução Assistida	0,10
102	Psiquiatria Biológica	0,10
103	Anuário do Instituto de Geociências	0,09
104	Acta Scientiarum - Health Sciences	0,08
105	Coluna/ Columna	0,08
106	GED - Gastrenterologia Endoscopia Digestiva	0,08
107	Revista de Administração Pública	0,08
108	Revista Dental Press de Ortodontia e Ortopedia Facial	0,08
109	Saúde e Sociedade	0,08
110	Summa Phytopathologica	0,08
111	Estudos de Psicologia (Campinas)	0,07
112	Cadernos CEDES	0,06
113	Revista Brasileira de Coloproctologia	0,06
114	Revista Brasileira de Educação	0,06
115	Revista Brasileira de Estudos de População	0,06
116	Revista Brasileira de Oftalmologia	0,06
117	Revista de Sociologia e Política	0,06
118	Ensaio	0,05
119	Estudos Íbero-Americanos	0,05
120	Novos Estudos CEBRAP	0,05
121	Perspectivas em Ciência da Informação	0,05
122	Revista Brasileira de Educação Especial	0,05
123	Revista Brasileira de Medicina	0,05
124	Revista de Economia Contemporânea	0,05
125	Alea	0,04
126	Horizontes Antropológicos	0,04
127	International Journal of Atherosclerosis	0,04
128	Revista Brasileira de História	0,04
129	Trans/Form/Ação	0,04
130	Cadernos Pagu	0,03
131	História	0,03
132	Medicina	0,03
133	Psicologia Clínica	0,03
134	Ciência da Informação	0,02
135	Revista Latinoamericana de Psicopatologia Fundamental	0,02
136	Revista Neurociências	0,02
137	Sociedade e Estado	0,02
138	Revista Brasileira de Gestão e Desenvolvimento Regional	0,01



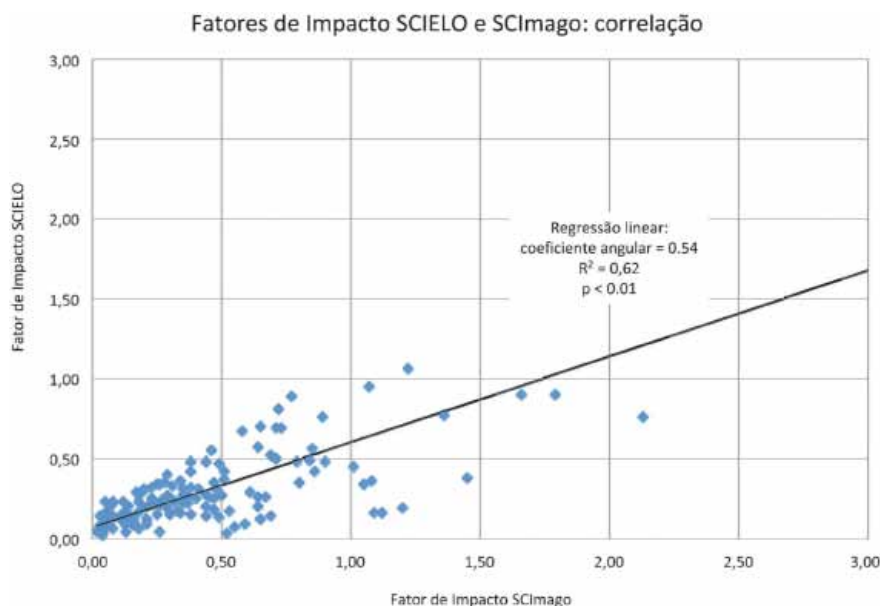
**Figura 2** – Fatores de Impacto SCImago e SciELO (2009) para 142 periódicos brasileiros representados nos dois índices com valor maior que zero. Observa-se que quando SCImago > SciELO, a diferença é frequentemente grande (como indicado pela seta vertical relativa às Memórias do Instituto Oswaldo Cruz), mas invariavelmente diminuta quando SciELO > SCImago.

A **Tabela 1** exibe a relação desses 138 periódicos brasileiros com Cites/Document SCImago > zero, mas sem Fator de Impacto JCR-ISI. Ressalte-se que não são periódicos de impacto nitidamente mais baixo que os da coleção JCR-ISI. Os quatro primeiros apresentam impacto > 1.00, o que os colocaria entre os 15 melhores do Brasil. Outros dez apresentam impacto maior que 0.50, acima da mediana dos periódicos brasileiros no JCR-ISI. Todos os 138 títulos evidentemente fariam jus à classificação “com fator de impacto”.

Outra correlação interessante ocorre entre SCImago e SciELO. Em primeiro lugar vale notar que existe extensa

concordância: a coleção SCImago contém 235 títulos brasileiros e a coleção SciELO contém 223. As inclusões não são 100% concordantes: a coleção SCImago contém 69 periódicos ausentes da coleção SciELO; reciprocamente a coleção SciELO contém 56 periódicos ausentes da coleção SCImago. Por si só, esta convergência revela a consistência de qualidade dos periódicos incluídos na coleção SciELO.

É fácil intuir que, para qualquer periódico brasileiro incluído nas duas coleções, há que se esperar que o impacto SCImago seja maior que o SciELO, porque a coleção SCImago contém 18.732 periódicos, contra apenas 759 na coleção SciELO. Surpreendentemente, porém, o efeito



**Figura 3** – Correlação entre fatores do impacto SciELO e SCImago (2009) para 142 periódicos brasileiros representados nos dois índices com valor maior que zero. O coeficiente angular indica um ângulo de 28° e um impacto SciELO médio 40% menor que o SCImago. A correlação significativa indica que os dois parâmetros medem a mesma coisa sobre bases de dados díspares.

**Tabela 2** – Trinta e cinco periódicos brasileiros excluídos do QUALIS com Fator de Impacto SciELO (simulação 2009).

Rank	Título	IF scielo
1	Revista da Sociedade Brasileira de Fonoaudiologia	0,81
2	Texto e Contexto Enfermagem	0,65
3	Revista CEFAC	0,64
4	Revista Brasileira de Educação Médica	0,58
5	Ciência e Agrotecnologia	0,42
6	Avaliação: Revista da Avaliação da Educação Superior	0,28
7	Revista Paulista de Pediatria	0,28
8	Paidéia (Ribeirão Preto)	0,27
9	RAE Electronica	0,21
10	Revista Brasileira de Terapia Intensiva	0,21
11	Psicologia & Sociedade	0,15
12	Revista Estudos Feministas	0,15
13	Economia e Sociedade	0,14
14	Revista Brasileira de Meteorologia	0,14
15	Ciência da Informação	0,12
16	Psicologia Escolar e Educacional (Impresso)	0,12
17	Educação em Revista	0,11
18	Revista de Administração Contemporânea	0,11
19	Revista Brasileira de Ortopedia	0,10
20	Varia Historia	0,09
21	Matéria (Rio de Janeiro)	0,08
22	Psicologia USP	0,08
23	Caderno CRH	0,07
24	DELTA Documentação de Estudos em Linguística Teórica e Aplicada	0,07
25	Ciência & Educação (Bauru)	0,06
26	Nova Economia	0,06
27	Religião & Sociedade	0,06
28	Escola Anna Nery	0,05
29	Estudos Econômicos	0,05
30	Revista Contabilidade & Finanças	0,05
31	Sba: Controle & Automação Sociedade Brasileira de Automática	0,05
32	Contexto Internacional	0,04
33	Educar em Revista	0,04
34	Estudos de Psicologia (Natal)	0,03
35	Interações (Campo Grande)	0,03

dessa enorme desproporção entre bases de dados é menor do que o esperado, como se pode ver à **Figura 2**: dentre os 142 periódicos brasileiros presentes nas duas coleções, apenas 88 (62%) apresentam SCImago > SciELO, enquanto 45 (32%) apresentam SciELO > SCImago e nove (6%) apresentam igualdade. Esta discrepância entre o esperado e o observado merece estudo bibliométrico adicional, mas uma boa hipótese seria que artigos brasileiros citam outros artigos brasileiros com mais intensidade, em virtude de um pronunciado interesse local específico. A correlação entre os impactos (**Figura 3**) é igualmente reveladora: o coeficiente angular (0,54) sugere que o impacto médio SciELO é apenas 40% menor que o impacto SCImago. Já o alto índice de correlação ( $r^2 = 0.62$ ;  $p < 0.01$ ) demonstra que as duas métricas avaliam o mesmo parâmetro em bases de dados muito díspares.

Caso a CAPES reconheça o Cites/Document SCImago, estará resgatada a maior parte dos periódicos brasileiros com impacto > 0. Porém, a **Tabela 2** mostra que, se a decisão fosse tomada neste momento, restariam 35 periódicos brasileiros com impacto SciELO maior que zero mas ausentes do JCR-ISI e do SCImago. Aqui também encontramos impactos não triviais: quatro periódicos apresentam impactos maiores que a mediana da coleção ISI. Sem esquecer a forte possibilidade de que estes 35 impactos SciELO infraestimem o que seriam seus impactos ISI ou SCImago.

Desta simulação, podemos concluir que teríamos 173 periódicos brasileiros com IMPACTO > ZERO tratados como “SEM FATOR DE IMPACTO” pelo QUALIS, caso a avaliação fosse agora e caso os critérios 2010 fossem repetidos. Sabemos que esta “simulada exclusão” não é estática: quando a tabela Qualis “fechar” para a próxima avaliação, muita coisa terá mudado: dentre elas, com certeza, as tabelas ISI-JCR, SCImago e SciELO, bem como (esperamos!) os critérios CAPES de avaliação. Mas defendemos a tese de que reconhecer tão somente o Fator de Impacto ISI-JCR não seria lógico. Por isso, entendemos que esta simulação é a base racional para um alerta, em tempo, pela adoção de novos critérios.

*NOTA: este editorial é publicado por CLINICS livre de restrições de copyright. Oferecêmo-lo aos periódicos científicos brasileiros para reprodução integral ou parcial. Alternativamente, sugerimos que apoiem esta ideia, em editoriais originais. Tais ações sinalizarão nossa vontade política de exercer o direito republicano de petição, perante o poder público, em defesa desta que é uma reivindicação legítima e generalizada da comunidade editorial científica brasileira.*

## REFERÊNCIAS

1. Rocha e Silva M. Qualis 2011-2013: os três erros. Clinics. 2010; 65: 935-6.
2. SCImago. (2007). SJR — SCImago Journal & Country Rank. Retrieved January 26, 2011, from <http://www.scimagojr.com>.



# COMPARAÇÃO DA COLETA DAS AMOSTRAS DE SANGUE NA TRIAGEM PRÉ-NATAL, UTILIZANDO O PAPEL DE FILTRO E PUNÇÃO VENOSA NA TÉCNICA DE ELISA PARA DETECÇÃO DE HIV 1+2

COMPARISON OF THE COLLECTION OF BLOOD SAMPLES IN PRENATAL SCREENING, USING THE FILTER PAPER AND VENIPUNCTURE TECHNIQUE ELISA FOR THE DETECTION OF HIV 1+2

Juan FB Gómez<sup>1</sup>, Marco AO Appolinário<sup>2</sup>, Dolores MF Abreu<sup>3</sup>, Antonio JW Castro<sup>4</sup>,  
Jordi Martí<sup>5</sup>, Sidney Prates<sup>6</sup>, Cristimar dos Santos<sup>7</sup>

## RESUMO

**Introdução:** apesar de o papel de filtro (PF) ter sido introduzido desde o século passado, (1963) por Guthrie e Susi, nas triagens neonatais, como alternativa para a coleta da amostra do sangue, seus benefícios na aplicação da prática médica laboratorial não foram aproveitados com eficiência nestes anos, com exceção dos recentes resultados obtidos nos trabalhos para a triagem pré-natal. O diagnóstico precoce do HIV em mulheres grávidas é de fundamental importância, sendo o aporte mais destacado para neutralizar a transmissão vertical (TV) do HIV-aids, pois ao ser detectada a presença de anticorpos anti-HIV, aplica-se o Protocolo ACTG 076 (*Pediatric AIDS Clinical Trials Group Study Group*), que é o tratamento das gestantes HIV-positivo no pré, intra e pós-parto. **Objetivo:** comparar a coleta das amostras de sangue no papel de filtro (PF) e no plasma (padrão-ouro) na triagem pré-natal, utilizando anticorpos anti-HIV 1+2 no procedimento imunológico ELISA (Imunoscreen HIV 1+2 SS), da firma Mbiolog. **Métodos:** foram estudadas 1.142 grávidas de quatro municípios do Estado do Rio de Janeiro: Itaboraí (N = 131), Itaguaí (N = 597), Niterói (N = 377) e São João de Meriti (N = 37), a partir do mês de novembro de 2008 até fevereiro de 2009. As grávidas foram submetidas a punção digital e venosa para a rotina da triagem pré-natal, sendo a primeira aplicada em PF. Foram calculados os limites de especificidade, sensibilidade, e valores preditivos positivos e negativos para o estudo. **Resultados:** os resultados da absorvância (homogeneização das variâncias) encontrados para as amostras não reativas e reativas, em ambas as técnicas, não mostraram diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) quando aplicado o teste T de Student no estudo de repetitividade. Os estudos de reprodutibilidade em ambas as técnicas não resultaram coeficientes de variação superiores a 10%. **Conclusão:** os resultados da sorologia para HIV no sangue seco coletado em PF foram semelhantes aos da coleta por punção venosa, validando esta técnica.

**Palavras-chave:** sorologia, aids, HIV 1+2, pré-natal, papel de filtro, ELISA, DST

## ABSTRACT

**Introduction:** although the filter paper (FP) have been introduced since the last century (1963) by Guthrie and Susi, in neonatal screening as an alternative to blood sample collection, its benefits in the application of medical laboratory practice not were used effectively in recent years, with the exception of the recent results obtained in the works for the prenatal screening. Early diagnosis of HIV in pregnant women is of paramount importance, being the most outstanding support to counteract the vertical transmission (VT) of HIV-AIDS, because the determination of the presence of HIV antibodies, it applies to the ACTG 076 Protocol (*Pediatric AIDS Clinical Trials Group Study Group*), which is the treatment of pregnant HIV-positive in the pre-, intra and post-parto. **Objective:** compare the collection of blood samples on filter paper (FP) and plasma (standard gold) in prenatal screening, using antibodies against HIV 1 +2 ELISA immunochemical procedure (Imunoscreen HIV 1 +2 SS), the firm Mbiolog. **Methods:** we studied 1,142 pregnant women in four counties of the State of Rio de Janeiro: Itaboraí (N = 131), Itaguaí (N = 597), Niterói (N = 377) and St. John Meriti (N = 37), from November 2008 until February 2009. The pregnant women underwent fingerstick and venous for routine prenatal screening, the first being applied in PF. We calculated the limits of sensitivity, specificity and positive predictive value and negative for the study. **Results:** the results of absorbance (homogeneity of variances) for the samples found non-reactive and reactive in both techniques, showed no significant differences ( $P > 0.05$ ) when using the Student's T test in the study of repeatability. Reproducibility studies for both techniques did not result in coefficients of variation above 10%. **Conclusion:** the results of serological tests for HIV in dried blood collected in PF were similar to the collection by venipuncture, validating this technique.

**Keywords:** sorology, aids, HIV 1+2, prenatal, filter paper, ELISA, STD

## INTRODUÇÃO

A transmissão vertical (TV) do HIV ocorre por três vias, através da passagem do vírus da mãe para o bebê durante a gestação (35%), do trabalho de parto, com o parto propriamente dito, por contato com as secreções cervicovaginais e o sangue materno (65%), e a amamentação (7-22%)<sup>1,2</sup>.

No período compreendido entre 1984 a 1986 no Brasil, a proporção da transmissão do vírus da síndrome de imunodeficiência humana (aids) mulher/homem foi de 1/20, embora no ano 1993 alcançasse a proporção de 1/4, considerando-se que em 60% foi atribuída à exposição heterossexual<sup>3</sup>, que é considerada a principal forma de contaminação de mulheres neste momento no Brasil e na maioria dos países<sup>4</sup>.

O aumento do número de mulheres em idade fértil infectadas pelo HIV-1 tem aumentado consideravelmente, proporcionalmente com aumento do número de crianças portadoras do vírus HIV-1 e, tem sido um fator de impacto na mortalidade infantil em vários países, tanto os industrializados como os em desenvolvimento<sup>4-6</sup>. O diagnóstico precoce do HIV em mulheres grávidas ou preferivelmente em idade fértil é de fundamental importância. Até agora, o aporte mais destacado para neutralizar a TV de HIV-aids é a utilização do Protocolo ACTG 076 (*Pediatric Aids Clinical Trials Group Study Group*) nas gestantes portadoras do vírus, com o tratamento

<sup>1</sup> Doutor em Ciências Médicas. Coordenador do BioMarc, Instituto Vital Brazil. Niterói, RJ.

<sup>2</sup> Médico, Mestre em DST pela UFF, BioMarc, Instituto Vital Brazil. Niterói, RJ.

<sup>3</sup> Sanitarista da SESDEC, Mestre em Saúde pública, ENSP/Fiocruz, RJ

<sup>4</sup> Médico, Mestre em Ciências Médicas. Diretor-Presidente do Instituto Vital Brazil. Niterói, RJ.

<sup>5</sup> Engenheiro Químico, IQS. Parceiro Científico de Barcelona. Barcelona. Espanha.

<sup>6</sup> Biólogo. BioMarc, Instituto Vital Brazil. Niterói, RJ.

<sup>7</sup> Técnica de Laboratório. BioMarc, Instituto Vital Brazil. Niterói, RJ.

no pré, intra e pós-parto, na tentativa de diminuir a TV e manter a continuidade da assistência terapêutica com o tratamento do RN<sup>7</sup>.

O fato da diminuição da TV de 24% para menos de 1% nos grupos com tratamento preventivo com a zidovudina<sup>8</sup> estabeleceu a disposição de estudar todas as grávidas, hoje aceita por todos os programas de triagem pré-natais. Barabacci *et al.* (1991), anos antes, haviam definido que quando o teste era feito apenas nas mães com fatores de risco, a triagem era efetiva em 57% das vezes, contra 87% se todas as mães fossem testadas, sugerindo que em áreas onde a prevalência for maior que 1:1.000, o teste sorológico deve ser feito em todas as mulheres grávidas<sup>9</sup>.

No Brasil, os testes sorológicos devem ser indicados na rotina pré-natal no primeiro trimestre da gravidez, como estabelecido no Programa de Humanização no Pré-natal e Nascimento, instituído pelo Ministério da Saúde através da Portaria/GM nº 569, de 1/6/2000<sup>10</sup>.

Na triagem obrigatória<sup>10</sup> da mulher grávida, deve ser incluído o teste de anticorpos por ELISA o mais próximo possível do primeiro trimestre. Um resultado negativo não exclui a infecção pelo HIV, pois nesse período as provas sorológicas podem ser falso-negativas, com elevada viremia e maior risco de transmissão do HIV ao feto<sup>11</sup>. Dada a possibilidade de janela imunológica (tempo entre o contágio e a detecção de anticorpos pelos métodos diagnósticos), é necessária nova tomada da amostra no momento adequado no terceiro trimestre<sup>11</sup>.

## OBJETIVO

Comparar o procedimento imunológico ELISA através de amostras de sangue seco no papel de filtro (PF) e no plasma (padrão-ouro) na triagem pré-natal, usando como marcador de estudo anticorpos anti-HIV 1+2.

## MÉTODOS

Foram selecionados quatro municípios do Estado de Rio de Janeiro: Itaboraí, Itaguaí, Niterói e São João de Meriti, para o estudo nas grávidas a partir do mês de novembro de 2008 até fevereiro de 2009. Nos postos de saúde, as grávidas foram submetidas a punção venosa e digital para a rotina da triagem pré-natal, sendo a última aplicada em papel de filtro Schleicher & Schuell 903<sup>11</sup> (**Figuras 1**

e 2). Todas as amostras foram enviadas ao Laboratório BioMarc, do Instituto Vital Brazil (IVB), órgão da Secretaria de Estado de Saúde e Defesa Civil do Rio de Janeiro.

Estudaram-se no total 1.142 grávidas, com a seguinte frequência nos diferentes municípios: Itaboraí (131), Itaguaí (597), Niterói (377) e São J. de Meriti (37), nas quais foram autorizadas as coletas por consentimento escrito pessoal.

No Laboratório BioMarc, as amostras foram processadas para a detecção de anticorpos anti-HIV 1+2 e subtipo 0 no PF e no plasma, pela técnica ELISA registrada pelo Imunoscreen, da Firma MBIolog<sup>12</sup>. No procedimento técnico para o PF foram detectados os marcadores imunológicos (anticorpos) por um processo de eluição, com uma solução proteica tamponada com conservantes. Seguiu-se a técnica imunológica (eluato e plasma) para o estudo dos anticorpos anti-HIV 1+2, na placa de poliestireno tipo ELISA previamente recoberta com proteína recombinante anti-HIV 1+2 e subtipo 0. Após a lavagem da placa, o material não ligado é retirado e, posteriormente, é adicionado o conjugado composto por antígeno/POD mais conservantes e, posteriormente, o substrato TMB (3,3',5,5'-tetra-metil-benzidina), que garante a reação de enzima substrato final<sup>12</sup>.

Os resultados da absorvância para a presença de anticorpos do HIV foram analisados dependendo do seu *cut-off*. As absorvâncias das amostras sobre o valor do *cut-off* menor que 0,9 foram consideradas negativas, entre 0,9-1,0, indeterminadas, e maior ou igual a 1,0, positivas.

A reprodutibilidade e a precisão para ambas as técnicas foram calculadas, sendo a reprodutibilidade medida pela absorvância de cinco replicatas em quatro ensaios diferentes de amostras negativas e positivas. Embora fosse calculada a precisão no intraensaio de repetibilidade de uma amostra negativa e outra positiva em 30 replicatas, foi calculado o coeficiente de variação dependendo do valor das absorvâncias obtidas no estudo intraplaca. Foram testados a sensibilidade, a especificidade, e os valores preditivos positivo e negativo para ambos os procedimentos comparados (plasma e PF)<sup>13,14</sup>.

O projeto foi aprovado pelo Conselho Científico do Instituto Vital Brazil, e todas as gestantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido, após orientação sobre a sua participação no projeto.



**Figura 1** – Coleta de amostra de sangue no PF.



Figura 2 – Ficha de cadastro das grávidas e o PF com a amostra impregnada.

### RESULTADOS E COMENTÁRIOS

A Tabela 1 representa o estudo realizado com quatro amostras negativas coletadas no PF e no plasma, processadas 12 vezes para medir o indicador estatístico de repetitividade. Os resultados da absorbância (homogeneização das variâncias) encontrados para as amostras negativas, em ambas as técnicas, não mostraram diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) quando aplicado o teste T de Student.

Estes resultados expressam a existência de semelhança entre os valores de absorbância na técnica para medir os anticorpos contra o vírus do HIV 1+2 no PF e no plasma sanguíneo; nestas amostras não reativas as absorbâncias são baixas na reação colorimétrica do procedimento imunológico, embora os valores dos coeficientes de variação (CV) menores do que 10%, obtidos em todos os processos de homogeneização das variâncias analisadas, demonstram os mesmos critérios de precisão para as duas técnicas.

Tabela 1 – Representação dos valores de absorbância obtidos no estudo de repetitividade do grupo de amostras não reativas

Técnicas Comparadas	Indicadores Estatísticos de Repetitividade de Amostras não Reativas				
	N	Média	DP	CV	Teste Student
1 Plasma	10	0,852	0,014	1,64	Não significativo
Papel de Filtro	10	0,754	0,022	2,92	$P < 0,05$
2 Plasma	10	1,258	0,011	0,87	Não significativo
Papel de Filtro	10	1,425	0,022	1,54	$P < 0,05$
3 Plasma	10	1,852	0,012	0,65	Não significativo
Papel de Filtro	10	1,582	0,013	0,82	$P < 0,05$
4 Plasma	10	0,852	0,021	2,46	Não significativo
Papel de Filtro	10	0,745	0,013	1,74	$P < 0,05$

O Gráfico 1 representa os valores de absorbância obtidos da repetitividade das amostras não reativas de  $N = 10$  nos diferentes dias do seguimento longitudinal (reprodutibilidade). O estudo de teste T entre os diferentes valores e o valor da absorbância inicial não mostraram diferença significativa, expressando semelhança em seus valores em função do tempo. Estes valores são representados

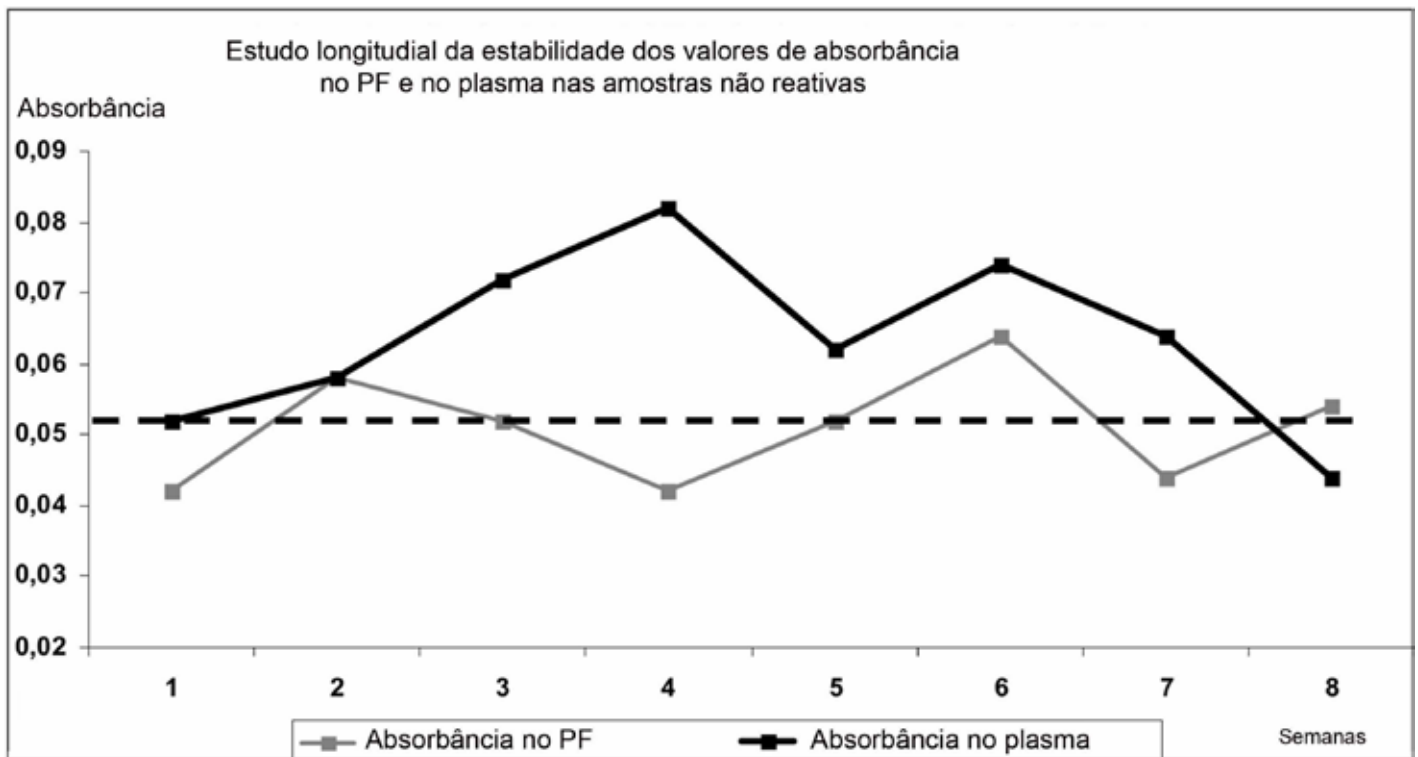
pela curva tracejada (valores do plasma) e pela curva pontilhada (valores no PF), e as retas intermitentes da mesma cor representam os valores centrais do início do estudo.

A Tabela 2 representa o estudo realizado com quatro amostras reativas com anticorpos HIV 1+2 coletadas no PF e no plasma e processadas em dez repetições para medir o indicador estatístico de repetitividade. Os resultados de absorbância encontrados para as amostras reativas para os anticorpos HIV 1+2 em ambas as técnicas não mostraram diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) quando foi aplicado o teste T de Student.

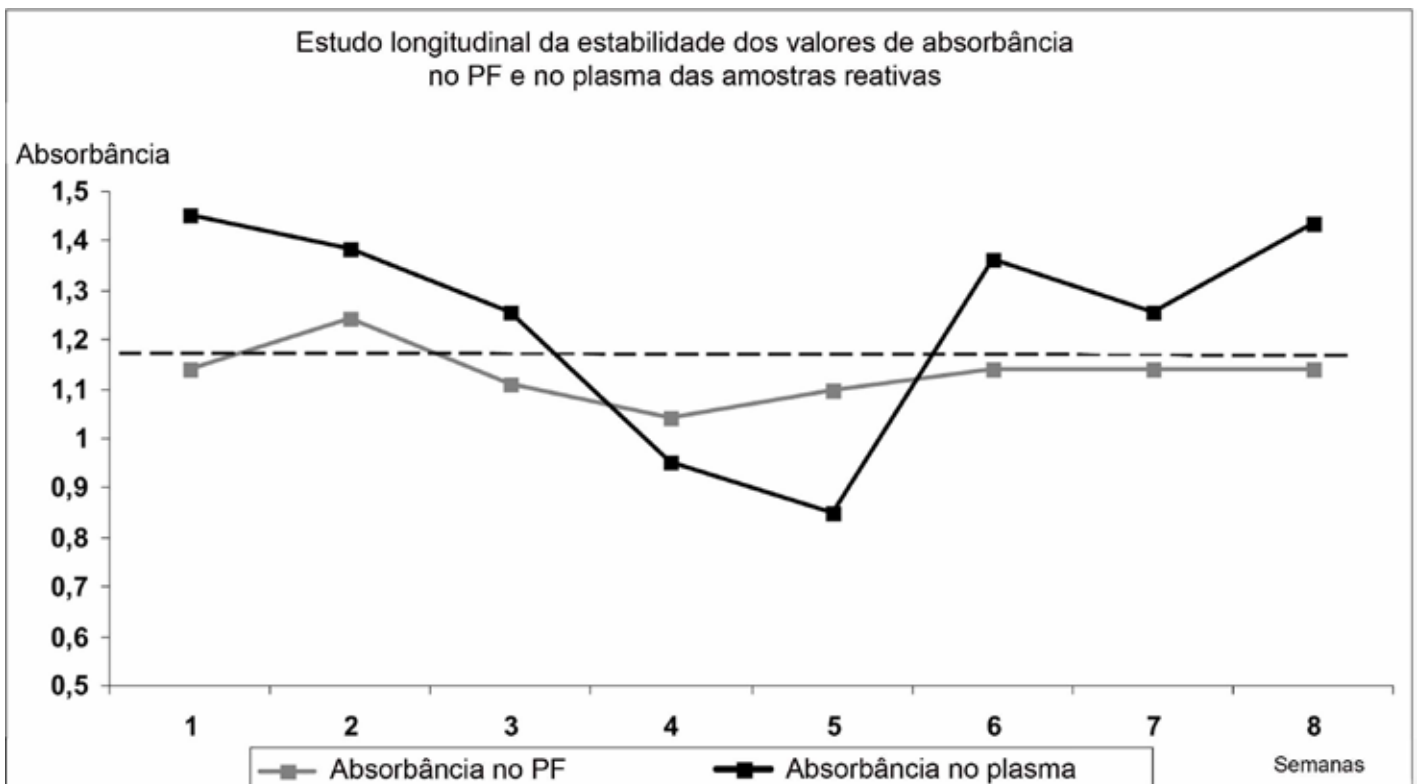
Estes resultados expressam a existência de semelhança entre os valores de absorbância na técnica para medir os anticorpos contra o HIV1+2 no PF e nas amostras do plasma sanguíneo. Também é relevante que, em amostras com valores elevados de anticorpos do HIV, os valores dos coeficientes de variação menores que os 10% obtidos em todos os processos de homogeneização das variâncias analisados demonstram os mesmos critérios de precisão para as duas técnicas.

O Gráfico 2 representa os valores de absorbância dos diferentes dias do seguimento longitudinal no estudo com as amostras que apresentaram elevado valor de anticorpos do HIV. Neste caso, o estudo de Teste T entre os diferentes valores, também não mostrou diferença significativa quando cada ponto foi comparado com seu valor inicial. A expressão de sua semelhança também foi confirmada no estudo de reprodutibilidade de seus valores em função do tempo. Estes valores são representados pela curva tracejada (valores no plasma) e a curva pontilhada (valores no PF) e, as retas intermitentes da mesma cor que representam os valores centrais do início do estudo.

A valoração analítica para o coeficiente de variação (CV) no estudo de repetitividade e reprodutibilidade para a análise dos ensaios no plasma e no PF mostraram resultados abaixo dos 10% exigidos por *European Committee for Clinical Laboratory Standards (ECCLS)*<sup>14</sup> e outras instituições reguladoras<sup>13,15,16</sup>. Nestes mesmos ensaios foi calculado o teste T para a valoração da especificidade entre ambos os métodos, obtendo-se valores para  $P > 0,05$  nos ensaios com resultados de anticorpos baixos e com valores de anticorpos elevados (positivos), que demonstraram a semelhança em ambos os procedimentos.



**Gráfico 1** – Representação dos valores da absorbância no seguimento longitudinal de 8 dias para os anticorpos HIV 1+2 de amostras não reativas.



**Gráfico 2** – Representação dos valores da absorbância no seguimento longitudinal de 8 dias para os anticorpos HIV 1+2 nas amostras reativas.

**Tabela 2** – Representação dos valores obtidos no estudo de reprodutibilidade no grupo de amostras reativas

Técnicas Comparadas	Indicadores Estatísticos de Repetitividade de Amostras não Reativas				
	N	Média	DP	CV	Teste Student
1 Plasma	12	0,042	0,004	9,52	Não significativo
Papel de Filtro	12	0,058	0,002	3,45	P < 0,01
2 Plasma	12	0,052	0,001	1,92	Não significativo
Papel de Filtro	12	0,042	0,002	4,76	P < 0,01
3 Plasma	12	0,082	0,002	2,44	Não significativo
Papel de Filtro	12	0,094	0,003	3,19	P < 0,01
4 Plasma	12	0,084	0,001	1,19	Não significativo
Papel de Filtro	12	0,094	0,003	3,19	P < 0,01

A **Tabela 3** integra os valores de sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo em ambos os procedimentos tecnológicos nas 1.142 grávidas estudadas no projeto pré-natal do Rio de Janeiro, desenhado para demonstrar a utilidade do PF na coleta do sangue e no processo de análises de qualidade da efetividade na aplicação no sistema de coleta para estudos populacionais. Nos cálculos estatísticos foi considerada a técnica no plasma como padrão-ouro.

Independentemente da triagem que foi praticada no projeto-piloto de coleta de amostras no PF e de sua comparação com os resultados obtidos no plasma em estudo paralelo terem sido realizadas em condições ótimas de pesquisa, é um fato epidemiologicamente significativo que em mais de mil grávidas estudadas, não apareceram casos falso-negativos ou falso-positivos.

Para definir se as variações nos valores de hematócrito (volume corpuscular) têm interferência nos resultados da medição da absorbância para anticorpos HIV 1+2 (ELISA), no sangue seco no PF, foi realizado um estudo isolado com cinco grupos de dez grávidas com valores diferentes de hematócrito (30, 35, 40, 45 e 50 volumes%), onde foi realizada a medida da absorbância na técnica padrão-ouro (plasma) e no PF.

O **Gráfico 3** demonstra que as amostras do sangue com variações nos valores de hematócrito submetidas a estudo dos valores de absorbância, no critério de quantidade de anticorpos para o HIV 1+2, não apresentaram diferença significativa quando se aplica o teste de comparação de valores médios (teste T) entre o resultado obtido no plasma (ouro) e a técnica no PF.

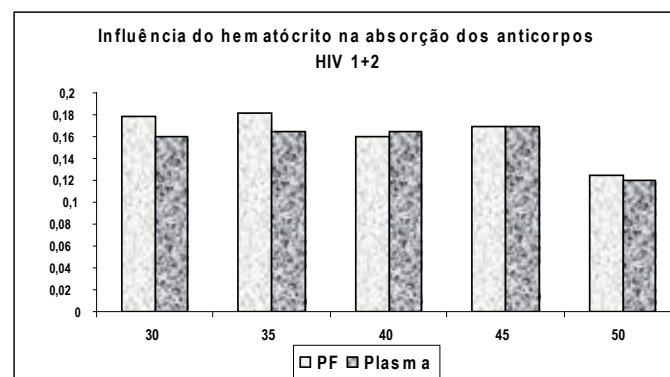
O PF para a coleta do sangue nos estudos de triagem populacional tem sido aplicado em alguns estados do Brasil para os programas de triagem pré-natal. Mato Grosso do Sul foi um dos primeiros

estados a aplicar esta metodologia para o estudo de várias doenças infecciosas<sup>21</sup>. Em Goiás, o Teste da Mamãe, como é conhecido, foi implantado desde 2003<sup>22</sup>, tem um serviço disponível em todos os 246 municípios goianos, com parceria estabelecida entre a SES, Apae de Goiânia e as secretarias municipais de saúde. Em Sergipe, durante o quadrimestre de julho a outubro de 2007, foram avaliados os resultados de testes sorológicos de 9.550 gestantes atendidas pelo Sistema Único de Saúde (SUS) de todas as regiões do estado, com detecção de anticorpos totais para sífilis e HIV, entre outros exames<sup>23</sup>.

O Plano Nacional de Redução da Transmissão Vertical do HIV e da sífilis pactuou, com estados e municípios, metas para redução escalonada e regionalizada das taxas de transmissão vertical do HIV e da sífilis. Desde o ano de 2000 foi tornada compulsória a notificação das gestantes e parturientes HIV+, porém, conforme o Boletim Epidemiológico de 2009 da Gerência Estadual do DST/Aids, 47% dos municípios do Estado do Rio de Janeiro nunca identificaram parturientes soropositivas e, caso tenham identificado, não notificaram.

Cabe informar que os autores deste estudo se interessaram apenas por realizar a comparação entre as duas formas de coleta de amostras de sangue, executando o procedimento tecnológico ELISA nas duas coletas.

Além disso, outros trabalhos devem ser realizados com um número maior de gestantes para auxiliar este estudo, visto que é uma aplicação recente da coleta de sangue seco em papel de filtro, que tem como objetivo principal facilitar o acesso das gestantes aos exames, devido a sua praticidade de coleta, armazenamento e envio das amostras.



**Gráfico 3** – Expressão da análise que demonstra a não interferência do valor corpuscular no uso do PF para marcadores biológicos (anticorpos HIV 1+2) no sangue seco no PF.

**Tabela 3** – Representação dos resultados obtidos nas análises epidemiológicas das 1.142 grávidas estudadas com anticorpos IgG e IgM para *T. pallidum* no PF.

Comparação da Qualidade entre as Técnicas no Plasma e no Papel Filtro					
N = 1.142					
Especificidade	Sensibilidade	Valor Preditivo Positivo	Valor Preditivo Negativo	Eficiência	Incidência
100%	100%	100%	100%	100%	100%
1.142 exames para anticorpos HIV 1+2 no plasma					
100%	100%	100%	100%	100%	100%



## CONCLUSÃO

A aplicação da coleta do sangue seco em PF na triagem de grávidas foi semelhante à da coleta por punção venosa, validando esta tecnologia.

## Conflito de interesse

Os autores são funcionários contratados do laboratório Bio-Marc, do Instituto Vital Brazil, órgão ligado à SESDEC (Secretaria de Estado de Saúde e Defesa Civil) do Rio de Janeiro. O projeto foi financiado totalmente pela SESDEC, como projeto-piloto no Programa de Proteção à Gestante do Estado do Rio de Janeiro (Pró-Mãe).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Pires de Albuquerque VE, Da Costa TZ, Yassuito O. Transmissão vertical do vírus da imunodeficiência humana. *Mother-to-child transmission of HIV-1. Pediatría (São Paulo)* 1997; 19: 57-64.
- Bryson YJ, Luzuriaga K, Sullivan JL, Wara DW. Proposed definitions for in utero versus intrapartum transmission of HIV-1. *N Engl J Med* 1992; 327:1246.
- Pinhata M, Diniz E. Síndrome da Imunodeficiência Adquirida. In: Manual de Neonatologia. 1ª ed. Rio de Janeiro: Revinter; 1994. p. 153-59.
- Ministério da Saúde do Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. 2004.
- Passos MRL. Dessesetologia – Doenças Sexualmente Transmissíveis (DST 5). 5ª ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica; 2005.
- Pires de Albuquerque VE, Da Costa TZ, Yassuito O. Transmissão vertical do vírus da imunodeficiência humana. *Mother-to-child transmission of HIV-1. Pediatría (São Paulo)* 1997; 19: 57-64.
- Bartlett JG, Gallant JE. Tratamento clínico da infecção pelo HIV [edição traduzida]. Baltimore: Johns Hopkins University; 2001-2002.
- Cooper ER, Charurat M, Mofenson L, Hanson IC, Pitt J, Diaz C et al. Combination antiretroviral strategies for the treatment of pregnant HIV-1-infected women and prevention of perinatal HIV-1 transmission. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2002; 29: 484-94.
- Arrivé E, Marie-Louise N, Ekouevi KD, Marie-Laure C, Thiebaut R, Masquelier B et al. Prevalence of resistance to nevirapine in mothers and children after single-dose exposure to prevent vertical transmission of HIV-1: a meta-analysis *Int J Epidemiol* 2007; 36: 1009-1021.
- CDC -Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations of the U.S. public health service task force on the use of zidovudina to reduce perinatal transmission of human immunodeficiency virus. *MMWR* 1994; 43(RR- 11).
- Sperling RA, Shapiro DE, Coombs RW, Todd JA, Herman SA, McSherry GD et al. Maternal viral load, Zidovudine treatment, and the risk of transmission of human immunodeficiency virus type 1 from mother to infant. *N Engl J Med* 1996; 335: 1621-9.
- Figueiredo R, Ayres JR. Intervenção comunitária e redução da vulnerabilidade de mulheres às DST/Aids em São Paulo, SP. *Rev Saúde Pública* 2002; 36(4 Suppl.): 96-107.
- Barbacci M, Repke JT, Chaisson RE. Routine prenatal screening for HIV infection. *Lancet* 1991; 337: 709-11.
- Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Epidemiológica. Programa Nacional de DST e aids. Subsidiado nas análises das necessidades de atenção específica à gestante. Portaria/GM nº 569, de 1/6/2000.
- Ministério da Saúde. Recomendações para profilaxia da transmissão vertical do HIV e terapia anti-retroviral em gestantes, 2002/2003. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2003.
- European Committee for Clinical Laboratory Standards (ECCLS). Guidelines for a user laboratory to evaluate and select a kit for its own use. Quantitative test; 1987.
- Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Epidemiológica. Programa Nacional de DST e Aids. A epidemia de HIV-Aids entre crianças e adolescentes. Brasil, 1991-2001. Brasília (DF); 2001.
- CDC – Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Diseases - Treatment Guidelines. Morbidity and Mortality Weekly Report 2002; 51(RR6): 1-80.
- Schleicher & Schuell Bioscience, Inc. Profile, [base de dados na internet] Disponível em: [www.bioscieregister.com/Schleicher\\_Schuell\\_BioScience\\_Inc/Supplier/sid1276.htm](http://www.bioscieregister.com/Schleicher_Schuell_BioScience_Inc/Supplier/sid1276.htm) - 55k. Acessado em: 10/05/2009.
- MBiolog (Imunoscreeeng). Rua Gama, 337, Vila Paris, Contagem, MG. CEP: 32.372-120. [www.mbioog.com.br](http://www.mbioog.com.br)
- Figueiró-Filho EA, Senefonte FRA, Lopes AHA, Morais OO, Souza Júnior VG, Maia TL et al. Frequência das infecções pelo HIV-1, rubéola, sífilis, toxoplasmose, citomegalovírus, herpes simples, hepatite B, hepatite C, doença de Chagas e HTLV I/II em gestantes do Estado de Mato Grosso do Sul. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* mar-abr 2007; 40: 181-187.
- Programa de Proteção à Gestante do Estado de Goiás. Tested a Mamae. Apae de Goiânia. [www.apaedegoiania.org.br](http://www.apaedegoiania.org.br) Goiânia – GO.
- Inagaki ADM, Oliveira LAR, Oliveira MFB, Santos RCS, Araújo RM, Alves JAB et al. Soroprevalência de anticorpos para toxoplasmose, rubéola, citomegalovírus, sífilis e HIV em gestantes sergipanas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* set-out 2009; 42(5): 532-536.

### Endereço para correspondência:

**JUAN FIDEL BENCOMO GÓMEZ**

Instituto Vital Brazil

Rua Vital Brazil Filho, 64 – Niterói – RJ

CEP: 24230-340

Tel.: (21) 7110-0112 – Ramal 157/185

E-mail: [jfbg440114@yahoo.com](mailto:jfbg440114@yahoo.com)

Recebido em: 02.12.2010

Aprovado em: 17.03.2011

# COMPORTAMENTO DE RISCO PARA HIV E DST ENTRE PROFESSORES UNIVERSITÁRIOS

## RISK BEHAVIOR TO STD AND HIV INFECTION AMONG UNIVERSITY PROFESSORS

Bruna Jacobowski<sup>1</sup>, Gustavo S Jung<sup>1</sup>, Fabiana Schuelter-Trevisol<sup>2</sup>

### RESUMO

**Introdução:** há aumento da infecção pelo HIV entre casais heterossexuais, mesmo em relações estáveis e fiéis. **Objetivo:** avaliar o comportamento sexual e de risco para doenças sexualmente transmissíveis (DST) e infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) entre professores universitários. **Métodos:** estudo transversal. Foram incluídos professores universitários da área da saúde de universidade do Sul do Brasil. Foi utilizado questionário autoaplicável e anônimo, com dados sociodemográficos, comportamentais e sexuais para infecção pelo HIV e DST, além de fatores de risco para doenças por via venosa. A análise estatística foi realizada com o uso do SPSS, versão 16.0. **Resultados:** foram estudados 184 docentes, sendo 55,4% mulheres. A média de idade foi de 40,5 (DP ± 9,1) anos. Prática de sexo anal, maior número de parceiros, maior frequência de relações sexuais e infidelidade foram associados ao gênero masculino. Dos entrevistados, 31% se declararam infelizes; nas relações conjugais, apenas 19,8% utilizavam preservativo, e nas extraconjugais, 39,3%. O uso de preservativo esteve associado à infidelidade. Entre outros fatores de risco, 39,1% compartilham objetos de higiene e uso pessoal, 3,8% submeteram-se a transfusão de sangue, 11,4% tinham tatuagem ou *piercing* e 31% sofreram acidente com material perfurocortante. **Conclusão:** a amostra estudada apresenta risco similar ao da população geral de contrair HIV e outras DST, por apresentar os fatores de risco: pouca adesão ao uso de preservativo, alta prevalência de relações extraconjugais, uso de álcool antes das relações, prática de sexo anal, múltiplos parceiros durante a vida e ainda a ocorrência de acidentes perfurocortantes, devido à vulnerabilidade da profissão.

**Palavras-chave:** docentes, comportamento sexual, população em risco, sexo sem proteção, vulnerabilidade, HIV, doenças sexualmente transmissíveis (DST)

### ABSTRACT

**Introduction:** there is increased HIV infection among heterosexual couples, even in stable and faithful relationships. **Objective:** to assess sexual behavior and risk to acquiring sexually transmitted diseases (STDs) and human immunodeficiency virus (HIV) among health area faculty working at a university in southern Brazil. **Methods:** cross-sectional study conducted between December 2009 and March 2010. Health area faculty members working at a university in southern Brazil were included in the survey. Upon approval, anonymous and self-administered questionnaire was used, which included data on socio-demographic characteristics, risk sexual behavior for exposure to HIV and STDs, as well as additional risk factors to diseases acquired intravenously. Statistical analysis was performed using the SPSS, version 16.0. **Results:** a total of 184 faculty members was studied; 55.4% were women. Mean age was 40.5 (SD ± 9.1) years. Anal sex, larger number of partners, higher sex frequency, and infidelity was associated with being male. Of the interviewees, 31% reported infidelity; only 19.8% used condoms in marital relations and 39.3% in extramarital sex. Condom use was associated with infidelity. Among other risk factors, 39.1% reported having shared personal hygiene objects, 3.8% had undergone blood transfusion, 11.4% had a tattoo or piercing, and 31% had already had work-related needlestick accidents. **Conclusion:** the sample studied is at risk of contracting HIV and other STDs because of poor or inconsistent condom use, high prevalence of extramarital relationships, alcohol use before sexual intercourses, anal sex, multiple partners, and high rates of work-related needlestick injuries.

**Keywords:** faculty, sexual behavior, population at risk, unsafe sex, vulnerability, HIV, sexually transmitted diseases (STD)

## INTRODUÇÃO

O comportamento sexual humano é definido como um complexo conjunto de comportamentos, atitudes e posicionamentos que estão em constante transformação com o passar das gerações, sendo determinado pela influência direta e constante de múltiplos fatores, tais como biológico, fisiológico, emocional, social e cultural<sup>1</sup>.

Com a introdução da antibioticoterapia, as doenças sexualmente transmissíveis (DST) foram minimizadas, e as gestações indesejadas diminuíram com a utilização de diferentes métodos anticoncepcionais. No entanto, o surgimento da síndrome da imunodeficiência adquirida (aids) e da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) trouxe, sem dúvida, nova onda de inquietude e preocupação. Com o avanço da epidemia da aids, as práticas sexuais tornaram-se importante forma de transmissão da infecção, o que implica em maior número de casos entre os que apresentam comportamento sexual de risco<sup>2</sup>.

A aids foi conhecida como uma “epidemia da imoralidade”, já que inicialmente estava associada a pessoas com comportamentos considerados desviantes, como profissionais do sexo e usuários de drogas<sup>3</sup>. Neste sentido, a história moral da aids permitiu a construção da noção de que essa seria uma “doença da rua”, dos “outros”. Mas o tênue limite entre o “eu” e o “outro” emerge a partir do momento em que a infecção ultrapassa os limites do público e privado, alcançando a sacralidade da família e do casamento<sup>4,5</sup>, tornando-se uma preocupação entre os casais com união estável<sup>4,6</sup>.

Nos dias atuais, os casamentos acontecem mais tardiamente, o início da vida sexual, mais precocemente, e a troca de parceiros sexuais, ou relações sexuais com múltiplos parceiros simultaneamente, são fatos muito frequentes. Por esse motivo, há aumento da infecção pelo HIV entre casais heterossexuais, mesmo em relações estáveis e fiéis. Desta forma, medidas preventivas acabam não sendo adotadas por esses indivíduos, que não se consideram integrantes de grupo de risco<sup>7-9</sup>.

Além disso, a infidelidade é fato importante para ser considerado quanto à prevenção do HIV e de outras DST. Estudos revelam que a relação conjugal não é tida como perigosa, por ser a relação sexual lícita, que está sob proteção da casa, sendo o uso do preservativo apenas utilizado quando vinculado à contracepção<sup>10</sup>.

<sup>1</sup> Acadêmicos do Curso de Medicina Universidade Sul de Santa Catarina.

<sup>2</sup> Farmacêutica-Bioquímica, Especialista em Farmácia Clínica e Farmacoterapia, Mestre em Saúde Coletiva. Doutora em Ciências da Saúde. Professora do Curso de Graduação em Medicina da Universidade do Sul de Santa Catarina.

Não foram encontrados na literatura estudos que verificassem atitudes preventivas frente às DST e ao HIV (por transmissão sexual) entre professores universitários da área da saúde. Não há evidências que comprovam se a população em estudo apresenta uma menor suscetibilidade em relação à população geral, já que possui o conhecimento técnico-científico a respeito da transmissibilidade e epidemiologia dessas doenças. Além disso, podem estar expostos a outros riscos que não o de transmissão sexual, pela insalubridade inerente à profissão.

## OBJETIVO

Avaliar o comportamento sexual e de risco para aquisição de DST e HIV entre os professores da área da saúde de uma universidade no sul do Brasil.

## MÉTODOS

Foi realizado estudo epidemiológico com delineamento transversal entre dezembro de 2009 e março de 2010. A população em estudo foi composta por professores universitários que atuam na área de Ciências Biológicas e da Saúde da graduação e pós-graduação: Medicina, Odontologia, Fisioterapia, Psicologia, Nutrição, Educação Física, Biologia, Enfermagem, Farmácia e Mestrado em Ciências da Saúde.

Considerou-se a população total desta área ser de 339 professores, com prevalência de 5% de relações extraconjugais sem uso de preservativos<sup>5</sup>, com margem de erro de 2%, resultando em 125 participantes que deveriam ser entrevistados para nível de confiança de 95%.

Os dados foram obtidos utilizando-se questionário autoaplicável, após anuência do termo de consentimento, elaborado pelos autores, para aplicação entre os professores universitários participantes. O questionário foi composto apenas por questões fechadas, as quais foram agrupadas e codificadas.

Os questionários foram entregues pelos pesquisadores a cada indivíduo por diferentes técnicas de abordagem: convite e entrega individual, durante reuniões de congregação de curso, deixados nas coordenações e sala dos professores do *campus* universitário, sendo a seleção feita de forma aleatória. Os questionários não possuíam identificação nominal dos sujeitos. Para proporcionar total anonimato em relação aos questionamentos, caixas lacradas foram distribuídas nas dependências da universidade para a coleta dos questionários, sendo entregues e arquivados separados dos termos de consentimento, com o intuito de manter o sigilo quanto à identificação dos sujeitos e fidedignidade das respostas dadas.

O instrumento continha 37 perguntas com dados sociodemográficos (idade, gênero, religião, situação conjugal), características comportamentais e sexuais (uso de álcool, drogas, comportamento e práticas sexuais, número de parceiros e frequência de relações sexuais, uso de preservativo, infidelidade, história pregressa de sintomas genitais e DST), além de informações adicionais sobre características e fatores de risco para aquisição de doenças por via venosa ou inerentes à atuação profissional (ter tatuagem ou *piercing*, compartilhamento de objetos de higiene pessoal, transfusão de sangue, acidente com perfurocortante, vacina contra hepatite B e triagem para HIV).

Para fins de análise estatística para associação entre variáveis, alguns dados foram agrupados em duas categorias. O comportamento sexual foi categorizado em heterossexual e homo/bissexual. As práticas sexuais foram reorganizadas entre aquelas que incluíam prática de sexo anal e as demais.

O uso de preservativo foi considerado quando utilizado sempre, em todas as relações sexuais. As demais alternativas respondidas (uso às vezes, uso para a ejaculação ou não uso) foram agrupadas como não utilização.

A frequência de relações sexuais foi agrupada de forma dicotômica: 0-4 relações mensais e 5/+. O número de parceiros no último ano e em toda a vida foi reorganizado, transformando as quatro opções de resposta em apenas duas, de forma a unir os menores e os maiores valores: parceiros no último ano de 0-1 e 2/+, parceiros durante a vida de 1-5 e 6/+.

Foi utilizado o *software* Epidata versão 3.1 para a digitação dos dados e a análise estatística foi realizada com o uso do *Statistic Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 16.0. As variáveis qualitativas foram descritas em termos de valores absolutos e relativos, e as variáveis quantitativas, por medidas de tendência central e dispersão. Para se verificar associação entre as variáveis categóricas, foi utilizado teste de qui-quadrado de Pearson ou teste exato de Fisher; e Anova de uma via ou teste de *t Student* para comparação entre médias, quando apropriado, com intervalo de confiança de 95%.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Unisul, sob registro 09.407.4.01.III, em 4 de novembro de 2009.

## RESULTADOS

Participaram do presente estudo 184 professores e, entre os convidados, apenas 0,5% se recusaram a participar. Entre os participantes 55,4% eram mulheres. A média de idade foi de 40,5 (DP ± 9,1) anos, variando entre 22 e 66 anos. Do total, 73,9% declararam-se católicos; 62,5%, casados; e 69,1%, com filhos. A **Tabela 1** apresenta as características sexuais e comportamentais dos participantes do estudo.

Quanto ao consumo de álcool, 78,3% afirmaram o uso, sendo que 58,3% responderam consumir socialmente e 35,9% dos entrevistados afirmaram consumir antes das relações sexuais. Houve associação estatisticamente significativa entre o gênero masculino e o uso de álcool ( $p = 0,01$ ). O consumo de outras drogas foi afirmado por 31,5% dos participantes, sendo as mais frequentemente reportadas o cigarro (25%), a maconha (15,2%), a cocaína (2,7%), entre outras, e 3,3% continuavam utilizando essas substâncias atualmente.

Quando questionados sobre infidelidade, 31% afirmaram já ter tido relações sexuais extraconjugais, sendo que 22,1% responderam que já tiveram alguma(s) vez(es) no passado, 7,2% afirmaram ter relações extraconjugais raramente e 1,7%, frequentemente. Conforme apresentado na **Tabela 1**, os homens foram mais infiéis que as mulheres.

A **Figura 1** mostra o uso de preservativo nas relações conjugais e extraconjugais. Nas relações conjugais, apenas 19,8% utilizavam preservativo em todas as relações sexuais, e nas extraconjugais esse percentual subiu para 39,3%. O uso de preservativo teve associação com a infidelidade.



**Tabela 1** – Características sexuais e comportamentais dos professores universitários.

Características	Total	Homens n = 82 (%)	Mulheres n = 102 (%)	p*
<i>Situação conjugal</i>				
Solteiro	25	8 (9,8)	17 (16,7)	0,3
Casado	115	57 (69,5)	58 (56,9)	
Mora com companheiro	27	10 (12,2)	17 (16,7)	
Separado ou divorciado	14	7 (8,5)	7 (6,9)	
Outras	3	–	3 (3,0)	
<i>Comportamento sexual (n = 177)</i>				
Heterossexual	168	72 (93,5)	96 (96,0)	0,5**
Homossexual	6	3 (3,9)	3 (3,0)	
Bissexual	3	2 (2,6)	1 (1,0)	
<i>Práticas sexuais (n = 173)</i>				
Sexo vaginal	18	3 (3,8)	15 (15,8)	< 0,001**
Vaginal e oral	75	26 (33,3)	49 (51,5)	
Vaginal e anal	3	2 (2,6)	1 (1,1)	
Oral e anal	2	–	2 (2,2)	
Todas	75	47 (60,3)	28 (29,4)	
<i>Parceiro sexual (n = 180)</i>				
Fixo	142	56 (69,1)	86 (86,9)	0,01
Casual	6	3 (3,7)	3 (3,0)	
Ambos	32	22 (27,2)	10 (10,1)	
<i>Relação sexual por mês (n = 179)</i>				
Nenhuma	8	–	8 (8,1)	0,005**
1-4	50	20 (24,7)	30 (30,3)	
5-8	72	42 (51,9)	30 (30,3)	
> 8	49	19 (23,4)	31 (31,3)	
<i>Parceiros sexuais no último ano (n = 181)</i>				
Nenhum	6	2 (2,5)	4 (4,0)	0,13**
1	150	63 (77,8)	87 (87,0)	
2	16	9 (11,1)	7 (7,0)	
3 ou mais	9	7 (8,6)	2 (2,0)	
<i>Parceiros sexuais na vida (n = 181)</i>				
1	30	2 (2,5)	28 (28,0)	< 0,001**
2-5	63	19 (23,5)	44 (44,0)	
6-10	27	13 (16,0)	14 (14,0)	
> 10	61	47 (58,0)	14 (14,0)	
<i>Relação extraconjugal (n = 181)</i>				
Sim	56	43 (53,1)	13 (13,0)	< 0,001
Não	125	38 (46,9)	87 (87,0)	

\*qui-quadrado ou teste exato de Fisher.

\*\* as variáveis foram reagrupadas em duas categorias para realização do teste de associação.

Questionou-se sobre história pregressa de sinais e sintomas geniturinários, e 46,2% já apresentaram algum tipo de manifestação clínica. Houve associação estatisticamente significativa entre sintomas genitais e o gênero feminino ( $p < 0,001$ ) – 18,3% entre homens *versus* 68,6% entre mulheres; e entre sintomas genitais e relação extraconjugal ( $p = 0,04$ ). A **Figura 2** apresenta os sinais e sintomas mais frequentemente reportados. Entre os homens, as manifestações genitais mais frequentes foram prurido (46,7%) e dor (26,7%); entre as mulheres, as queixas mais relatadas foram corrimento (77,1%) e prurido (68,6%).

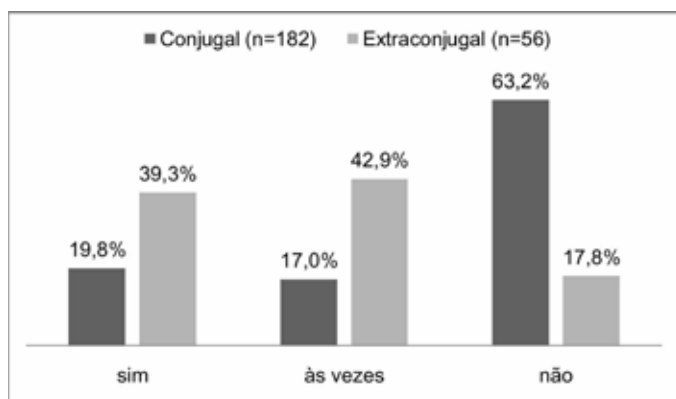
Além disso, 17,4% dos entrevistados afirmaram já ter apresentado algum tipo de DST, não havendo diferença entre os gêneros. Houve associação estatisticamente significativa entre maior frequência de relações sexuais mensais e ocorrência de DST ( $p = 0,04$ ). As DST reportadas são apresentadas na **Figura 3**. Entre os homens, as DST mais frequentemente reportadas foram gonorreia (42,8%)

e HPV ou condiloma (35,7%), enquanto nas mulheres foram HPV ou condiloma (33,3%) e clamídia (22,2%).

Também se questionou sobre comportamentos e práticas que possibilitem infecção por doenças de transmissibilidade parenteral, além da via sexual. Os dados relativos a essas informações são apresentados na **Tabela 2**. Dos 59,8% participantes que já compartilharam objetos de uso pessoal, como alicates de unha, lâmina de barbear e escova dental, 25,5% compartilharam com o cônjuge e 14,1%, com estranhos. As mulheres apresentaram maior percentual de tatuagem ou *piercing* do que os homens, mas eles tiveram mais acidentes com perfurocortante e procura por testagem anti-HIV.

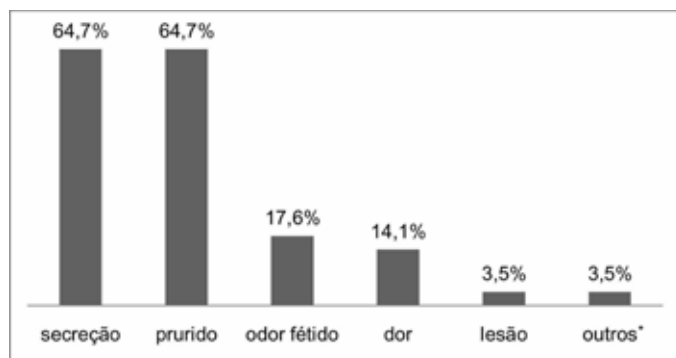
Dos que já realizaram teste anti-HIV, 98,5% tiveram o exame com resultado não reagente e os demais desconheciam o resultado. Houve associação entre gênero masculino e maior procura por testagem anti-HIV. Quando questionados a respeito do motivo de realizar a triagem para HIV, 23,4% foram por acompanhamento pré-

-natal, 22,6% após acidente com perfurocortante, 13,9% para conhecer o *status* sorológico por exposição de risco, 13,9% realizaram anti-HIV para doação de sangue e os demais, por outros motivos. Quanto à vacina para hepatite B, 71,4% dos professores participantes do estudo receberam as três doses de imunização.



p = 0,02.

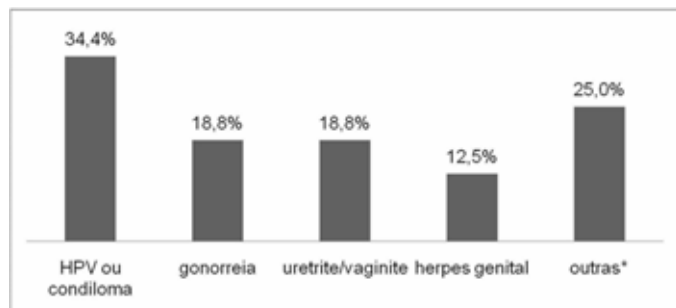
**Figura 1** – Uso de preservativo nas relações conjugais e extra-conjugais.



\*Outros: uretrite, manchas.

Alguns participantes reportaram mais de um sinal ou sintoma genital.

**Figura 2** – Manifestações da esfera genital reportadas pelos professores universitários.



\*Outras: sífilis, candidíase, hepatite B.

Alguns participantes reportaram mais de uma DST.

**Figura 3** – DST reportadas pelos professores universitários.

**Tabela 2** – Características e fatores de risco para aquisição de doenças por via venosa.

Fatores de Risco	Total	Homens n = 82 (%)	Mulheres n = 102 (%)	p*
Compartilha objetos pessoais (n = 182)				
Sim	72	28 (38,4)	44 (44,0)	0,18
Não	110	54 (65,9)	56 (56,0)	
Transusão de sangue (n = 182)				
Sim	7	3 (3,7)	4 (4,0)	0,6**
Não	175	78 (96,3)	97 (96,0)	
Tatuagem ou <i>piercing</i> (n = 182)				
Sim	21	4 (4,9)	17 (17,0)	0,009**
Não	161	78 (95,1)	83 (83,0)	
Acidente com perfurocortante (n = 183)				
Sim	57	41 (50,6)	16 (15,7)	< 0,001
Não	126	40 (49,4)	86 (84,3)	

\*qui-quadrado.

\*\*teste exato de Fisher.

## DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo sugerem que os professores universitários pesquisados apresentam a mesma vulnerabilidade em relação à população geral, apesar de possuir o conhecimento técnico-científico a respeito da transmissibilidade e epidemiologia das DST e do HIV. Além disso, há risco adicional de infecção por doenças de transmissão por via venosa, pela insalubridade inerente à profissão.

As práticas sexuais de alto risco incluem o sexo anal e a relação vaginal sem preservativos<sup>11</sup>. Houve associação estatisticamente significativa entre prática sexual anal e gênero (p < 0,001). Os dados revelam que homens relataram mais a prática de sexo anal do que as mulheres (59,7% versus 30,5%). Esses dados são compatíveis com outros estudos já realizados. Estudo realizado na cidade de Pelotas, em 2002, mostrou prevalência de sexo anal 2,5 vezes maior em homens, quando comparados às mulheres<sup>12</sup>. Outro trabalho relata percentual que varia de 6,7 a 25,9% para a prática de sexo anal por mulheres de diferentes populações,<sup>11</sup> e ambos presumem que pessoas que praticaram sexo anal apresentaram maior chance de ter sintomas de DST do que aquelas que não praticaram, especialmente pelo sangramento que essa prática pode ocasionar e pela transferência de microrganismos do ânus para a vagina<sup>11,12</sup>.

Em relação ao número de parceiros durante a vida, houve diferença estatisticamente significativa (p < 0,001) com o gênero, já que os homens tiveram maior número de parceiros sexuais do que as mulheres. Estudo similar, realizado por Silveira, em 2004, revela que 72,8% dos indivíduos estudados referiram ter apenas um parceiro nos últimos 3 meses, 7% tiveram dois ou mais parceiros nos últimos 3 meses e esta prevalência foi significativamente maior nos homens (13,1%) do que nas mulheres (2,1%) (p <

0,001)<sup>12</sup>. Outro estudo brasileiro que comparou práticas sexuais de homens e mulheres, em 1998 e 2005, afirmou que a proporção de homens que referiu mais de um parceiro sexual foi aproximadamente cinco vezes maior que a das mulheres nos dois períodos<sup>13</sup>.

Esse fato pode ser explicado por uma série de fatores culturais que levam à maior promiscuidade masculina, como iniciação sexual precoce, normalmente durante a fase de transição entre criança e adulto, como forma de afirmar sua heterossexualidade<sup>14</sup>, maior número de parceiras, algumas vezes múltiplas e simultâneas<sup>14</sup>. Alguns autores argumentam que a expressão da sexualidade masculina é vista como mais intensa que a da mulher e também como incontrollável. Portanto, necessita de satisfação imediata, à custa de manter a honra masculina, bem como a prática de relação sexual com profissionais do sexo, que constituem os principais fatores que levam os homens a terem um maior número de parceiros durante a vida e maior frequência de relações sexuais<sup>15</sup>.

A frequência de relações extraconjugais foi de 31% entre os participantes do presente estudo, sendo que apenas 37% afirmaram usar preservativos durante relação sexual extraconjugal. Segundo recente pesquisa do Ministério da Saúde, que avaliou o comportamento, as atitudes e práticas da população brasileira, relacionadas às DST e aids, cerca de 7,1 milhões (16%) de homens e mulheres (dos 43,9 milhões que vivem com companheiros) admitiram fazer sexo fora do casamento. Desses, 63% admitiram não usar preservativos nas relações extraconjugais<sup>16</sup>. Portanto, os resultados encontrados demonstram que a população em estudo apresentou prevalência de relações extraconjugais maior do que a média nacional (31% *versus* 16%), e o percentual de não uso de preservativo nessas relações foi igual. Além disso, o presente estudo verificou que o gênero masculino teve associação com a ocorrência de relações extraconjugais ( $p < 0,001$ ), assim como mostram os dados da pesquisa nacional: os homens são mais infiéis que as mulheres: 21% (4,7 milhões) *versus* 11% (1,8 milhão)<sup>16</sup>.

Alguns trabalhos evidenciaram que a fidelidade nos relacionamentos comumente é exigida apenas pelas mulheres. Estudo realizado com um grupo de motoristas de ônibus da Cidade de São Paulo mostrou que, na opinião dessa amostra, a infidelidade masculina é tida como natural, uma vez que, segundo os motoristas estudados, o homem tem mais necessidade de sexo do que a mulher<sup>15</sup>. Ainda para esses autores, a fidelidade masculina pode ser vista como algo que compromete a imagem de ser homem, porque pode ser entendida como a perda do interesse sexual. Já a infidelidade feminina pode ser vista como um sinal da deficiência do parceiro<sup>14,15</sup>.

Alguns estudos mostraram que o uso de preservativos masculinos nas relações estáveis leva a uma situação de desconfiança entre o casal, por funcionar como um elemento questionador de fidelidade, sentimento importante, definidor e idealizador do casamento<sup>10,11</sup>. Além disso, a literatura mostra que intervenções com o intuito de prevenção contra DST/HIV tendem a ser menos efetivas com parceiros fixos do que com ocasionais<sup>10,15,17</sup>. Contudo, a prevenção mediante o uso de preservativos em todas as relações sexuais ainda é a medida mais eficaz e preconizada para o controle da disseminação das doenças por via sexual<sup>15,18</sup>. Sua utilização remete à necessária mudança na vida sexual dos indivíduos, já que a maioria não tem o hábito de utilizá-lo<sup>9,19</sup>.

Em 2008 havia, em todo o mundo, 33,4 milhões de pessoas portadoras de HIV. No mesmo ano, o número de novas infecções girou em torno de 2,7 milhões e 2 milhões de óbitos foram relacionados a tal doença<sup>20</sup>. No Brasil, de 1980 a junho de 2009, foram identificados 544.846 novos casos de AIDS, sendo que no ano de 2008 a taxa de incidência foi de 18,2/100.000 habitantes, sendo principalmente atribuída às relações sexuais sem preservativos<sup>21</sup>. No presente estudo, apenas 19,8% dos entrevistados afirmaram utilizar preservativos em todas as relações sexuais com parceiro fixo. Segundo o estudo realizado no Brasil, entre 2005 e 2008 apenas 17,1% declararam usar preservativo de forma consistente em união estável<sup>10</sup>. Já o Ministério da Saúde divulgou, em 2009, que 19,4% das pessoas usaram preservativo em todas as relações sexuais, nos últimos 12 meses, com parceiros fixos<sup>16</sup>.

Portanto, os resultados encontrados neste estudo são concordes com as pesquisas nacionais. Houve associação entre o uso de preservativo nas relações extraconjugais, quando comparado às relações conjugais ( $p = 0,02$ ), ou seja, há maior preocupação com a transmissão de doenças por via sexual ou gravidez indesejada em relações com parceiro casual, apesar de a prevalência de uso ainda ser baixa (39,3%).

A relação entre uso de álcool antes ou durante o ato sexual na população geral é comumente justificada pela crença de que o consumo desta substância poderia favorecer um desempenho sexual desejável, diminuiria a ansiedade e inibição, e conseqüentemente, aumentaria o prazer. Todavia, a intoxicação pelo álcool no contexto supracitado favorece a diminuição na capacidade de discernir os riscos associados à infecção pelo HIV, o que dificulta a negociação e, conseqüentemente, o uso do preservativo, facilitando, assim, a disseminação do vírus HIV e de outras DST. Sabe-se que indivíduos alcoolizados têm mais chance de praticar sexo sem preservativo do que indivíduos não alcoolizados<sup>22</sup>. A característica do beber em grande quantidade, episódico ou não, parece ser um diferencial no engajamento de comportamento sexual de risco para infecção pelo HIV. Pessoas que bebem muito têm mais chance de se envolverem em comportamento sexual de risco do que pessoas que não apresentam esse padrão de consumo<sup>22</sup>.

No presente estudo houve associação estatisticamente significativa entre o gênero masculino e o uso de álcool ( $p = 0,01$ ) e 35,9% dos entrevistados afirmaram consumir álcool antes das relações sexuais. Pesquisa realizada pelo Centro Brasileiro de Análise e Planejamento, no período entre 1997 e 1998, verificou que, habitualmente, 14,1% dos entrevistados sexualmente ativos usavam bebidas alcoólicas antes das relações sexuais, percentual mais elevado nos homens (20,3%), do que nas mulheres (7,2%)<sup>23</sup>. Dos indivíduos que costumam tomar bebidas alcoólicas antes de fazer sexo, 13,8% não usam preservativos, ou seja, estão expostos ao risco de infecção pelo HIV<sup>23</sup>.

As DST são fatores essenciais à aquisição e transmissão do HIV, assim como de outros vírus também sexualmente transmissíveis, como a hepatite B (HBV) e o papilomavírus humano (HPV)<sup>24</sup>. No presente estudo, sinais e sintomas na esfera genital foram reportados por 46,2% dos participantes, sendo as mulheres mais suscetíveis que os homens (68,6% *versus* 18,3%). Os dados são compatíveis com a literatura, que apresentou prevalência similar<sup>24</sup>.

Entre os homens, os sintomas mais frequentemente reportados foram prurido (46,75) e dor (26,7%). A alta prevalência de prurido pelos entrevistados pode ser sugerida pela baixa taxa global de homens circuncidados no País (25%)<sup>25</sup>, o que pode dificultar a higiene adequada do pênis, acumulando secreção e urina, e como consequência, provocar a ocorrência de prurido (coceira). A dor pode estar associada à uretrite inespecífica ou outra causa fisiopatológica. Portanto, apesar de sugestivos, os achados não podem ser considerados como existência de DST.

Observou-se que as mulheres referiram mais corrimento do que os homens (77,1%), possivelmente por alterações hormonais, fisiológicas e de flora vaginal<sup>12,24,25</sup>, além de a maioria das DST que provoca corrimento ser mais comumente assintomática em homens do que em mulheres<sup>12</sup>. Também houve associação estatisticamente significativa entre sintomas genitais e relação extraconjugal ( $p = 0,04$ ), frequentemente mais presentes em pessoas com um maior número de parceiros<sup>11,12,24</sup>.

Houve associação estatisticamente significativa entre maior frequência de relações sexuais mensais e a ocorrência de DST ( $p = 0,04$ ). Diversos estudos evidenciaram diferença significativa quanto ao número de parceiros e frequência de relações sexuais e maior prevalência de DST<sup>12,26,27</sup>. A literatura mostra que, entre indivíduos que referiram dois ou mais parceiros sexuais nos 12 meses anteriores à entrevista e os que referiram ter tido relações sexuais com seis ou mais parceiros na vida, referiram maior ocorrência de DST, com prevalência de 33,0% entre as mulheres e de 23,8% para os homens<sup>26</sup>. Apesar de as mulheres serem especialmente vulneráveis às DST por características biológicas como extensa superfície vaginal exposta ao sêmen e mucosa vaginal friável<sup>11</sup>, no presente estudo não foi encontrada diferença quanto ao gênero com relação à história pregressa de DST.

Simultaneamente ao surgimento da aids, foram sendo relatados casos de profissionais de saúde que adquiriram o HIV em consequência de sua atividade profissional<sup>28</sup>. O ambiente de trabalho hospitalar tem sido considerado insalubre, por agrupar pacientes portadores de diversas enfermidades infectocontagiosas e viabilizar muitos procedimentos que oferecem riscos de acidentes e doenças para os trabalhadores da saúde<sup>29</sup>. Apesar de diferentes estudos realizados concluírem que o risco de infecção pelo HIV após exposição percutânea por sangue infectado, é menor que 1%<sup>30</sup> e após exposição de mucosas, de 0,09%<sup>29</sup>, ou seja, um risco relativamente baixo, os profissionais de saúde estão mais expostos ao risco de adquirir, e por consequência, transmitir não somente o HIV como outros agentes biológicos, devido à vulnerabilidade de sua ocupação e, principalmente, se não forem realizados os cuidados pré e pós-exposição<sup>28,30</sup>. Como parte da população em estudo, além de docente, é também profissional de saúde, há o risco de aquisição de doenças por via venosa, tais como os acidentes com material biológico contaminado.

Do total de entrevistados, 31% afirmaram histórico de acidente com perfurocortante, havendo associação ao gênero masculino ( $p < 0,001$ ). Apesar de o presente estudo não ter identificado cada participante de acordo com sua ocupação, com o intuito de manter o anonimato, a associação entre acidentes perfurocortantes e o gênero masculino pode estar ligada à maior prevalência de homens

entre médicos com especialidade em cirurgia e cirurgiões-dentistas participantes do estudo. Estudo realizado no Distrito Federal evidenciou prevalência de acidentes com perfurocortantes semelhante entre funcionários de um hospital<sup>31</sup>. Levando em consideração que nem todos os profissionais que participaram do presente estudo realmente atuam de forma ativa em ambiente hospitalar, os dados são compatíveis com a literatura. Sorologia anti-HIV foi realizada por 74,4% dos professores universitários, e os homens foram os que mais se submeteram a triagem (82,9% versus 67,6% das mulheres,  $p = 0,02$ ). Apesar dos vários motivos para a realização de triagem sorológica do HIV, destaca-se que 13,9% dos entrevistados se submeteram ao teste por exposição ao risco de infecção, não por causa acidental.

O vírus da hepatite B, diferentemente do HIV e do vírus hepatite C, apresenta alta capacidade infectante (30 casos positivos em 100 acidentes)<sup>32</sup>. Dos participantes da pesquisa, 71,4% possuíam todas as doses da vacina contra hepatite B, taxa compatível com a encontrada na literatura<sup>32</sup>.

Além do risco ocupacional, algumas práticas e comportamentos podem deixar os indivíduos vulneráveis à infecção por HIV e hepatites B e C<sup>32</sup>. Foram evidenciados 3,8% de história pregressa de transfusão sanguínea, 11,5% de tatuagem ou *piercing*, e 59,8% compartilhavam objetos de uso pessoal e higiene, sendo 14,1% com pessoas desconhecidas. Alguns fatores tiveram associação estatisticamente significativa quanto ao gênero. As mulheres apresentaram quatro vezes mais tatuagens ou *piercings* ( $p = 0,009$ ).

A dificuldade das pessoas relatarem experiências íntimas foi um desafio para a realização deste estudo. Levando-se em conta essa dificuldade, optou-se pela utilização de um questionário autoaplicado com questões fechadas e urnas totalmente lacradas, como forma de manter o sigilo absoluto da identidade dos participantes. O questionário também apresentou problemas de preenchimento, como questões mal respondidas ou deixadas em branco. No presente estudo, essas perdas estiveram dentro do aceitável (2,7%). Além disso, não há instrumento padronizado e validado sobre essa abordagem, determinando que os autores do presente estudo criassem o questionário com base em estudos similares.

Outra limitação é o viés de memória, que pode ocorrer quando o desfecho não é atual, como sintomas genitais ou DST e uso de preservativo em todas as relações sexuais. Os resultados também podem ter sido afetados pelo viés de informação do entrevistado. Supõe-se que mulheres subestimem mais o seu comportamento sexual, tanto com relação à prática de sexo anal, como com relação ao número de parceiros e relações extraconjugais. Os homens, ao contrário, poderiam superestimar as informações de comportamento sexual em relação às práticas já realizadas e número de parceiras, porém a insegurança em responder de forma positiva às relações extraconjugais e ao uso de preservativos podem ter enviesado a associação ao desfecho.

Apesar disso, o estudo destaca-se pela originalidade e pelo ineditismo, por não haver outros estudos com a mesma população e que tenham investigado desfechos semelhantes na literatura atual, realizada com a população em geral.

## CONCLUSÃO

A população em estudo apresenta a mesma suscetibilidade em relação à população geral, apesar de possuir o conhecimento técnico-científico a respeito da transmissibilidade e epidemiologia das DST e do HIV. Os fatores de risco associados a essa suscetibilidade são: baixa adesão aos preservativos, principalmente durante relações extraconjugais, práticas sexuais de risco, como sexo anal, uso de álcool antes do coito, sexo com múltiplos parceiros e alta prevalência de acidentes com materiais perfurocortantes.

## Conflito de interesses

Os autores declaram não haver nenhum tipo de conflito de interesse no desenvolvimento do estudo.

Esse estudo é resultado de um Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Medicina na Universidade do Sul de Santa Catarina. Não há fontes de financiamento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Gir E, Nogueira MS. Sexualidade humana na formação do enfermeiro. *Rev Lat Am Enfermagem* 2000; 8(2): 33-40.
- Trevisol FS, Silva MV. HIV frequency among female sex workers in Imbituba. *Braz J Infect Dis* 2005; 9(6): 500-5.
- Guilhem D. *Escravos do Risco: bioética, mulheres e Aids*. Brasília: Editora UnB/Finatec; 2005.
- Silva GM. The meaning of fidelity and Aids prevention strategies among married men. *Rev Saúde Pública* 2002; 36(4): 40-9.
- Freitas D, Guilhem D, Maia C. Vulnerability to HIV/AIDS in married heterosexual people or people in a common-law marriage. *Rev Saúde Pública* 2008; 42(2): 242-8.
- Knauth DR. O vírus procurado e o vírus adquirido: a construção da identidade entre mulheres portadoras do vírus da Aids. *Rev Estudos Feministas* 1997; 5(2): 291-300.
- Andrade SMO. Opinião sobre AIDS e Possíveis Mudanças de Comportamento de Heterossexuais Masculinos. *Cad Saúde Pública* 1991; 7(1): 45-68.
- Silveira MF, Béria JU, Horta BL, Tomasi E. Self-assessment of STD/AIDS vulnerability among women, Brazil. *Rev Saúde Pública* 2002; 36(6): 670-7.
- Momas I, Helal H, Pretet S, Marsal L, Poinard R. Demographic and behavioral predictors of knowledge and HIV seropositivity: results of a survey conducted in three anonymous and free counseling and testing centers. *Eur J Epidemiol* 1997; 13(3): 255-60.
- Madureira VSF, Trentini M. Relações de poder na vida conjugal e prevenção da AIDS. *Rev Bras Enferm* 2008; 61(5): 637-42.
- Silveira MF, Beria JU, Horta BL, Tomasi E, Victora CG. Factors associated with risk behaviors for sexually transmitted disease/AIDS among urban Brazilian women: a population-based study. *Sex Transm Dis* 2002; 29(9): 536-41.
- Carret MLV, Fassa AG, Silveira DS, Bertoldi AD, Hallal PC. Sexually transmitted diseases symptoms in adults: prevalence and risk factors. *Rev Saúde Pública* 2004; 38(1): 76-84.
- Barbosa RM, Koyama MAH. Sexual behavior and practices among men and women, Brazil 1998 and 2005. *Rev Saúde Pública* 2008; 42(1): 21-33.
- Gomes R, Nascimento EF. Public health research output related to males and health: a bibliographical review. *Cad Saúde Pública* 2006; 22(5): 901-11.
- Guerrero I, Ayresb JRCM, Hearstc N. Masculinity and vulnerability to HIV among heterosexual men in São Paulo, Brazil. *Rev Saúde Pública* 2002; 36(4): 50-60.
- Ministério da Saúde. Notícias. Disponível em: [http://portal.Saude.gov.br/portal/aplicacoes/noticias/default.cfm?pg=dspDetalheNoticia&id\\_area=124&CO\\_NOTICIA=10326](http://portal.Saude.gov.br/portal/aplicacoes/noticias/default.cfm?pg=dspDetalheNoticia&id_area=124&CO_NOTICIA=10326). Acessado em: 12/07/2009.
- da Silveira MF, dos Santos IS, Béria JU, Horta BL, Tomasi E, Victora GC. Factors associated with condom use in women from an urban area in southern Brazil. *Cad Saúde Pública* 2005; 21(5): 1557-64.
- Carreno I, Costa JSD. Use of condoms during sexual intercourse: a population-based study. *Rev Saúde Pública* 2006; 40(4): 720-6.
- UNAIDS. Report on the global AIDS epidemic 2009. Disponível em [http://data.unaids.org/pub/Report/2009/JC1700\\_Epi\\_Update\\_2009\\_en.pdf](http://data.unaids.org/pub/Report/2009/JC1700_Epi_Update_2009_en.pdf). [10 mar 2010].
- Brasil. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico – Aids e DST. Ano VI (1), 2010. Disponível em [www.aids.gov.br](http://www.aids.gov.br) [15 mai 2010].
- Cardoso LRD, Malbergier A, Figueiredo TFB. Alcohol consumption as a risk factor in the transmission of STD/HIV/Aids. *Rev Psiq Clín* 2008; 35(1): 70-5.
- Barbosa Júnior A, Szwarcwald CL, Pascom ARP, Souza Júnior PB. Trends in the AIDS epidemic in groups at highest risk in Brazil, 1980-2004. *Cad Saúde Pública* 2009; 25(4): 727-37.
- Silva WAE. Male circumcision and HIV heterosexual Transmission. *Rev Saúde Pública* 2003; 37(5): 678-86.
- Shepherd J, Weston R, Peersman G, Napuli IZ. Cervical cancer and sexual lifestyle: a systematic review of health education interventions targeted at women. *Health Educ Res* 2000; 15(3): 681-94.
- Quinn TC, Overbaugh J. HIV/AIDS in Women: An Expanding Epidemic. *Science* 2005; 308(5728): 1582-3.
- Bastos FI, Cunha CB, Hacker MA. Signs and symptoms associated with sexually transmitted infections in Brazil, 2005. *Rev Saúde Pública* 2008; 42(1): 98-108.
- Custodio G, Massuti AM, Schuelter-Trevisol F, Trevisol DJ. Comportamento sexual e de risco para DST e gravidez em adolescentes. *DST - J bras Doenças Sex Transm* 2009; 21(2): 60-4.
- Machado AA, Costa JC, Gir E, Moriya TM, Figueiredo JFC. Risk of infection by the human immune deficiency virus (HIV) among health professionals. *Rev Saúde Pública* 1992; 26(1): 54-6.
- Nishide VM, Benatti MCC, Alexandre NMC. Ocorrência de acidente de trabalho em uma unidade de terapia intensiva. *Rev Lat Am Enfermagem* 2004; 12(2): 204-11.
- Brandi S, Benatti MCC, Alexandre NMC. Accidents with perforative tools among nursing workers. *Rev Esc Enf USP* 1998; 32(2): 124-33.
- Caixeta RB, Branco AB. Work-related accidents in health care workers from public hospitals in Brasília, Brazil, 2002/2003. *Cad. Saúde Pública* 2005; 21(3): 737-46.
- Ciorlia LAS, Zanetta DMT. Hepatitis C in health care professionals: prevalence and association with risk factors. *Rev Saúde Pública* 2007; 41(2): 229-35.

### Endereço para correspondência:

**FABIANA SCHUELTER-TREVISOL**

Avenida José Acácio Moreira 787, Bairro Dehon

Tubarão – SC

CEP: 88704-900

Tel.: (48) 3622-1442

E-mail: [fabiana.trevisol@unisol.br](mailto:fabiana.trevisol@unisol.br) ou [fastrevisol@gmail.com](mailto:fastrevisol@gmail.com)

Recebido em: 12.12.2010

Aprovado em: 20.02.2011



# CONHECIMENTOS E PRÁTICAS DOS ADOLESCENTES DA CAPITAL DE MATO GROSSO QUANTO ÀS DST/AIDS

## KNOWLEDGE AND PRACTICES OF THE ADOLESCENTS OF THE CAPITAL OF MATO GROSSO IN RELATION TO STD/AIDS

Amanda P Carleto<sup>1</sup>, Cleberson S Faria<sup>2</sup>, Christine BG Martins<sup>3</sup>, Solange PS Souza<sup>4</sup>, Karla F Matos<sup>5</sup>

### RESUMO

**Introdução:** a adolescência é vista como uma fase da vida marcada por uma série de transformações físicas e comportamentais, o que leva a determinadas situações de risco, dentre estas de doenças sexualmente transmissíveis, incluindo a síndrome da imunodeficiência adquirida (DST/aids). **Objetivo:** o trabalho objetivou analisar o conhecimento, a percepção e a ocorrência quanto às DST/aids entre adolescentes de Cuiabá-MT. **Métodos:** estudo descritivo, de corte transversal, com análise quantitativa, cuja população foi composta por alunos do primeiro ano do ensino médio. Os dados foram processados pelo EpiInfo com análise bivariada ( $p < 0,05$ ). **Resultados:** embora os adolescentes saibam nomear várias DST, o uso do preservativo em todas as relações sexuais foi relatado por apenas 60,0% dos meninos e 29,4% das meninas. Quanto às formas de transmissão de DST/aids, o índice de acerto foi inferior a 20%. Como formas de prevenção, foram apontados o uso do preservativo e conhecer o parceiro. Foi relatada a ocorrência de DST entre os meninos na idade de 13 e 15 anos. As fontes de informação sobre DST/aids mais frequentes são os amigos, mídia, mãe e escola. Os adolescentes consideram alto o risco de adquirir DST/aids, quando se trata de outras pessoas, porém, consideram o próprio risco pequeno. **Conclusão:** os resultados apontam para a necessidade de prevenção das DST/aids entre adolescentes, com estratégias específicas para essa clientela, a fim de que o adolescente não seja simplesmente passivo na construção do conhecimento, mas que possa falar de si próprio, trocar experiência e receber informações de forma dinâmica e participativa.

**Palavras-chave:** adolescente, comportamento do adolescente, doenças sexualmente transmissíveis (DST), saúde do adolescente, sexualidade, vulnerabilidade

### ABSTRACT

**Introduction:** adolescence is seen as a phase of life which is marked by a series of physical and behavioral changes, which leads to certain situations of risk, among them the Sexually Transmitted Diseases (STD/aids). **Objective:** the study aimed at analyzing the knowledge, the perception and the occurrence in relation to STD/aids among adolescents of Cuiabá-MT. **Methods:** it is a descriptive, cross-sectional study, with quantitative analysis, composed by first year high school students. The data were processed by the EpiInfo with bivariate analysis ( $p < 0,05$ ). **Results:** although the adolescents know how to name several STDs, the condom use in all intercourses was reported only by 60,0% of the boys and 29,4% of the girls. In relation to the ways of transmission of STD/aids, the index of correct answers was inferior to 20%. As a way of prevention, the use of condom and knowing the partner were mentioned. The occurrence of STD among the 13 to 15 year old boys was reported. The most frequent source of information about STD/aids are the friends, media, mother and school. Adolescents consider the high risk of acquiring STD/aids when it comes to other people, however, they consider their own risk small. **Conclusion:** the results point to the need for prevention against STD/aids among adolescents, with specific strategies for this clientele, so that the adolescent is not simply passive in the building of knowledge, but that can speak about himself, exchange experience and receive information in a dynamic and participative way.

**Keywords:** adolescent, adolescent behavior, sexually transmitted diseases (STD), adolescent health, sexuality, vulnerability

## INTRODUÇÃO

A adolescência é vista como uma fase da vida marcada por uma série de transformações físicas e comportamentais, influenciadas por fatores socioculturais e familiares<sup>1</sup>. Na adolescência, a vivência da sexualidade torna-se mais evidente e muitas vezes manifesta-se através de práticas sexuais desprotegidas, podendo se tornar um problema devido à falta de informação, de comunicação entre familiares, dos mitos e tabus, ou mesmo pelo fato de ter medo de assumir-la<sup>2</sup>. Desta forma, a procura e a curiosidade por novas experiências e a falta de orientações sobre as mudanças pelas quais estão passando deixam os adolescentes vulneráveis a situações de risco, dentre estas a das doenças sexualmente trans-

missíveis, incluindo a síndrome da imunodeficiência adquirida (DST/aids)<sup>3</sup>.

De acordo com o relatório da *Joint United Nations Program on HIV/Aids* (UNAIDS)<sup>4</sup>, estima-se que até o ano de 2008 havia 33,4 milhões de pessoas vivendo com HIV no mundo, e destas, 430.000 eram adolescentes<sup>4</sup>. Segundo o Boletim Epidemiológico de 2007, do Ministério da Saúde<sup>5</sup>, foram identificados 54.965 casos de aids, de 2006 a 2007, sendo 10.337 entre jovens de 13 e 19 anos. De acordo com o DATASUS6, no ano de 2007 a taxa de incidência da aids no Brasil foi de 17,79, e entre os adolescentes esta incidência foi de 2,40. Em Mato Grosso, este índice era de 19,41, sendo que entre os jovens de 13 a 19 anos essa taxa correspondia a 2,54<sup>6</sup>.

Muitos autores apontam que a alta incidência de DST/aids na adolescência decorre do comportamento de risco, como exemplo, as relações sexuais desprotegidas<sup>7,8</sup>. Diante deste contexto, torna-se relevante compreender a percepção que o próprio adolescente tem sobre as DST/aids, bem como o comportamento que adota em relação à prevenção.

## OBJETIVO

Analisar o conhecimento, a percepção e a ocorrência quanto às DST/aids entre adolescentes.

<sup>1</sup> Acadêmica de Enfermagem da Universidade Federal de Mato Grosso e bolsista de iniciação científica PIBIC– CNPq.

<sup>2</sup> Acadêmico de Enfermagem da Universidade Federal de Mato Grosso e voluntário de Extensão.

<sup>3</sup> Docente da UFMT, Departamento de Enfermagem, Área Saúde da Criança e do Adolescente. Doutora em Saúde Pública pela Faculdade de Saúde Pública da USP.

<sup>4</sup> Docente da UFMT, Departamento de Enfermagem, Área Saúde da Criança e do Adolescente. Doutora em Enfermagem em Saúde Pública pela Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto – USP.

<sup>5</sup> Enfermeira. Mestranda em Enfermagem pela Universidade Federal de Mato Grosso – Faculdade de Enfermagem.

## MÉTODOS

Trata-se de um estudo de corte transversal, com análise quantitativa, cuja população de estudo foi composta por alunos do primeiro ano do ensino médio. O estudo foi desenvolvido em cinco escolas estaduais do município de Cuiabá-MT, previamente selecionadas em conjunto com a Secretaria de Estado de Educação – SEDUC, de forma aleatória, totalizando 22 turmas e 501 alunos, e os critérios de inclusão foram concordar em participar da pesquisa e ter idade entre 10 e 19 anos, conforme a Organização Mundial da Saúde define como limite etário da adolescência. Para a coleta dos dados foi utilizado um questionário composto por oito questões, sendo seis fechadas e duas abertas, aplicado à população de estudo pelos próprios pesquisadores, auxiliados por uma equipe de voluntários.

O estudo adotou as seguintes categorias de análise: quais DST os adolescentes conhecem, se há preocupação ou não com a possibilidade de adquirirem DST, formas de transmissão e prevenção que os adolescentes conhecem, se já contraíram alguma DST, a fonte de informação que utilizam para esclarecer dúvidas sobre o tema, qual o risco de uma pessoa que não se previne em adquirir uma DST, e como os adolescentes classificam o seu próprio risco de contrair uma DST.

Os dados foram processados pelo programa EpiInfo – versão 3.5.1, utilizando-se para análise frequência absoluta, relativa e algumas análises bivariadas, em que se considerou o valor de  $p < 0,05$ .

Os adolescentes participaram da pesquisa de forma voluntária, após assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, sendo-lhes assegurado o sigilo absoluto das informações, assim como a privacidade e o anonimato.

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Júlio Muller, da Universidade Federal de Mato Grosso – sob o protocolo número 613/CEP – HUJM /09, cumprindo desta forma as normas da Resolução no 196, de 10 de outubro de 1996. O estudo foi autorizado pela Secretaria de Estado de Educação – SEDUC, bem como pelas diretorias das respectivas escolas.

## RESULTADOS

Foram estudados 499 adolescentes, dos quais 309 (61,9%) eram meninas e 190 (38%), meninos. As doenças sexualmente transmissíveis mais conhecidas pelos adolescentes foram a aids, HIV, sífilis, gonorreia, HPV e herpes genital. Poucos adolescentes apontaram cancro mole, corrimento, hepatite, candidíase, câncer e hanseníase.

De acordo com a **Tabela 1**, grande parte dos meninos (60,0%) referiu usar preservativo em todas as relações sexuais, em decorrência da preocupação com a aids. Entre as meninas, 57,6% afirmaram ainda não ter vida sexual ativa e 29,5% afirmaram usar preservativo sempre. Importante destacar, embora com baixa frequência, a presença de adolescentes que não se preocupam com a transmissão da aids por só terem relações sexuais com pessoas conhecidas e, ainda, os que não se preocupam porque acham que nunca vão contrair o vírus.

A **Tabela 2** demonstra o conhecimento dos adolescentes quanto às formas de transmissão das DST/aids. Foram oferecidas nesta questão várias alternativas (abraço, vaso sanitário, toalha, transar

**Tabela 1** – Distribuição dos adolescentes segundo sexo e a atitude em relação à aids. Cuiabá, 2010.

Atitude dos Adolescentes em Relação à Aids	Sexo					
	Masculino		Feminino		Total	
	N	%	n	%	n	%
Não se preocupa porque só tem relações com pessoas conhecidas	16	8,5	19	6,1	35	7,0
Usa preservativo sempre	114	60,0	91	29,5	205	41,0
Não se preocupa porque acha que nunca vai acontecer consigo	3	1,6	4	1,3	7	1,4
Acha que há muito exagero em relação ao contágio	3	1,6	1	0,3	4	0,8
Ainda não possui vida sexual ativa	30	15,8	178	57,6	208	41,7
Em branco	23	12,1	13	4,2	36	7,2
Respostas nulas	1	0,5	3	1,0	4	0,8
<b>Total</b>	190	100,0	309	100,0	499	100,0

$p = 0,0000$ .

**Tabela 2** – Distribuição dos adolescentes segundo sexo e quanto às formas de transmissão das DST/aids. Cuiabá, 2010.

Percentual de Acertos quanto à Forma de Transmissão das DST/Aids	Sexo					
	Masculino		Feminino		Total	
	n	%	n	%	n	%
0% acerto	7	3,7	20	6,5	27	5,4
20% acerto	87	45,8	117	37,9	204	40,9
40% acerto	20	10,5	41	13,3	61	12,2
60% acerto	15	7,8	49	15,9	64	12,8
80% acerto	30	15,8	43	14,0	73	14,6
100% acerto	11	5,8	12	3,9	23	4,6
Em branco	19	10,0	23	7,4	42	8,4
Respostas nulas	1	0,5	4	1,3	5	1,0
<b>Total</b>	190	100,0	309	100,0	499	100,0

$p = 0,0591$ .

com camisinha, transfusão de sangue, beijo, transar sem camisinha, sexo oral sem proteção, sexo anal sem proteção, sexo vaginal sem proteção, compartilhar seringa e agulha para injetar droga). Foi considerado 100,0% de acerto quando o adolescente assinalou todas as formas de transmissão das DST/aids constantes na questão (transar sem camisinha, sexo oral sem proteção, sexo anal sem proteção, sexo vaginal sem proteção, compartilhar seringa e agulha para injetar droga). Entre os meninos, a maior proporção de ado-

lescentes (45,8%) foi a que teve acerto de 20%. O mesmo ocorreu entre as meninas, em que a maior frequência (37,9%) se deu entre as que obtiveram 20% de acerto. Destaca-se que apenas 5,8% dos meninos e 3,9% das meninas tiveram 100% de acerto.

Entre os métodos para prevenir DST/aids, a grande maioria dos adolescentes respondeu ser o preservativo. Outros poucos destacaram como prevenção conhecer o seu parceiro e saber se ele é confiável; utilizar anticoncepcional; não ter vida sexual ativa; usar preservativo se a pessoa tiver aids; pedir para o parceiro fazer exame e, se não apontar nenhuma DST/aids, pode-se ter relação sexual com o parceiro; não beijar alguém desconhecido quando estiver com alguma ferida na boca. Poucos adolescentes deixaram em branco ou disseram não saber qual o método para prevenir as DST/aids.

A **Tabela 3** permite analisar a ocorrência de DST entre os adolescentes do sexo masculino, conforme a idade. Grande parte dos meninos (86,1%) relatou não ter adquirido DST até o presente momento. Entretanto, chama a atenção o relato de DST na faixa etária de 13 e 15 anos.

A **Tabela 4** permite observar onde os adolescentes buscam informação sobre sexo, DST e aids. Entre os meninos, as fontes de informação mais frequentes são os amigos (15,8%), televisão (10,0%) e mãe (9,5%). Entre as meninas, predomina a mãe (27,2%), os amigos (12,3%) e a escola (11,7%).

Quando questionados sobre qual seria o risco de uma pessoa que não se previne adquirir DST ou aids, 69,5% dos meninos, responderam que este risco é grande, sendo que para as meninas também prevalece a mesma opinião (87,6%). Para 11,6% dos garotos e 4,9% das garotas o risco de uma pessoa que não se previne adquirir DST ou aids é médio. Consideraram este risco pequeno 3,2% dos meninos e 1,0% das meninas. Deixaram a questão em branco 15,8% dos meninos e 6,5% meninas.

**Tabela 3** – Distribuição dos adolescentes do sexo masculino, segundo a idade e a ocorrência de alguma doença sexualmente transmissível. Cuiabá, 2010.

Idade	Ocorrência de DST no Sexo Masculino							
	Sim		Não		Em Branco		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%
11 anos	–	–	1	100,0	–	–	1	100,0
13 anos	1	50,0	1	50,0	–	–	2	100,0
14 anos	–	–	17	81,0	4	19,0	21	100,0
15 anos	2	2,6	66	85,7	9	11,7	77	100,0
16 anos	–	–	50	89,3	6	10,7	56	100,0
17 anos	–	–	19	82,6	4	17,4	23	100,0
18 anos	–	–	2	100,0	–	–	2	100,0
19 anos	–	–	5	100,0	–	–	5	100,0
Sem idade identificada	–	–	–	–	–	–	3	100,0
<b>Total</b>	<b>3</b>	<b>1,6</b>	<b>161</b>	<b>86,1</b>	<b>23</b>	<b>12,3</b>	<b>190</b>	<b>100,0</b>

p = 0, 0016.

**Tabela 4** – Distribuição dos adolescentes segundo sexo e a fonte de informação para esclarecer dúvidas sobre sexo, DST e aids. Cuiabá, 2010.

Fonte de Informação sobre Sexo, DST e Aids	Sexo					
	Masculino		Feminino		Total	
	n	%	n	%	n	%
Amigo	30	15,8	38	12,3	68	13,6
Mãe	18	9,5	84	27,2	102	20,4
Revista/livro	9	4,7	12	3,9	21	4,2
Pai	13	6,8	2	0,6	15	3,0
Televisão	19	10,0	10	3,2	29	5,8
Escola	16	8,4	36	11,7	52	10,4
Nenhuma (fonte)	16	8,4	22	7,1	38	7,6
Outros	51	26,8	86	27,8	137	27,5
Em branco	18	9,5	15	4,9	33	6,6
Respostas nulas	–	–	4	1,3	4	0,8
<b>Total</b>	<b>190</b>	<b>100,0</b>	<b>309</b>	<b>100,0</b>	<b>499</b>	<b>100,0</b>

p = 0,0000.

Quase a totalidade das meninas (93,7%) informou não ter adquirido DST/aids até o momento da pesquisa. Apenas 6,3% deixaram a questão em branco. A **Tabela 5** mostra que metade dos meninos (50,5%) e das meninas (51,5%) considerou pequeno o seu próprio risco de adquirir uma DST ou aids.

## DISCUSSÃO

No presente estudo, percebemos que grande parte dos adolescentes conhecia, ao menos, uma DST, o que coincide com estudo realizado em 2009<sup>9</sup>, na região de Santo Eduardo, da Estância Turística de Embu, São Paulo, onde os adolescentes declararam conhecer a gonorreia (73% do sexo feminino/33% do sexo masculino), a sífilis (69% de ambos os sexos), o herpes genital (68% feminino/62% masculino), o cancro mole (26% feminino/22% masculino), a candidíase (15% feminino/9% masculino), o condiloma acuminado (9% feminino/12% masculino), a tricomoníase (7%

**Tabela 5** – Distribuição dos adolescentes segundo sexo e seu próprio risco de adquirir uma DST ou aids. Cuiabá, 2010.

Risco Próprio de Adquirir uma DST ou Aids	Sexo					
	Masculino		Feminino		Total	
	n	%	n	%	n	%
Grande	23	12,1	64	20,7	87	17,4
Médio	22	11,6	10	3,2	32	6,4
Pequeno	96	50,5	159	51,5	255	51,1
Em branco	49	25,8	73	23,6	122	24,4
Respostas nulas	–	–	3	1,0	3	0,6
<b>Total</b>	<b>190</b>	<b>100,0</b>	<b>309</b>	<b>100,0</b>	<b>499</b>	<b>100,0</b>

p = 0,0004.



feminino/9% masculino) e o linfogranuloma venéreo (2% feminino/1% masculino). Entretanto, apesar de os adolescentes saberem citar algumas doenças sexualmente transmissíveis, isto não significa que eles saibam se proteger do contágio<sup>10</sup>. Mais importante do que saber nominar as DST seria conscientizar os adolescentes sobre as formas efetivas de prevenção<sup>11</sup>.

Neste estudo, grande parte dos meninos e das meninas respondeu utilizar sempre o preservativo durante as relações sexuais para se prevenir da aids. Porém, alguns autores<sup>12</sup> afirmam que, apesar de os adolescentes conhecerem os métodos para prevenir as DST/aids, o que se observa, no entanto, é a relatividade do uso do preservativo, uma vez que o seu uso é abandonado quando se conhece o(a) parceiro(a), se tem um(a) só parceiro(a) e se confia nele(a). Neste sentido, os resultados da presente casuística reforçam a preocupação das autoras, uma vez que alguns dos adolescentes pesquisados não se preocupam com a transmissão da aids, por só terem relações sexuais com pessoas conhecidas. Esta constatação alerta para a necessidade urgente de desmitificar os tabus e inverdades relativos à transmissão das DST/aids<sup>13,14</sup>.

Outro aspecto a ser considerado é que o conhecimento dos jovens quanto às formas de transmissão das DST e aids é pequeno, tendo em vista a baixa porcentagem de acerto na presente pesquisa, o que coincide com estudo realizado com 920 adolescentes, na região de Santo Eduardo, da Estância Turística de Embu, São Paulo, entre 2004 e 2005, em que se verificou que as vias de transmissão das DST que os adolescentes mais conheciam eram as sexuais (sexo vaginal, anal e oral) e que uma grande parcela, 45% das meninas e 50,4% dos meninos, não conhecia nenhuma forma de contágio das DST<sup>15</sup>.

Estes resultados chamam a atenção para a consequente vulnerabilidade a que os adolescentes estão expostos<sup>10</sup>, pois não saber reconhecer as formas de transmissão está intimamente relacionado com sua conduta de prevenção.

Apesar do pouco conhecimento quanto às formas de transmissão das DST/aids, a maioria dos adolescentes pesquisados citou o preservativo como o principal método para a prevenção, resultado semelhante a outro estudo, realizado no período de 2003 a 2005, em São Paulo<sup>9</sup>, em que 92% do sexo feminino e 78% do sexo masculino apontaram o uso de preservativo masculino em todas as relações como melhor maneira de prevenção contra DST; 86% feminino/57% masculino referiram que outra forma de prevenção é a de consultar um médico regularmente; 76% das meninas e 53% dos meninos relataram a importância do ato de certificar-se que o parceiro não possuía DST.

Desta forma, pode-se dizer que os jovens conhecem o preservativo como método de prevenção e fazem uso deste<sup>8,16,17</sup>; Porém, um fator que leva ao abandono do preservativo é o seu relacionamento com um(a) parceiro(a) fixo(a), o que determinados autores<sup>13</sup> sinalizam como um comportamento complexo, que envolve não apenas aspectos sexuais, como também aspectos afetivos.

No Brasil não há informações precisas sobre a prevalência de DST entre adolescentes e o número de casos notificados ainda está bem abaixo das estimativas, talvez porque somente a aids e a sífilis sejam de notificação compulsória, e cerca de 70% das pessoas com DST busquem tratamento em farmácias<sup>19</sup>. Apesar de quase a totalidade das meninas pesquisadas responderem não ter contraído

nenhuma DST/aids até o momento, as estatísticas apontam que a incidência da aids vem crescendo na faixa etária de 13 a 19 anos, principalmente no sexo feminino<sup>20</sup>.

A ocorrência de DST, verificada entre os meninos de 13 e 15 anos de idade, reforça o início da vida sexual cada vez mais cedo<sup>11,21,22</sup>, e fatores como a imaturidade, a falta de informações sobre DST/aids e a despreocupação com uma gravidez precoce levam o adolescente a um comportamento de risco, em que a prevenção assume pouca ou nenhuma importância<sup>23,24</sup>. O início precoce da vida sexual pode ser considerado um agravante para o comportamento de risco frente às DST/aids<sup>20</sup>. Os adolescentes brasileiros estão cada vez mais vulneráveis a infecção pelo HIV/aids, devido, dentre outros fatores, ao elevado número de ocorrências de gravidez na adolescência, ao aumento das DST e à intensificação do consumo de drogas entre esses jovens<sup>20</sup>.

Coincidente com a presente investigação, estudo realizado em Rio Branco-Acre, com escolares do 2º grau<sup>22</sup>, também verificou que as pessoas com quem os adolescentes mais conversam sobre DST/aids são os amigos (69,7%), seguidos pelos pais (35,7%), namorado/a (23,8%), professor (13,0%) e profissionais de saúde (7,1%).

Outros estudos<sup>9,18</sup> ainda apontam outras fontes de informação sobre o tema, quando se trata de adolescentes, entre a escola, a televisão, os folhetos, a família, jornais e revistas. Esses dados mostram a importância que os amigos, familiares e a escola, entre outros meios de comunicação, assumem diante da sexualidade. Entretanto, é preciso destacar que as informações sobre formas de transmissão e prevenção das DST/aids, por si só, não são suficientes para a adoção de comportamentos seguros<sup>9,25</sup>. Torna-se fundamental proporcionar espaços de discussão entre os jovens, em que a troca de experiências e a reflexão possa realmente levar a mudanças de comportamento. Neste cenário, destacam-se as oficinas de prevenção, desenvolvidas atualmente com grande impacto para a prevenção. Em trabalho realizado por outros autores<sup>2,12</sup>, cujo foco são as oficinas de prevenção para adolescentes, é comprovada a importância destas oficinas, uma vez que as mesmas proporcionam um espaço de reflexão e conhecimento compartilhado entre os adolescentes, além de possibilitar uma melhor interação entre os profissionais dos serviços e os jovens.

Quanto ao risco de adquirir uma DST/aids, o presente estudo coincide com o realizado por outros autores<sup>12</sup>, em que 86,4% das meninas e 85,7% dos meninos consideraram que o risco de o jovem adquirir aids é grande, enquanto mais de 60,0% de ambos os sexos consideraram seu próprio risco pequeno. Sabe-se que os adolescentes constroem suas próprias definições de risco de transmissão das DST/aids baseando-se em sua posição social, identidade pessoal, tipo de relação na qual estão envolvidos e nas informações que recebem em relação ao evento<sup>9</sup>. Levando em consideração que a taxa de incidência das DST/aids entre os jovens é crescente<sup>26</sup>, percebemos que grande parte dos adolescentes não está consciente quanto aos riscos a que estão expostos durante as relações sexuais, talvez em decorrência do nível de compreensão sobre este assunto ser bastante superficial. Outro fator a ser considerado neste aspecto é que a ideia de “grupos

de risco”, determinada no início da descoberta da aids, acaba criando mecanismos de negação e de projeção dos riscos para os “outros”<sup>27</sup>.

Diante do pouco conhecimento dos adolescentes em relação às DST/aids e, ainda, da percepção de baixo risco próprio em adquiri-las, verificada na presente casuística, acreditamos que medidas que promovam a prevenção dos adolescentes são de fundamental importância, envolvendo estratégias de educação que visem não só os adolescentes, mas também sua família e o contexto social no qual estão inseridos.

A família assume um papel importante na vida sexual dos adolescentes, a fim de que estes possam vivê-la de forma saudável. No entanto, a família precisa estar preparada para orientá-los quanto aos seus anseios e suas dúvidas. Neste sentido, a produção de material de apoio (manuais e cartilhas específicas) disponibilizado gratuitamente, bem como a discussão do tema nos diferentes segmentos sociais podem auxiliar as famílias nesta difícil tarefa, na possibilidade de torná-las a principal rede de apoio dos adolescentes quando se trata de sexualidade e prevenção.

Destaca-se também a necessidade de adequar as informações e campanhas de prevenção para os adolescentes, pois as informações veiculadas pelos meios de comunicação, geralmente dirigidas a um público adulto, fazem com que os jovens não compreendam o que está sendo informado, o que leva à construção de conceitos errôneos e fantasiosos sobre o tema em questão.

Diante da necessidade da prevenção entre adolescentes em relação às DST/aids, sugere-se que se desenvolvam políticas e campanhas no próprio espaço de convivência destes jovens, ultrapassando os muros dos serviços de saúde, onde o adolescente dificilmente se encontra, e levando ações de prevenção à escola e a diversos espaços, garantindo uma orientação sexual em que o adolescente não seja simplesmente passivo na construção do conhecimento, mas que possa falar de si próprio, trocar experiência e receber informações de forma dinâmica e participativa.

Esperamos que o estudo, ao identificar as percepções dos adolescentes em relação às DST/aids, possa contribuir para a compreensão do fenômeno neste grupo, servindo como ponto de partida para estratégias e ações específicas. Sugere-se, ainda, a realização de outros estudos, com diferentes abordagens, que possam complementar as lacunas de conhecimento na área.

## CONCLUSÃO

As doenças sexualmente transmissíveis mais conhecidas pelos adolescentes do presente estudo foram aids, HIV, sífilis, gonorréia, HPV e herpes genital. E quanto à ocorrência dessas infecções, grande parte dos meninos e das meninas relatou não ter adquirido DST até o momento da realização do questionário.

Grande parte dos meninos referiu usar preservativo em todas as relações sexuais, em decorrência da preocupação com a aids. E entre os métodos para prevenção, a maior parte dos adolescentes respondeu ser o preservativo. A fonte para busca por informação sobre sexo, DST e aids para os meninos foram os amigos, seguidos da televisão, e para as meninas foi a mãe, seguida dos amigos.

Em relação ao risco de uma pessoa que não se previne adquirir DST ou aids, grande parte dos meninos e das meninas respondeu

que o risco era grande. Porém, quando se considerou o próprio risco desses adolescentes em adquirir DST/aids, metade dos meninos e das meninas considerou baixo seu próprio risco.

## Conflito de interesses

Os autores declaram não haver nenhum tipo de conflito de interesse no desenvolvimento do estudo.

## Agradecimentos

Agradecemos ao CNPq pela concessão de bolsa de iniciação científica e à Fundação de Amparo à Pesquisa de Mato Grosso (FAPEMAT), pela concessão de recursos segundo o Edital no 001/2009, processo 407104/2009.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Soares SM, Amaral MA, Silva LB, Silva PAB. Oficinas sobre sexualidade na adolescência: revelando vozes, desvelando olhares de estudantes do ensino médio. *Esc Anna Nery Rev Enferm* 2008; 12(3): 485-491.
- Camargo EAI, Ferrari RAP. Adolescentes: conhecimentos sobre sexualidade antes e após a participação em oficinas de prevenção. *Ciência & Saúde Coletiva* 2009; 14(3): 937-946.
- Neto FRGX, Dias MSA, Rocha J, Cunha ICKO. Gravidez na adolescência: motivos e percepções de adolescentes. *Rev Bras Enferm* 2007; 60(3): 279-285.
- Joint United Nations Program on HIV/aids (UNAIDS). Relatório global sobre a epidemia de aids 2009 – sumário geral. [citado 2010 mai 10], [cerca de 3 telas]. Disponível em: <http://www.onu-brasil.org.br/doc/2009-Relatorio-Global-Aids-Sum-rio-Geral-Port.pdf>
- Brasil. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico 2007. [citado 2010 mai 10]. Disponível em: [www.onu-brasil.org.br](http://www.onu-brasil.org.br) Acessado em: 01/12/2010.
- Datasus. Taxa de incidência de aids por região e UF. [citado 2010 mai 10]. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?db2008/d0201.def> Acessado em: 01/12/2010.
- Camargo BV, Bertoldo RB. Comparação da vulnerabilidade em relação ao HIV de estudantes da escola pública e particular. *Estudos de Psicologia* 2006; 23(4): 369-379.
- Martins LBM, Costa-Paiva LHS, Osis MJD, Sousa MH, Pinto-Neto AM, Tadini V. Fatores associados ao uso de preservativo masculino e ao conhecimento sobre DST/aids em adolescentes de escolas públicas e privadas do Município de São Paulo, Brasil. *Cad Saúde Pública* 2006; 22(2): 315-323.
- Brêtas JRS, Ohara CVS, Jardim DP, Muroya RL. Conhecimentos de adolescentes sobre Doenças Sexualmente Transmissíveis: subsídios para prevenção. *Acta Paul Enferm* 2009; 22(6): 786-792.
- Almeida ADL, Silva CF, Cunha GS. Os conhecimentos, atitudes e comportamentos sobre SIDA dos adolescentes portugueses do meio urbano e não-urbano. *Rev Esc Enferm USP* 2007; 41(2): 180-186.
- Paiva V, Calazans G, Venturil G, Dias R. Idade e uso de preservativo na iniciação sexual de adolescentes brasileiros. *Rev Saúde Pública* 2008; 42(1): 45-53.
- Jeolás LS, Ferrari RAP. Oficinas de prevenção em um serviço de saúde para adolescentes: espaço de reflexão e de conhecimento compartilhado. *Ciência & Saúde Coletiva* 2003; 8(2): 611-620.
- Thiengo MA, Oliveira DC, Rodrigues BMRD. Representações sociais do HIV/aids entre adolescentes: implicações para os cuidados de enfermagem. *Rev Esc Enferm USP* 2005; 39(1): 68-76.
- Camargo BV, Barbará A, Bertoldo RB. Concepção pragmática e científica dos adolescentes sobre a aids. *Psicologia em Estudo* 2007; 12(2): 277-284.
- Brêtas JRS, Ohara CVS, Jardim DP, Muroya RL. Conhecimento sobre DST/aids por estudantes adolescentes. *Rev Esc Enferm USP* 2009; 43(3): 551-557.
- Almeida MCC, Aquino EML, Gaffikin L, Magnani R. Uso de contracepção por adolescentes de escolas públicas na Bahia. *Rev Saúde Pública* 2003; 37(5): 566-575.

17. Teixeira AMFB, Knauth DR, Fachel JMG, Leal AF. Adolescentes e uso de preservativos: as escolhas dos jovens de três capitais brasileiras na iniciação e na última relação sexual. *Cad Saúde Pública* 2006; 22(7): 1385-1396.
18. Camargo BV, Botelho LJ. Aids, sexualidade e atitudes de adolescentes sobre proteção contra o HIV. *Rev Saúde Pública* 2007; 41(1): 61-68.
19. Taquette SR, Vilhena MM, Paula MC. Doenças sexualmente transmissíveis na adolescência: estudo de fatores de risco. *Rev Soc Bras Med Trop* 2004; 37(3): 210-214.
20. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e aids. Manual de rotinas para assistência de adolescentes vivendo com HIV/aids. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.
21. Castro MG, Abramovay M, Silva LB. Juventudes e sexualidade. [periódico na internet]. 2004 [citado 2010 abr 28]; [cerca de 412 telas] Disponível em: <http://unesdoc.unesco.org/images/0013/001339/133977por.pdf> Acessado em: 01/12/2010.
22. Nascimento LCS, Lopes CM. Atividade sexual e doenças sexualmente transmissíveis em escolares do 2º grau de Rio Branco–Acre, Brasil. *Rev latino-am Enfermagem* 2000; 8(1): 107-113.
23. Griep RH, Araujo CLF, Batista SM. Comportamento de risco para a infecção pelo HIV entre adolescentes atendidos em um centro de testagem e aconselhamento em DST/aids no Município do Rio de Janeiro, Brasil. *Epidemiologia e Serviços de Saúde* 2005; 14(2): 119-126.
24. Silva PDB, Oliveira MDS, Matos MA et al. Comportamento de risco para as doenças sexualmente transmissíveis em adolescentes escolares de baixa renda. *Revista Eletrônica de Enfermagem* 2005; 7(2): 185-189.
25. Geluda K, Bosi MLM, Cunha AJLA, Trajman A. Quando um não quer, dois não brigam: um estudo sobre o não uso constante de preservativo masculino por adolescentes do Município do Rio de Janeiro, Brasil. *Cad Saúde Pública* 2006; 22(8): 1671-1680.
26. Codes JS, Cohen DA, Melo NA, Teixeira GG et al. Detecção de doenças sexualmente transmissíveis em ambientes clínicos e não clínicos na Cidade de Salvador, Bahia, Brasil. *Cad. Saúde Pública* 2006; 22(2): 325-334.
27. Paulilo MAS, Jeolás LS. Aids, drogas, riscos e significados: uma construção sociocultural. *Ciência & Saúde Coletiva* 2005; 10(1): 175-184.

**Endereço para correspondência****CHRISTINE BACCARAT DE GODOY MARTINS**

Rua Fortaleza, 70, Jardim Paulista, Cuiabá – MT

CEP: 78.065-350

Tel.: 65 8128-8505

E-mail: [leocris2001@terra.com.br](mailto:leocris2001@terra.com.br)

Recebido em: 07.12.2010

Aprovado em: 10.02.2011

# PREVALÊNCIA DE CONDILOMA ACUMINADO NO MUNICÍPIO DE CAMPO GRANDE – MATO GROSSO DO SUL, NO PERÍODO DE 2006 A 2009

*PREVALENCE OF GENITAL WARTS IN CAMPO GRANDE – MATO GROSSO DO SUL*

*IN THE PERIOD 2006 TO 2009*

*Tassiana E Simão<sup>1</sup>, Estêvão B Cruz<sup>2</sup>, Thalita E Simão<sup>3</sup>*

## RESUMO

O presente estudo visa estimar a prevalência de lesões condilomatosas causadas pela infecção por papilomavírus humano (HPV), no município de Campo Grande – Mato Grosso do Sul, no período de 2006 a 2009. Foi um estudo transversal de prevalência, realizado através de levantamento de dados fornecidos pelo Sistema Nacional de Agravos Notificáveis (SINAN), do município de Campo Grande, no período de 2006 a 2009, após solicitação protocolada. Foram notificados 961 casos de lesões condilomatosas, havendo maior prevalência no sexo masculino; em 2008 houve o maior número de notificações. Em 2009 ocorreu o maior número de casos em pacientes menores de 10 anos. A grande maioria foi diagnosticada com menos de 3 meses de evolução. Foi observada elevação crescente da infecção ao longo do período estudado, com ênfase para os casos novos em crianças com menos de 10 anos, o que infere aumento da incidência em pacientes gestantes, repercutindo em um maior índice de transmissão vertical. Também é notório o salto observado no número de casos na transição entre a pré-adolescência e a adolescência, inferindo o início da atividade sexual precoce destas pacientes.

**Palavras-chave:** condiloma acuminado, prevalência, HPV, DST

## ABSTRACT

This study aims to estimate the prevalence of condyloma lesions caused by infection with human papillomavirus (HPV), in Campo Grande – Mato Grosso do Sul in the period 2006 to 2009. It was a cross-sectional study of prevalence conducted through a survey of data provided by the National Notifiable Diseases (SINAN) of Campo Grande in the period 2006 to 2009, after request filed. Were reported 961 cases of condyloma lesions, with prevalence among males; in 2008 was higher numbers of notifications. In 2009 occurred the greatest number of cases in patients younger than 10 years. The vast majority were diagnosed under 3 months. Was observed growing areas of infection throughout the period studied, with emphasis on new cases in children younger than 10 years, which implies increased incidence in pregnant patients resulting in higher rate of vertical transmission, and is also notorious jump observed in the number of cases in the transition from pre-adolescence and adolescence, inferring the onset of early sexual activity of these patients.

**Keywords:** genital wart, prevalence, HPV, STD

## INTRODUÇÃO

O papilomavírus humano (HPV) é um vírus de DNA, membro da família *Papillomaviridae*, capaz de infectar células do epitélio basal da pele ou dos tecidos, sendo categorizado como cutâneo ou mucoso<sup>2</sup>. Os cutâneos são epidermotrópicos e infectam principalmente a pele das mãos e dos pés, e manifestam-se formando as verrugas. O tipo mucoso infecta o revestimento da boca, a garganta, o trato respiratório ou o epitélio anogenital, e manifesta-se através do condiloma acuminado. A maior parte das infecções por HPV é benigna e desaparece espontaneamente dentro de 1 a 5 anos<sup>3</sup>.

As primeiras observações associando as lesões verrucosas a um agente infeccioso ocorreram na década de 1920<sup>4</sup>. Em 1933, Shope e Hurst identificaram os primeiros papilomavírus (PV) nas lesões verrucosas de coelhos, confirmando a suspeita da etiologia infecciosa dessas lesões. Mais de 100 tipos de papilomavírus já foram descritos e distinguem-se entre si na sequência do DNA<sup>1</sup>.

Em 2003, Munoz *et al.*<sup>5</sup> classificaram os vírus como de alto e baixo risco, conforme o risco epidemiológico. Os de baixo risco são geralmente encontrados em condilomas vulvogenitais, que são

o foco de nosso estudo, e os de alto risco são associados ao câncer cervical. Foram classificados 15 subtipos virais de alto risco, entre eles estão os tipos: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56 e 58, sendo que os tipos 26, 53 e 66 poderiam também ser considerados de provável alto risco. Os tipos de baixo risco são: 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72 e 81 – e os tipos 34, 57 e 83 foram considerados de risco indeterminado. A relação entre o câncer cervical e o HPV é bem estabelecida. Os principais subtipos virais relacionados aos carcinomas são o 16 e o 18. Em relação aos condilomas, os subtipos mais prevalentes são o 6 e o 11<sup>6</sup>.

A infecção por HPV pode acometer jovens no início da atividade sexual, constituindo-se um fenômeno transitório em cerca de 80% dos casos. Mas uma pequena fração de mulheres apresenta persistência da infecção, provavelmente por falha de mecanismos imunológicos, o que pode provocar alteração no epitélio cervical e transformação maligna<sup>6</sup>.

Cerca de 40 tipos de HPV acometem o trato genital pelo contato sexual e atualmente tem sido a infecção sexualmente transmissível mais frequente no mundo<sup>7</sup>. A variação de prevalência nas diferentes populações é ampla (oscilando entre 1,4 e 25,6%), assim como a variação dos tipos virais<sup>8</sup>. O número de parceiros sexuais durante a vida destaca-se como um dos mais importantes fatores de risco, além das práticas sexuais e a diferença entre as idades do casal, com elevação do risco quanto maior a idade do parceiro<sup>9</sup>.

Ainda não está totalmente elucidado como o avançar da idade influencia na prevalência do HPV nas distintas populações do mun-

<sup>1</sup> Médica da Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal.

<sup>2</sup> Acadêmico de medicina da Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal.

<sup>3</sup> Acadêmica de medicina da Universidade do Oeste Paulista.

do<sup>10</sup>. Uma das explicações seria em relação ao comportamento de risco, mas alguns estudos relatam quedas de infecção mesmo em mulheres que mantêm contínua e intensa atividade sexual, sugerindo a maior relação com a imunidade específica à infecção<sup>10</sup>.

Devido a sua grande prevalência e à relação direta com o carcinoma cervical, o rastreamento da infecção deve ser realizado após início da atividade sexual feminina. O condiloma está frequentemente associado ao HPV de baixo potencial oncogênico, e esta lesão pode-se apresentar como pápulas vegetantes, róseas, ocorrendo na mucosa da glândula, vulva, do ânus e da vagina<sup>11</sup>.

## OBJETIVO

O objetivo do presente estudo foi estimar a prevalência de lesões condilomatosas causadas pela infecção por HPV na população do município de Campo Grande – Mato Grosso do Sul, no período de janeiro de 2006 a dezembro de 2009. Assim sendo, buscou-se delinear o perfil epidemiológico desta infecção na região, correlacionando os dados referentes a sexo, idade e escolaridade da população estudada.

## MÉTODOS

Estudo transversal de prevalência, realizado através de levantamento de dados fornecido pelo Sistema Nacional de Agravos Notificáveis (SINAN) do município de Campo Grande – MS, no período de janeiro de 2006 a dezembro de 2009, após solicitação protocolada.

Foram avaliadas as variáveis: idade (estratificada de 5 em 5 anos a partir do 0), sexo, raça, escolaridade e tempo de início dos sintomas. A análise estatística dos dados foi realizada com o uso do programa Microsoft Office Excel® 2007, os resultados foram obtidos pelo cálculo de percentuais.

## RESULTADOS

Conforme os dados colhidos, foi possível observar que, no período de janeiro de 2006 a dezembro de 2009, foram notificados 961 casos de lesões condilomatosas, havendo maior prevalência no sexo masculino, com 54,4% das notificações. Já em relação à distribuição anual, 23,7% dos casos foram diagnosticados em 2006, 13,7% em 2007, 33% foram notificados em 2008 e, em 2009, 29,4%.

Quanto à incidência nos pacientes menores que 10 anos, em 2006 não houve nenhuma notificação, em 2007 ocorreram dois casos, representando 1,5% do número de casos no mesmo ano. Em 2008 ocorreram cinco casos (1,5%) e em 2009, nove casos, com aumento de mais de 100% em relação ao ano anterior, o que representou 3,1% do total notificado no mesmo ano. A análise comparativa entre a fase de pré-adolescência e adolescência mostra um aumento crescente no número de casos, em 2006 ocorreu uma elevação de seis vezes, em 2007, de 30 vezes, em 2008, aproximadamente oito vezes, e em 2009, nove vezes.

Ao compararmos com as demais idades, conforme elevação da faixa etária, houve redução no número de novos casos da infecção (**Tabela 1**). Com relação aos diagnósticos realizados durante o período gestacional, foram totalizados 409 casos, estando distribuídos entre os anos de 2007, 2008 e 2009, com 36,4%, 32,5% e 31,0%, respectivamente. Quanto à classificação racial, houve gran-

**Tabela 1** – Casos notificados de condiloma acuminado, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, 2006 a 2009. Casos notificados estratificados por ano e por faixa etária.

Faixa Etária SINAN	2006	2007	2008	2009	Total
< 1 ano	0	1	3	3	7
1-4	0	0	2	3	5
5-9	0	1	0	3	4
10-14	8	1	7	5	21
15-19	49	30	57	44	180
20-34	131	81	180	172	564
35-49	30	12	55	39	136
50-64	9	5	10	13	37
65-79	0	0	3	1	4
80 e +	0	1	1	0	2
Ignorado	1	0	0	0	1
Total	228	132	318	283	961

Fonte: SINAN/SVE/SESAU/PMCG.

de defasagem nos dados coletados, sendo que em 94,3% das notificações a denominação ignorado foi utilizada para definição da raça. Já a incidência do condiloma na cor branca ocorreu em 3,4%, na cor preta, em 0,4%, na cor parda, em 1,3%, na cor amarela, em 0,2%, e na população indígena, em 0,3%.

Em relação ao início dos sintomas e à realização do diagnóstico, a grande maioria dos casos foi diagnosticada com menos de 3 meses de evolução, compreendendo 78,4% da população do estudo. Em 18,6% houve um intervalo de 3 a 6 meses para o diagnóstico, em 2,5% este período foi ainda maior, de 7 a 12 meses. Em apenas 0,4% o diagnóstico foi realizado após 1 ano do início dos sintomas. Quanto ao grau de escolaridade, a maioria dos pacientes não completou o ensino fundamental (76,5%). A prevalência encontrada na população do município de Campo Grande foi de 0,001%.

## DISCUSSÃO

A prevalência de lesões condilomatosas encontrada em Campo Grande foi relativamente baixa, impossibilitando a comparação com a literatura por escassez de dados, considerando que as informações foram coletadas apenas do sistema público de saúde, não sendo contabilizados os diagnósticos realizados pelo sistema privado.

Conforme foi evidenciado nesta pesquisa, a frequência de lesões condilomatosas tem crescido ao longo dos anos. Jenkis e Riley (1980)<sup>12</sup> também relataram um aumento de 10% das lesões ao ano, no Reino Unido.

De acordo com os dados obtidos no nosso estudo, houve maior frequência de infecção no sexo masculino, assim como em um estudo desenvolvido na Inglaterra, no período de 1972 a 2000, que evidenciou uma elevação no número de casos em homens, de 39,8 para 270, enquanto em mulheres passou de 25,3 para 190 por 100.000 habitantes (CDR, 2000)<sup>13</sup>. Oriel (1971)<sup>14</sup> e Schofield (1979)<sup>15</sup> também revelam que as verrugas genitais são mais comuns em homens que em mulheres.

Nosso trabalho encontrou um maior número de casos em pacientes adolescentes (15-19), em comparação com a pré-adolescência (10-14), o que se explica por uma coitarca mais tardia. Rama<sup>16</sup> não comparou as fases de adolescência e pré-adolescência,

mas encontrou uma maior prevalência em mulheres com menos de 25 anos de idade.

Encontramos maior prevalência na faixa etária entre 20 e 34 anos, o que corrobora com a literatura existente sobre o tema, assim como um grande aumento do número de casos na fase de pré-adolescência e adolescência, achado este que nos permite inferir uma elevação da incidência relacionada com o início da atividade sexual. Rama *et al.*<sup>16</sup> relataram um decréscimo da incidência a partir dos 25 anos, dado este que corrobora com o resultado encontrado em nosso estudo. Ainda há divergência quanto ao segundo pico de infecção encontrado em nosso estudo.

O elevado número de gestantes com infecção pode ser explicado pelo fator imunológico, Silveira *et al.*<sup>17</sup> também encontraram uma alta prevalência, e relataram que a gravidez é um fator predisponente à infecção pelo HPV, devido em parte à diminuição da imunidade celular e modificação dos hormônios esteroides, fato comprovado clinicamente pela alta taxa de regressão das lesões após o parto.

Em relação aos fatores sociodemográficos, a grande maioria dos pacientes não completou o ensino fundamental, fato relatado por Kornya *et al.*<sup>18</sup>, que encontraram maior prevalência de infecção em mulheres com menor escolaridade. Outro parâmetro avaliado foi a raça, mas apesar de todos os esforços para controlar e notificar a infecção, grande parte dos dados foi negligenciada. Apesar disso, foi encontrada uma maior prevalência na raça branca, mas sem diferença significativa. Shields *et al.*<sup>19</sup> relataram maior prevalência em mulheres negras e hispânicas.

Como nosso estudo foi elaborado por base de dados, não foi possível relacionar fatores de risco, apesar de descritos anteriormente. Analisamos apenas os dados do sistema público de saúde (SINAN, SVE, SESAU, PMCG), não englobando toda a população da cidade. Além disso, pôde ocorrer subnotificação de casos, não repassados para Secretaria de Saúde.

Ações preventivas baseiam-se na epidemiologia da infecção, propondo mudanças para a população e um melhor entendimento da doença. Estudos longitudinais para acompanhamento dos casos tornam-se importantes, a fim de dimensionar os problemas e orientar as ações em saúde.

## CONCLUSÃO

Foi observada elevação crescente no número de casos da infecção ao longo do período do estudo, com ênfase para os casos novos em crianças menores que 10 anos, o que infere aumento da incidência em pacientes gestantes, repercutindo em maior índice de transmissão vertical. Foi notório o salto observado no número de casos na transição entre a pré-adolescência e adolescência, inferindo o início da atividade sexual precoce destas pacientes.

Portanto, torna-se cada vez mais necessário iniciar precocemente as orientações de transmissão e prevenção de DST, para que possa ser evitada uma série de outras consequências, além das já descritas. Também cabe ao profissional de saúde o papel de desmistificador das dúvidas em relação ao início da realização do exame Papanicolaou, utilizado para diagnosticar este e outros agravos. São ainda necessários mais dados epidemiológicos acerca do tema, por ser uma infecção em grande ascensão no mundo.

## Conflito de interesses

Os autores declaram não haver nenhum tipo de conflito de interesse no desenvolvimento do estudo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, Zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology* 2004; 324: 17-27.
- Münger K, Howley PM. Human papillomavirus immortalization and transformation functions. *Virus Res* 2002; 89(2): 213-28.
- Burd EM. Human Papillomavirus and Cervical Cancer. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16(1): 1-17.
- Thomison J, Thomas LK, Shroyer KR. Human papillomavirus: molecular and cytologic/histologic aspects related to cervical intraepithelial neoplasia and carcinoma. *Human Pathology* 2008; 39: 154-66.
- Munoz N, Bosch FX, Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV et al. Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer. *N Engl J Med* 2003; 348: 518-27.
- Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol* 2002; 55(4): 244-65.
- Yuhan R, Orsay C, DelPino A, Pearl R, Pulvirenti J, Kay S et al. Anorectal disease in HIV-infected patients. *Dis Colon Rectum* 1998; 41: 1367-70.
- Clifford GM, Gallus S, Herrero R, Muñoz N, Snijders PJF, Vaccarella S et al. Worldwide distribution of Human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. *Lancet* 2005; 366(9490): 991-8.
- Baseman JG, Koutsky LA. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol* 2005; 32(suppl. 1): S16-24.
- Burk RD, Kelly P, Feldman J, Bromberg J, Vermund SH, DeHovitz JA et al. Declining prevalence of cervicovaginal human papillomavirus infection with age is independent of other risk factors. *Sex Transm Dis* 1996; 23(4): 333-41.
- Sampaio SAP. *Dermatologia*. 3ª ed. São Paulo: Artes Médicas; 2007.
- Jenkis MML, Riley VC. A review of outpatient. *Br J Clin Pract* 1980; 34: 237-41.
- Woodworth CD, Gaiotti D, Michael E, Hansen L, Nees M. Targeted disruption of the epidermal growth factor receptor inhibits development of papillomas and carcinomas from human papillomavirus immortalized keratinocytes. *Cancer Res* 2000; 60(16): 4397-402.
- Oriel JD. Natural history of genital warts. *Br J Vener Dis* 1971; 47: 1.
- Schofield CBS. Seasonal variations in the reported incidence of sexually transmitted disease in Scotland (1972-1976). *Br J Vener Dis* 1979; 55: 218.
- Rama CH, Roteli-Martins CM, Derchain SFM et al. Prevalência do HPV em mulheres rastreadas para o câncer cervical. *Rev Saúde Pública* Feb. 2008; 42(1).
- Silveira LMS, Veras RC, Cruz ALN, Faria MS. Gestação e papilomavírus humano: influência da idade materna, período gestacional, número de gestações e achados microbiológicos. *RBAC* 2008; 40(1): 43-47.
- Kornya L, Cseh I, Deak J, Bak M, Fulop V. The diagnostics and prevalence of genital Human papillomavirus (HPV) infection in Hungary. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2002; 100(2): 231-236.
- Shields TS, Brinton LA, Burk RD, Wang SS, Weinstein SJ, Ziegler RG et al. A Case-control study of risk factors for invasive cervical cancer among U.S. women exposed to oncogenic types of Human papillomavirus. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; 13(10): 1574-1582.

## Endereço para correspondência:

### ESTÊVÃO BARBOSA DA CRUZ

Rua Hermelita de Oliveira Gomes, 795, Bairro Santa Fé  
CEP: 79021-270

Email: ebc\_cruz@hotmail.com

Recebido em: 02.03.2011

Aprovado em: 11.03.2011

# AVALIAÇÃO CLÍNICA DA *UNCARIA TOMENTOSA* NO TRATAMENTO E CONTROLE DE LESÕES DECORRENTES DE INFECÇÃO PELO VÍRUS HERPES *SIMPLEX*

CLINICAL EVALUATION OF *UNCARIA TOMENTOSA* IN THE TREATMENT AND CONTROL OF LESIONS CAUSED BY *HERPES SIMPLEX* INFECTION

Carlos Romualdo B Gama<sup>1</sup>, Mariana DL Passos<sup>2</sup>, Rafael Varela<sup>3</sup>, Ricardo Lasmar<sup>4</sup>,  
Gustavo F Gama<sup>5</sup>, Lisa Oliveira<sup>6</sup>, João Gabriel L Daher<sup>7</sup>, Mauro Romero L Passos<sup>8</sup>, Mauro Geller<sup>9</sup>

## RESUMO

**Introdução:** as infecções causadas pelos vírus herpes *simplex* 1 e 2 representam uma das doenças sexualmente transmissíveis mais comuns em nível global e apresentam um amplo espectro de acometimento clínico. A *Uncaria tomentosa* é uma planta popularmente conhecida como unha-de-gato, cujos extratos são amplamente utilizados por suas propriedades farmacológicas, que influenciam com ações benéficas nas alergias, bem como possuem ação anti-inflamatória, antimicrobiana e antioxidante. **Objetivo:** o objetivo geral foi avaliar o uso tópico do extrato de *Uncaria tomentosa* na forma de gel 50 mg/g como adjuvante no tratamento e controle das lesões orais e genitais decorrentes da infecção com herpes *simplex*. Os objetivos específicos foram avaliar a eficácia e segurança do uso tópico do extrato como adjuvante no tratamento e controle das lesões orais e genitais decorrentes da infecção com herpes *simplex*, através de avaliações clínicas das lesões herpéticas e questionários realizados pelo paciente e pelo médico investigador; exame físico; incidência de eventos adversos; incidência de alteração de parâmetros laboratoriais. **Métodos:** estudo clínico em pacientes apresentando lesões decorrentes de infecção por HSV-1 ou HSV-2, tratados com o extrato de *Uncaria tomentosa* 50 mg/g na forma de gel tópico, durante um mínimo de 5 dias e um máximo de 10 dias. As avaliações de eficácia foram realizadas a partir de dados coletados antes do tratamento (pré-tratamento), após 5 dias de tratamento (visita 2), e após 10 dias de tratamento (visita final). As medidas primárias de eficácia incluíram a cura (definida como a perda da crosta dura) das lesões e a presença de dor e prurido nas lesões. As medidas secundárias de eficácia incluíram a presença de edema e/ou rubor nas lesões, e a incidência de desenvolvimento de novas lesões durante o período de tratamento, bem como a Avaliação do Médico, a Avaliação do Paciente e a Avaliação Global de Eficácia. A tolerabilidade clínica geral e a segurança foram analisadas pela incidência de todos os eventos adversos; pelos eventos adversos sérios e/ou hospitalizações; e síndromes de abstinência devidas a qualquer evento adverso; pela incidência de alteração clinicamente significativa nos exames laboratoriais realizados, bem como pela Avaliação Global de Segurança. Os resultados foram comparados para cada avaliação (pré-tratamento, avaliação 2, avaliação 3). **Resultados:** um total de 150 pacientes foi incluído na análise. Após 5 dias de tratamento (visita 2), 45 (30%) pacientes apresentavam cura total de todas as lesões, sendo considerados como sucesso terapêutico. Ao final de 10 dias de tratamento, 69 (68,3%) dos 101 pacientes que permaneceram no tratamento apresentavam cura total de todas as lesões. Foi observada uma redução estatisticamente significativa na porcentagem de pacientes apresentando dor quanto na visita 2 ( $p < 0,0001$ ) tanto na visita 3 ( $p < 0,0001$ ). Também foram observadas reduções estatisticamente significativas ( $p < 0,0001$  para todos) na porcentagem de pacientes apresentando prurido, eritema e ardência na visita 2 e na visita 3. Na visita 3 foi observada uma redução estatisticamente significativa ( $p = 0,0032$ ) na porcentagem de pacientes apresentando rubor. Não houve alteração nos sinais vitais registrados na visita 2 e visita 3 em relação aos valores pré-tratamento. Eventos adversos (EAs) foram registrados entre dez pacientes, sendo estes de intensidade branda ou moderada e transitórios. Na Avaliação do Paciente realizada durante a visita final, 70 pacientes (69,3%) responderam à avaliação com pontuação de 8-10. Na Avaliação do Médico realizada durante a visita final, 66 pacientes (65,3%) foram avaliados com 8-10 pontos. Na Avaliação Global de Eficácia realizada pelo médico investigador, a eficácia do medicamento foi avaliada como Muito Bom em 57 pacientes (38,3%). Na Avaliação Global de Segurança realizada pelo médico investigador ao final do período de tratamento, a tolerabilidade do medicamento foi considerada Muito Boa em 81 (54,4%) dos pacientes. **Conclusão:** com base nos resultados obtidos nesta avaliação, concluímos que o extrato de *Uncaria tomentosa* na forma de gel 50 mg/g foi eficaz e seguro no tratamento e controle das lesões orais e genitais decorrentes da infecção com HSV-1 e HSV-2, na população de pacientes avaliada.

**Palavras-chave:** *Uncaria tomentosa*, herpes *simplex* 1, herpes *simplex* 2, DST

<sup>1</sup> Prof. Titular de Ginecologia da Faculdade de Medicina de Teresópolis – UNIFESO, Doutor em Ginecologia pela UNESP, Titular do Colégio Brasileiro de Cirurgiões.

<sup>2</sup> Médica do Setor de DST da Universidade Federal Fluminense.

<sup>3</sup> Prof. Adjunto de Virologia do Departamento de Microbiologia e Parasitologia (MIP) – Instituto Biomédico - UFF.

<sup>4</sup> Doutor em Ginecologia pela UNESP, Prof. Adjunto da Faculdade de Medicina da UFF.

<sup>5</sup> Médico residente em Ginecologia da Faculdade de Medicina da UFJF.

<sup>6</sup> Pesquisadora bolsista do Departamento de Imunologia e Microbiologia da Faculdade de Medicina de Teresópolis – UNIFESO.

<sup>7</sup> Médico do CNNF – Santa Casa de Misericórdia do Rio de Janeiro.

<sup>8</sup> Prof. Associado Chefe do Setor de DST – UFF.

<sup>9</sup> Prof. Titular de Imunologia da Faculdade de Medicina Teresópolis – UNIFESO. Prof. Titular de Imunologia Clínica do Instituto de Pós-Graduação Médica Carlos Chagas. Prof. da New York University. Prof. Coordenador do Setor de Facomatoses do Serviço de Genética Clínica – IPPMG-UFRJ.

## INTRODUÇÃO

As lesões de herpes genital e oral são decorrentes de infecção pelo vírus herpes *simplex*. O vírus herpes *simplex* tipo 1 (HSV-1) ou herpesvírus humano 1 (HHV-1), é o agente etiológico principal das lesões vesiculares na região orofacial, enquanto o vírus herpes *simplex* 2 (HSV-2), ou herpesvírus humano 2 (HHV-2) é a causa principal das lesões na região genital<sup>1,2</sup>. Entretanto, o HSV-1 pode levar a lesões na região genital e, embora mais raro, a HSV-2 pode ser manifestado na região orofacial<sup>1,3</sup>. As infecções pelos vírus herpes *simplex* (HSV-1 e HSV-2) representam uma das doenças sexualmente transmissíveis mais comuns em nível global, alcançando uma soroprevalência de 80% em adultos, e apresentam um amplo espectro de acometimento clínico<sup>3,4</sup>.

As designações clínicas das infecções por HSV podem ser classificadas como primária, não primária ou recorrente<sup>3,5</sup>. As infecções primárias por HSV ocorrem por contato direto com lesões ou objetos contaminados<sup>6-8</sup>. O surgimento de um episódio

**ABSTRACT**

**Introduction:** infections caused by herpes simplex viruses represent one of the most common sexually transmitted diseases globally, and account for a broad spectrum of clinical involvement. *Uncaria tomentosa* is a plant commonly known as cat's claw, the extracts of which are widely used for its pharmacological properties, which include beneficial effects on allergies as well as anti-inflammatory, antimicrobial, and antioxidant activity. **Objective:** the overall objective of this study was to evaluate the topical use of *Uncaria tomentosa* extract in the form of a 50mg/g gel as an adjuvant in the treatment and control of oral and genital lesions resulting from infection by herpes simplex. The specific objectives were to evaluate the efficacy and safety of the use of topical *Uncaria tomentosa* extract in the treatment and control of oral and genital lesions resulting from infection by herpes simplex, through clinical assessments of the herpetic lesions and questionnaires answered by the patients and the investigating physician; physical examination; incidence of adverse events; and incidence of changes in laboratory exam parameters. **Methods:** an open study in patients presenting lesions resulting from HSV-1 or HSV-2 infection, treated with *Uncaria tomentosa* extract in the form of a 50 mg/g topical gel, during a minimum of 5 days and a maximum of 10 days. The efficacy assessments were performed using data collected prior to treatment (pretreatment), after 5 days of treatment (visit 2), and after 10 days of treatment (final visit). Primary efficacy measures included cure (defined as loss of the hard crust) of the lesions and presence of pain and pruritis in the lesions. Secondary efficacy measures included the presence of edema and/or rubor in the lesions, and the incidence of new lesion development during the treatment period, as well as the Physician's Assessment, the Patient's Assessment, and the Global Efficacy Assessment. Overall clinical tolerability and safety were analyzed by: the incidence of all adverse events; serious adverse events and/or hospitalizations; abstinence syndromes due to any adverse event; incidence of clinically significant alterations in laboratory tests, as well as the Global Safety Assessment. The results were compared for each evaluation (pretreatment/visit 2/visit 3). **Results:** a total of 150 patients were included in the analysis. After 5 days of treatment (visit 2), 45 (30%) presented complete lesion healing, and were considered therapeutic successes. After 10 days of treatment, 69 (68.3%) of the 101 patients who remained in treatment presented total lesion healing. There was a statistically significant reduction in the percentage of patients presenting pain at visit 2 ( $p < 0.0001$ ) and at visit 3 ( $p < 0.0001$ ), and statistically significant reductions ( $p < 0.0001$  for all) in the percentage of patients presenting pruritis, edema and burning at visit 2 and visit 3. At visit 3, there was a statistically significant reduction ( $p = 0.0032$ ) in the percentage of patients presenting rubor. No changes in vital signs were recorded at visit 2 and at visit 3, in relation to pretreatment values. Adverse events (EAs) were registered in 10 patients; these were classified as mild or moderate in intensity, and transitory. In the patient's assessment carried out at the final visit, 70 patients (69.3%) responded to the assessment with scores of 8-10. In the Physician's assessment carried out during the final visit, 66 patients (65.3%) received scores of 8-10. In the Global Efficacy Assessment performed by the investigating physician, efficacy was deemed Very Good in 57 patients (38.3%). In the Global Safety Assessment performed by the investigating physician at the end of the treatment period, tolerability of the medication was considered Very Good in 81 (54.4%) of the patients. **Conclusion:** Based on the results obtained with this evaluation, we conclude that *Uncaria tomentosa* extract in the form of 50 mg/g gel was safe and effective in the treatment and control of the oral and genital lesions resulting from HSV-1 and HSV-2 infection, in the patient population evaluated.

**Keywords:** *Uncaria tomentosa*, herpes simplex 1, herpes simplex 2, STD

de HSV é definido como primário se o paciente estava soronegativo para HSV-1 e HSV-2 antes do aparecimento das lesões<sup>7</sup>. A inoculação do HSV nas superfícies mucosas ou na pele não íntegra permite a entrada do vírus no tecido epitelial e então para as terminações nervosas autonômicas<sup>3</sup>. As infecções secundárias ocorrem no caso de infecção de HSV-1 genital em um indivíduo com anticorpos HSV-2 preexistentes ou a aquisição do HSV-2 genital em um indivíduo com anticorpos HSV-1 preexistentes<sup>6,7</sup>. A infecção recorrente ou a recrudescência viral refere-se à reativação do HSV de seu estado de latência, provocando a excreção viral no tecido epitelial, com ou sem o surgimento das lesões herpéticas características<sup>4</sup>.

Nas infecções primárias, o início das manifestações clínicas ocorre de forma abrupta, após um período de incubação de 2 a 12 dias, sendo este episódio inicial em geral o mais severo, com o surgimento de múltiplas lesões vesiculares características, superpostas em uma base eritematosa e inflamatória<sup>9</sup>. A infecção primária pode estar acompanhada por diversos sinais e sintomas constitucionais, como febre, mal-estar e cefaleia<sup>1,7</sup>. No caso do herpes genital, o paciente pode também apresentar disúria<sup>10</sup>. As lesões podem ser dolorosas e permanecem durante 2 a 3 semanas. As vesículas são agrupadas em sua maioria em um único local anatômico, mas pode ocorrer a autoinoculação para outros locais<sup>11</sup>. Apesar de os sintomas poderem ser bastante severos, em cerca de um terço dos pacientes com herpes genital e oral, as infecções são assintomáticas, possibilitando a transmissão viral entre indivíduos por meio de contato com secreções corporais ou membranas mucosas, sem que seja notado qualquer sinal de doença<sup>1,3,5,10</sup>.

Após a infecção primária, o vírus permanece em um estado latente nos gânglios dos neurônios, podendo reativar-se<sup>5</sup>. A frequência e a severidade da reativação são determinadas por diversos fatores, incluindo a imunodeficiência ou o estresse<sup>12,13</sup>. O HSV recorrente é raramente associado a sinais sistêmicos, com exceção

da linfadenopatia local<sup>13</sup>. A reativação é com frequência precedida por sintomas prodrômicos, que incluem o aumento de sensibilidade, formigamento, mialgias, ardência e prurido, que podem ocorrer entre 6 e 53 horas antes de aparecerem as lesões vesiculares<sup>1</sup>. Episódios recorrentes ocorrem quando o vírus migra por via neuronal e emerge na pele, causando o surgimento das lesões características<sup>12</sup>. Estes episódios recorrentes tendem a ser mais brandos do que o episódio inicial, e em alguns casos não causam sintomas notáveis<sup>12</sup>.

Quando presentes, as vesículas em geral permanecem por menos tempo, por volta de 10 dias. As úlceras podem se desenvolver no mesmo local da primeira manifestação ou podem surgir em áreas novas, sendo possível o desenvolvimento de lesões em locais onde não ocorreu contato direto. Os fatores que contribuem para o reaparecimento das lesões incluem doença, estresse, radiação ultravioleta, pílulas anticoncepcionais, fadiga e trauma na área de infecção<sup>14-16</sup>. Em pacientes femininos, o período menstrual pode também desencadear o aparecimento de lesões<sup>14</sup>. A frequência das recorrências varia entre uma vez por mês até uma a duas vezes por ano<sup>16</sup>.

O controle inicial da infecção por HSV requer a imunidade celular intacta. Assim, os hospedeiros imunocomprometidos estão em risco para infecções recorrentes com maior frequência e severidade, bem como a disseminação da infecção, que pode acometer locais que raramente afetam hospedeiros imunocompetentes, como os pulmões, o trato gastrointestinal e o sistema nervoso central. Os fatores de risco para a severidade de infecção por HSV acentuada incluem história de infecção por HIV, malignidade, transplante de órgãos, má nutrição, gravidez e idade avançada<sup>17-22</sup>.

O diagnóstico da infecção por HSV é baseado no histórico médico do paciente, nos sinais e sintomas e nos resultados de testes diagnósticos. No caso de herpes genital, é fundamental diferenciar as lesões de outras doenças sexualmente transmissíveis que pro-



duzem úlceras genitais, como sífilis e cancroide<sup>23</sup>. Existem diversos testes diagnósticos que auxiliam na confirmação diagnóstica do HSV (incluindo cultura, sorologia e PCR), que confirmam a infecção e identificam qual vírus (HSV-1 ou HSV-2) é responsável, e podem também detectar a propagação viral assintomática em pacientes com infecção conhecida<sup>23-27</sup>.

O tratamento e a prevenção da infecção por HSV dependem de diversos fatores, incluindo o local da infecção, a severidade dos sintomas, a frequência de recrudescência, e o estado imunológico do paciente<sup>28</sup>. Os tratamentos sistêmicos incluem diversos derivados de nucleosídeos que interferem com a síntese do DNA viral. O aciclovir, um análogo nucleosídeo acíclico, é o tratamento mais comumente utilizado nas infecções por HSV<sup>28,29</sup>. A terapia tópica é frequentemente utilizada em indivíduos com recorrências menos frequentes e severas, e busca reduzir a dor, o desconforto e o impacto cosmético temporário das lesões, com a redução do tempo de cura e da dor da lesão como objetivos principais do tratamento<sup>30</sup>.

A *Uncaria tomentosa* é uma planta popularmente conhecida como unha-de-gato, cujos extratos são amplamente utilizados por suas propriedades farmacológicas, que provocam ações benéficas nas alergias, como agente anti-inflamatório, antimicrobiano e antioxidante. Tem sido utilizada na artrite, no tratamento de câncer e na displasia da cérvix, na doença de Crohn, em diverticulite, endometriose, fibromialgia, esclerose múltipla, rosácea e lúpus eritematoso sistêmico, entre outros. Devido ao número de componentes potencialmente ativos, a farmacologia da *Uncaria tomentosa* tem sido difícil de identificar. A atividade imunomoduladora pode ser derivada de múltiplos componentes.

Diversos glicosídeos são relatados como estimuladores da fagocitose. A isopteridina possui propriedades imunoestimulatórias. Os alcaloides triterpenoides e os glicosídeos de ácidos quinóvicos podem inibir a replicação de alguns vírus de DNA. A atividade anti-inflamatória da *Uncaria tomentosa* pode também estar relacionada a múltiplos componentes. Os esteróis possuem atividade anti-inflamatória confirmada em estudos em modelos animais, enquanto os componentes glicosídeos podem reduzir a inflamação e o edema. As proantocianidinas parecem ser antioxidantes potentes, que melhoram a fragilidade capilar e inibem o fator de ativação plaquetária. A rhincofilina pode inibir a agregação plaquetária e a formação de trombos<sup>31-41</sup>.

## OBJETIVO

Avaliar o uso tópico do extrato de *Uncaria tomentosa* na forma de gel 50 mg/g como adjuvante no tratamento e controle das lesões orais e genitais decorrentes da infecção com herpes *simplex*, através de avaliações clínicas das lesões herpéticas realizadas pelo paciente e pelo médico investigador.

Avaliar a eficácia e segurança do uso tópico do extrato de *Uncaria tomentosa* na forma de gel 50 mg/g como adjuvante no tratamento e controle das lesões orais e genitais decorrentes da infecção com herpes *simplex*, através de: avaliações clínicas das lesões herpéticas realizadas pelo paciente e pelo médico investigador; avaliações realizadas em forma de questionário aos pacientes e ao médico; exame físico; incidência de eventos adversos; incidência

de alteração de parâmetros laboratoriais (alterações clinicamente significativas).

## MÉTODOS

Este foi um estudo clínico, incluindo um total de 150 pacientes apresentando lesões decorrentes de infecção por HSV-1 ou HSV-2, tratados durante um mínimo de 5 dias e um máximo de 10 dias. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro Universitário Serra dos Órgãos (UNIFESO) (nº 456-10). Os pacientes foram designados em número de três algarismos, sequencial, a partir de 001, que foi utilizado para preservar sua identificação.

A partir do prontuário hospitalar, foram selecionados 150 pacientes, tratados até a data do protocolo (30 de abril de 2010), atendidos no Hospital das Clínicas de Teresópolis e que receberam tratamento com o extrato de *Uncaria tomentosa* 50 mg/g na forma de gel de uso tópico.

Foi preenchida a Ficha Clínica de Avaliação, que contemplou os resultados do exame físico (incluindo altura, peso, frequência cardíaca e pressão sanguínea) e exames clínicos laboratoriais obtidos antes do tratamento e na conclusão da terapia. As avaliações de eficácia foram realizadas a partir de dados coletados antes do tratamento (pré-tratamento), após 5 dias de tratamento (visita 2), e após 10 dias de tratamento (visita final). As medidas primárias de eficácia incluíram a cura (definida como a perda da crosta dura) das lesões e a presença de dor e prurido nas lesões. As medidas secundárias de eficácia incluíram a presença de edema e/ou rubor nas lesões, e a incidência de desenvolvimento de novas lesões durante o período de tratamento, bem como a Avaliação do Médico, a Avaliação do Paciente e a Avaliação Global de Eficácia.

A tolerabilidade clínica geral e a segurança foram analisadas pela incidência de todos os eventos adversos; eventos adversos sérios e/ou hospitalizações; e síndromes de abstinência devidas a qualquer evento adverso; incidência de alteração clinicamente significativa nos exames laboratoriais realizados, bem como a Avaliação Global de Segurança. Os dados referentes à adesão ao regime de tratamento, o uso de medicamentos concomitantes e a ocorrência de eventos adversos foram levantados para cada período de avaliação do estudo (antes do tratamento, após 5 dias e após 10 dias de tratamento). Após 5 dias de tratamento, caso o paciente apresentasse cura das lesões, seria considerado como sucesso terapêutico.

Os critérios de inclusão abrangeram pacientes de ambos os sexos, com idades entre 18 e 65 anos, com diagnóstico prévio de infecção por HSV-1 ou HSV-2 (herpes genital ou oral) recorrente e ativa (presença de lesões). As pacientes femininas deveriam estar em pós-menopausa ou em uso de anticoncepcional adequado (anticoncepcional hormonal, DIU, camisinha), não deveriam estar amamentando, nem grávidas. Foram excluídos da avaliação pacientes apresentando:

- infecção primária por HSV-1 ou 2;
- gravidez ou lactação (pacientes femininos);
- hipersensibilidade ou intolerância a qualquer componente do medicamento do estudo;

- apresentação clínica ou histórico médico de distúrbios de imunodeficiência;
- uso de medicamentos anti-inflamatórios (incluindo corticoides tópicos) dentro de 30 dias da avaliação pré-tratamento;
- qualquer terapia antiviral dentro de 10 dias da avaliação pré-tratamento;
- qualquer doença ou condição (inclusive alteração de exame laboratorial) que, na opinião do investigador, deveria excluir o paciente do estudo.

A Ficha Clínica de Avaliação contemplava: dados demográficos, histórico médico e exame físico, avaliação das lesões por infecção com HSV, exames laboratoriais, efeitos adversos, utilização de medicamentos concomitantes, a Avaliação do Paciente (realizada pelo paciente), a Avaliação do Médico (realizada pelo médico do serviço), a Avaliação Global de Eficácia (realizada pelo médico investigador), bem como a Avaliação Global de Segurança (realizada pelo médico investigador).

A Ficha Clínica de Pesquisa foi preenchida, armazenada, codificada e os dados, analisados através do programa GraphPad Prism 5. 0. Foram geradas tabelas de frequência e realizadas medidas de tendência central (média, mediana, moda). Conforme apropriado, foi utilizada a análise de variância (ANOVA) para variáveis contínuas e o teste de Fisher ou  $\chi^2$  para variáveis categóricas. Os resultados foram comparados para cada avaliação (pré-tratamento, avaliação 2 e avaliação 3).

As variáveis primárias de eficácia incluíram as seguintes avaliações: tempo (em dias) até a cura (definido como a perda da crosta dura) das lesões, presença de dor e prurido nas lesões avaliadas. As variáveis secundárias de eficácia incluíram as seguintes avaliações: presença de rubor e eritema nas lesões avaliadas, desenvolvimento de novas lesões na área tratada, avaliação do médico e do paciente, e a Avaliação Global de Eficácia realizada pelo médico ao final do período de tratamento. Os desfechos de eficácia neste estudo incluíram a porcentagem de pacientes apresentando cura após 5 e 10 dias de tratamento, a porcentagem de pacientes apresentando dor, prurido, rubor e eritema nas lesões avaliadas na visita final, a porcentagem de pacientes apresentando o desenvolvimento de novas lesões na visita 2 e na visita final, a porcentagem de pacientes com pontuação de 8-10 na Avaliação do Paciente e na avaliação do Médico na visita final, bem como a porcentagem de pacientes recebendo avaliação de Muito Bom na Avaliação Final de Eficácia, realizada pelo médico.

As variáveis primárias de segurança incluíram as seguintes avaliações: quaisquer alterações nos sinais vitais, exame físico ou exames clínicos laboratoriais registradas na visita final em relação à avaliação pré-tratamento. Quaisquer exames laboratoriais registrados fora da faixa de normalidade na visita final foram considerados eventos adversos. Foi avaliada também a ocorrência de quaisquer eventos adversos, a partir da primeira administração do medicamento do estudo. A variável secundária de eficácia foi a Avaliação de Global de Tolerabilidade, realizada pelo médico ao final do período de tratamento. Os desfechos de segurança neste estudo foram: a porcentagem de pacientes apresentando eventos adversos e alterações laboratoriais, bem como a porcentagem de pacientes recebendo avaliação de Muito Bom na Avaliação Final de Tolerabilidade, realizada pelo médico.

## RESULTADOS

### Características Pré-Tratamento e Avaliação das Lesões

Um total de 150 pacientes foi incluído na análise. Destes, 83 (55,3%) eram do sexo feminino e 67 (44,7%), do sexo masculino. A idade média dos pacientes foi de 38,23 anos ( $\pm 7,77$ ). Noventa e um pacientes (60,7%) apresentavam diagnóstico de infecção por HSV-1, enquanto 59 pacientes (39,3%) apresentavam infecção por HSV-2, com uma duração média de infecção de 21,66 anos ( $\pm 8,28$ ) desde o primeiro surgimento de sintomas. Todos os pacientes relataram episódios recorrentes de lesões, com uma média de recorrências/ano de 3,37 ( $\pm 1,2$ ). Setenta e quatro por cento dos pacientes relataram a presença de pródromos antecedendo o surgimento de novas lesões, sendo o mais frequente o prurido, assinalado por 72 (48%) pacientes, seguido de formigamento, relatado por 56 (37,3%) pacientes, ardência (em 55 pacientes), aumento de sensibilidade, relatado por 44 (29,3%) pacientes e mialgia em 18 (12%) dos pacientes. Na **Tabela 1** estão resumidas outras características pré-tratamento destes pacientes.

A **Figura 1** apresenta o número de pacientes manifestando lesões nas fases de vesícula, erosão, úlcera e crosta em cada avaliação do estudo. Na visita 2, 104 pacientes (69,3%) apresentavam ao menos uma lesão com cura total, enquanto na visita 3, 95 pacientes (94%) apresentavam ao menos uma lesão com cura total.

**Tabela 1** – Características dos pacientes no pré-tratamento

Característica	Número de Pacientes
<i>Área afetada</i>	
Face	84
Região genital	66
<i>Localização da lesão</i>	
Cutânea	113
Mucosa	30
Cutânea/mucosa	7
<i>Manifestações sistêmicas</i>	
Ansiedade	1
Artralgia	3
Astenia	8
Cefaleia	2
Hipertermia	1
Inapetência	1
Sono interrompido	1
Temperatura elevada	1
Linfadenopatia	
Nenhuma	146
Cervical	1
Inguinal	1
Submandibular	1
Supramandibular	1

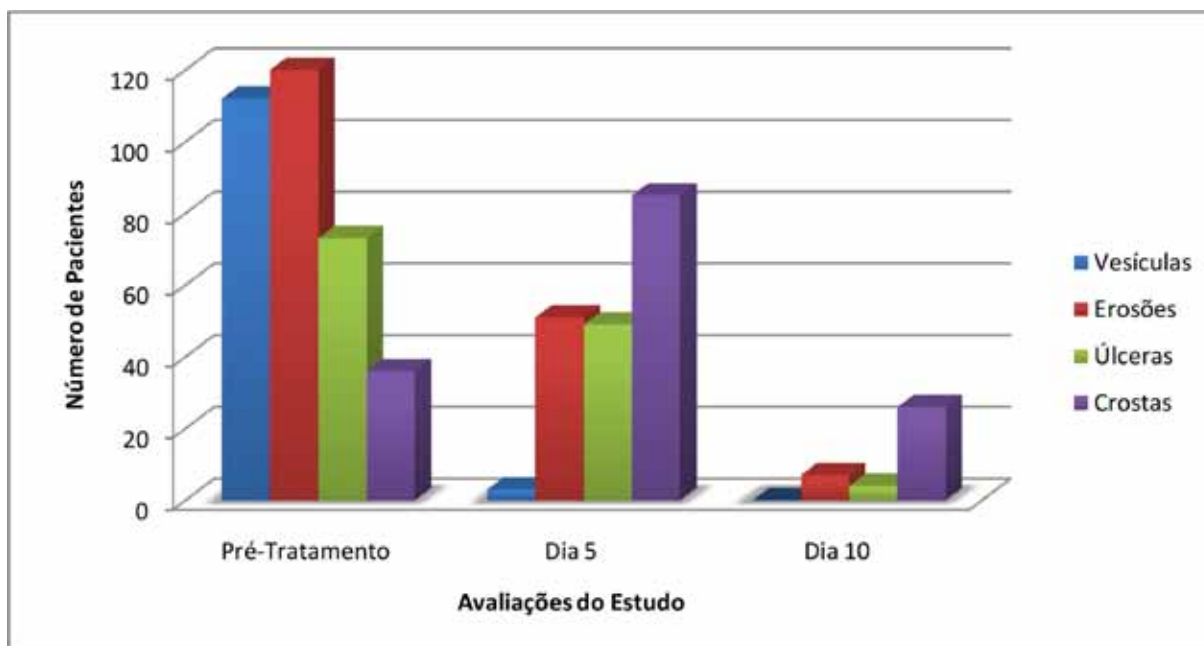


Figura 1 – Número de pacientes apresentando cada fase de lesão.

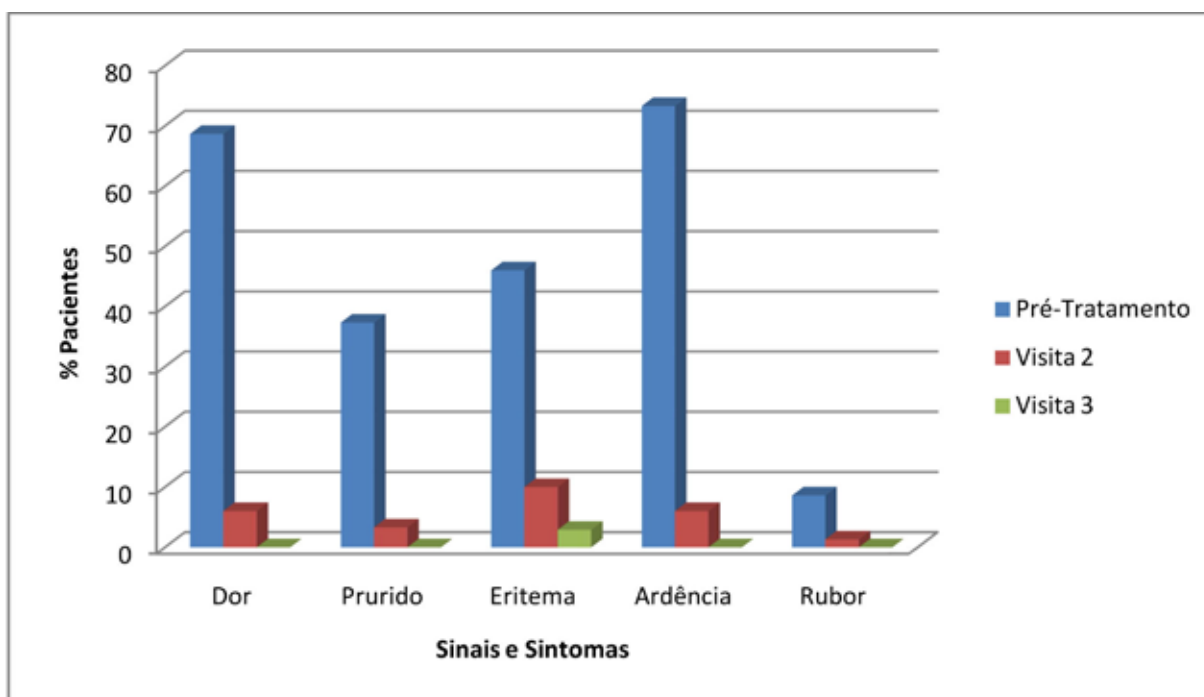


Figura 2 – Avaliação das lesões em cada visita do estudo.

### Desfechos de Eficácia

Após 5 dias de tratamento (visita 2), 45 (30%) pacientes apresentavam cura total de todas as lesões e foram retirados do estudo devido ao sucesso terapêutico. Ao final de 10 dias de tratamento, 69 (68,3%) dos 101 pacientes que permaneceram no estudo apresentavam cura total de todas as lesões. A **Figura 2** resume os resultados de eficácia em relação à avaliação das lesões realizada em cada visita do estudo. Foi observada uma redução estatisticamente

significativa na porcentagem de pacientes apresentando dor, tanto na visita 2 ( $p < 0,0001$ ) quanto na visita 3 ( $p < 0,0001$ ). Também foram observadas reduções estatisticamente significativas ( $p < 0,0001$  para todos) na porcentagem de pacientes apresentando prurido, eritema e ardência na visita 2 e na visita 3, em relação aos valores pré-tratamento. Na visita 2, embora tenha sido observada uma redução na porcentagem de pacientes apresentando rubor, este número não alcançou a significância estatística. En-

tretanto, na visita 3 foi observada uma redução estatisticamente significativa ( $p = 0,0032$ ) na porcentagem de pacientes apresentando rubor.

Na visita 2, 11 pacientes (7,3%) apresentaram nova lesão herpética, enquanto na visita 3, dois pacientes (1,98%) apresentaram desenvolvimento de nova lesão. Na Avaliação do Paciente realizada durante a visita final, 70 pacientes (69,3%) responderam à avaliação, com pontuação de 8-10. Na Avaliação do Médico realizada durante a visita final, 66 pacientes (65,3%) foram avaliados com 8-10 pontos. Na Avaliação Final de Eficácia realizada pelo médico, a eficácia do medicamento foi avaliada como Muito Bom em 57 pacientes (38,3%), enquanto em 53 pacientes (35,6%) a eficácia geral do medicamento foi avaliada como Bom, a eficácia foi considerada Aceitável em 23 (15,4%) pacientes, e Ruim em 16 (10,7%) pacientes.

### Desfechos de Segurança

Não houve alteração nos sinais vitais registrados nas visitas 2 e 3 em relação aos valores pré-tratamento (pressão sanguínea sistólica:  $p = 0,867$ ; pressão sanguínea diastólica:  $p = 0,653$ ; frequência cardíaca:  $p = 0,111$ ; frequência respiratória:  $p = 0,866$ ; temperatura:  $p = 0,902$ ). Não foram registradas alterações no exame físico além das alterações das lesões herpéticas descritas acima. Nenhuma alteração laboratorial foi registrada nas visitas 2 e 3 em relação aos valores pré-tratamento, e todos os resultados de exame permaneceram dentro dos valores de referência laboratorial.

Eventos adversos (EAs) foram registrados entre dez pacientes, sendo que seis pacientes (4%) apresentaram EAs na visita 2 e quatro pacientes (3,96%) apresentaram EAs na visita 3. Do total de 18 EAs registrados, quatro pacientes apresentaram um evento cada, outros quatro pacientes apresentaram dois EAs cada e dois pacientes apresentaram três EAs. A duração média dos EAs foi de 2,5 dias, com uma duração mínima de 10 horas e máxima de 4 dias. A **Tabela 2** apresenta os EAs registrados e sua severidade, bem como o número de pacientes afetados por cada um.

**Tabela 2** – Eventos adversos apresentados pelos pacientes

Diagnóstico	Severidade	Número de Pacientes Afetados
Astenia	Brando	1
Cefaleia	Brando	1
Cefaleia	Moderado	4
Cólica abdominal	Moderado	1
Depressão	Brando	1
Eritema local	Moderado	1
Insônia	Brando	1
Irritabilidade local	Moderado	1
Nausea	Brando	2
Náuseas	Moderado	2
Prurido	Brando	1
Rash cutâneo	Brando	1
Rinite	Brando	1

Na Avaliação Global de Segurança, realizada pelo médico ao final do período de tratamento, a tolerabilidade do medicamento foi considerada Muito Bom em 81 (54,4%) dos pacientes, Bom em 52 pacientes (34,9%), Aceitável em 13 pacientes (8,7%) e Ruim em 3 pacientes (2%).

### DISCUSSÃO

Nesta avaliação foi observada uma melhora clínica nas lesões herpéticas dos pacientes tratados com gel tópico contendo extrato de *Uncaria tomentosa*, considerando-se as avaliações dos sinais e sintomas de dor, prurido, eritema, ardência e rubor nas lesões, bem como no número de pacientes apresentando cura total ou parcial das lesões. Um benefício clínico significativo foi obtido após 5 dias de tratamento, e persistiu até o final do período de tratamento de 10 dias. A tolerabilidade e segurança foram excelentes, com apenas 6,7% do total de pacientes relatando eventos adversos. Estes, quando observados, eram brandos ou moderados, sendo que nenhum evento adverso de intensidade severa foi registrado durante o período de tratamento. Os sinais vitais e exames laboratoriais não se alteraram em relação aos valores registrados antes da primeira aplicação do medicamento.

Estes achados estão em conformidade com as informações obtidas em revisão da literatura. Um estudo recente comparou o uso do extrato de *Uncaria tomentosa* versus aciclovir em pacientes apresentando herpes labial. Os autores relataram uma não inferioridade terapêutica do extrato de *Uncaria tomentosa* em termos de alterações no processo inflamatório, formação de crosta nas lesões e na avaliação de segurança<sup>42</sup>. A ação terapêutica do extrato de *Uncaria tomentosa* nas lesões causadas por HSV-1 e HSV-2 pode ter como base as propriedades anti-inflamatórias, antivirais e de imunestimulação desta planta<sup>43,44</sup>. É possível que uma combinação destes efeitos propicie benefícios terapêuticos quando do tratamento das lesões na mucosa oral e na região genital, causadas pelo herpes *simplex*.

### CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos nesta avaliação, concluímos que o extrato de *Uncaria tomentosa* na forma de gel 50 mg/g foi eficaz e seguro no tratamento e controle das lesões orais e genitais decorrentes da infecção com HSV-1 e HSV-2, na população de pacientes avaliada.

### Conflito de interesses

Os autores declaram não haver nenhum tipo de conflito de interesse no desenvolvimento do estudo.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Corey L, Spear PG. Infections with herpes simplex viruses. *N Engl J Med* 1986; 314: 686.
2. Gupta R, Warren T, Wald A. Genital Herpes. *Lancet* 2007; 370: 2127.
3. Engelberg R, Carrell D, Krantz E et al. Natural history of genital herpes simplex virus type 1 infection. *Sex Transm Dis* 2003; 30: 174.
4. Johnson RE, Nahmias AJ, Magder LS et al. A seroepidemiologic survey of the prevalence of herpes simplex virus type 2 infection in the United States. *N Engl J Med* 1989; 321: 7.

5. Whitley RJ, Kimberlin DW, Roizman B. Herpes simplex viruses. *Clin Infect Dis* 1998; 26: 541.
6. Corey L, Adams HG, Brown ZA, Holmes KK. Genital herpes simplex virus infections: Clinical manifestations, course, and complications. *Ann Intern Med* 1983; 98: 958.
7. Kimberlin DW, Rouse DJ. Clinical practice. Genital herpes. *N Engl J Med* 2004; 350: 1970.
8. Mertz GJ, Benedetti J, Ashley R et al. Risk factors for the sexual transmission of genital herpes. *Ann Intern Med* 1992; 116: 197.
9. Benedetti J, Corey L, Ashley R. Recurrence rates in genital herpes after symptomatic first-episode infection. *Ann Intern Med* 1994; 121: 847.
10. Kimberlin DW, Rouse DJ. Clinical practice. Genital herpes. *N Engl J Med* 2004; 350: 1970.
11. Johnston C, Magaret A, Selke S et al. Herpes simplex virus viremia during primary genital infection. *J Infect Dis* 2008; 198: 31.
12. Benedetti JK, Zeh J, Corey L. Clinical reactivation of genital herpes simplex virus infection decreases in frequency over time. *Ann Intern Med* 1999; 131: 14.
13. Corey L, Mindel A, Fife KH et al. Risk of recurrence after treatment of first-episode genital herpes with intravenous acyclovir. *Sex Transm Dis* 1985; 12: 215.
14. Freeman ML, Sheridan BS, Bonneau RH, Hendricks RL. Psychological Stress Compromises CD8+ T Cell Control of Latent Herpes Simplex Virus Type 1 Infections. *J Immunol* 2007; 179: 322.
15. Spruance SL, Overall JC, Kern ER et al. The natural history of recurrent herpes simplex labialis. *N Engl J Med* 1977; 297: 69.
16. Lafferty W, Coombs RW, Benedetti J et al. Recurrences after oral and genital herpes simplex virus infection. Influence of site of infection and viral type. *N Engl J Med* 1987; 316: 1444.
17. Becker W, Naude WD, Kipps A, McKenzie D. Virus studies in disseminated herpes simplex infections: association with malnutrition in children. *S Afr Med J* 1963; 37: 74.
18. Muller SA, Herrmann EC Jr, Winkelmann RK. Herpes simplex infections in hematologic malignancies. *Am J Med* 1972; 52: 102.
19. Foley FD, Greenawald KA, Nash G, Pruitt BA Jr. Herpesvirus infection in burned patients. *N Engl J Med* 1970; 282: 652.
20. Siegal FP, Lopez C, Hammer GS et al. Severe acquired immunodeficiency in male homosexuals, manifested by chronic perianal ulcerative herpes simplex lesions. *N Engl J Med* 1981; 305: 1439.
21. Hillard P, Seeds J, Cefalo R. Disseminated herpes simplex in pregnancy: two cases and a review. *Obstet Gynecol Surv* 1982; 37: 449.
22. Frederick DM, Bland D, Gollin Y. Fatal disseminated herpes simplex virus infection in a previously healthy pregnant woman. A case report. *J Reprod Med* 2002; 47: 591.
23. Sen P, Barton SE. Genital herpes and its management. *BMJ* 2007; 334: 1048.
24. Wald A, Ashley-Morrow R. Serological testing for herpes simplex virus (HSV)-1 and HSV-2 infection. *Clin Infect Dis* 2002; 35: S173.
25. Prince HE, Ernst CE, Hogrefe WR. Evaluation of an enzyme immunoassay system for measuring herpes simplex virus (HSV) type 1-specific and HSV type 2-specific IgG antibodies. *J Clin Lab Anal* 2000; 14: 13.
26. Whittington WL, Celum CL, Cent A, Ashley RL. Use of a glycoprotein G-based type-specific assay to detect antibodies to herpes simplex virus type 2 among persons attending sexually transmitted disease clinics. *Sex Transm Dis* 2001; 28: 99.
27. Corey L, Huang ML, Selke S, Wald A. Differentiation of herpes simplex virus types 1 and 2 in clinical samples by a real-time taqman PCR assay. *J Med Virol* 2005; 76: 350.
28. Brady RC, Bernstein DI. Treatment of herpes simplex virus infections. *Antiviral Res* 2004; 61: 73.
29. Cernik C, Gallina K, Brodell RT. The treatment of herpes simplex infections: an evidence-based review. *Arch Intern Med* 2008; 168: 1137.
30. St. Pierre SA, Bartlett BL, Schlosser BJ. Practical management measures for patients with recurrent herpes labialis. *Skin Ther Lett* 2009; 14(8): 1.
31. Aquino R, De Feo V, De Simone F et al. Plant Metabolites. New Compounds and Anti-Inflammatory Activity of *Uncaria tomentosa*. *J Nat Prod* 1991; 54(2): 453-9.
32. Aquino R, De Simone F, Pizza C et al. Plant Metabolites. Structure and In Vitro Antiviral Activity of Quinovic Acid Glycosides from *Uncaria tomentosa* and *Guettarda platypoda*. *J Nat Prod* 1989; 52(4): 679-85.
33. Aquino R, De Simone F, Vincieri FF et al. New Polyhydroxylated Triterpenes From *Uncaria tomentosa*. *J Nat Prod* 1990; 53(3): 559-64.
34. Haginiwa J, Sakai S, Aimi N et al. Studies of Plants Containing Indole Alkaloids. 2. On the Alkaloids of *Uncaria rhynchophylla* Miq, *Yakugaku Zasshi*. 1973; 93(4): 448-52.
35. Immodal Pharmaka GmbH, Krallendorf®, *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC mod. pent, Root Extract: Report on Experiences With Proband, Volders/Tirol. 1996, Austria: 20.
36. Leon FR, Ortiz N, Antunez de Mayolo A et al. Antimutagenic Activity of a Freeze-Dried Aqueous Extract of *Uncaria tomentosa* in Smokers and Non-Smokers, 3<sup>rd</sup> European Colloquium on Ethnopharmacology/1<sup>st</sup> International Conference of Anthropology and History and Disease Societe Europeenne d'Ethnopharmacologie Strasbourg (France)/Dipartimento di Scienze Antropologiche Universita di Genova (Italia), 1996, 255.
37. Mur E, Hartig F, Eibl G et al. Randomized Double Blind Trial of an Extract From the Pentacyclic Alkaloid-chemotype of *Uncaria tomentosa* for the Treatment of Rheumatoid Arthritis. *J Rheumatol* 2002; 29(4): 678-81.
38. Natural Standard Research Collaboration, Chief Editors: Ulbricht C, Basch E, Natural Standard Herb and Supplement Reference – Evidence-Based Clinical Reviews, USA: Elsevier/Mosby, 2005.
39. Piscocoy J, Rodriguez Z, Bustamante SA et al. Efficacy and Safety of Freeze-Dried Cat's Claw in Osteoarthritis of the Knee: Mechanisms of Action of the Species *Uncaria guianensis*. *Inflamm Res* 2001; 50(9): 442-8.
40. Senatore A, Cataldo A, Iaccarino FP et al. Phytochemical and Biological Study of *Uncaria tomentosa*. *Boll Soc Ital Biol Sper* 1989; 65(6): 517-20.
41. Wagner H, Kreutzkamp B, Jurcic K., The Alkaloids of *Uncaria tomentosa* and Their Phagocytosis-Stimulating Action. *Planta Med* 1985; 5: 419-23.
42. Caldas LQA, Olej B, Slomp H et al. *Uncaria tomentosa* in the treatment of the herpes labialis: Randomized double-blind trial. *DST – J bras Doenças Sex Transm* 2010; 22(2): 57-59.
43. Heitzman ME, Neto CC, Winiarz E et al. Etnobotany, phytochemistry and pharmacology of *Uncaria* (Rubiaceae). *Phytochemistry* 2005; 66(1): 5-29.
44. Erowele GI, Kalejaiye AO. Pharmacology and therapeutic uses of cat's claw. *Am J Health Syst Pharm* 2009; 66(11): 992-5.

**Endereço para correspondência:****MAURO GELLER**

Faculdade de Medicina de Teresópolis - UNIFESO

Departamento de Microbiologia e Imunologia

Av. Alberto Torres, 111 – Alto, Teresópolis/RJ

CEP: 25964-000

E-mail: mgeller@infolink.com.br

Recebido em: 09.02.2011.

Aprovado em: 20.02.2011.

# CONDILOMA ANAL GIGANTE: RELATO DE CASO

## GIANT CONDYLOMA ACUMINATUM: A CASE REPORT

Natasha S Ganem<sup>1</sup>, Beatriz C Silva<sup>1</sup>, Maria LFO Nascimento<sup>1</sup>, Alberto S Tibúrcio<sup>2</sup>, Leonardo P Motta<sup>2</sup>,  
Marcelo R Lyra<sup>3</sup>, Rodrigo B Mesquita<sup>4</sup>, Júlio AC Gama<sup>4</sup>, Mônica S Almeida<sup>5</sup>

### RESUMO

**Introdução:** o tumor de Buschke-Löwenstein é uma variedade pouco frequente da infecção pelo HPV. O tumor possui comportamento invasivo, embora seja histologicamente benigno. Pode estar associado a condições de imunossupressão e a recorrência após o tratamento é frequente. **Objetivo:** descrever um caso de um portador de aids e demonstrar que a imunossupressão é fator contribuinte, e que a cirurgia é o tratamento mais eficaz. **Métodos:** descrição do caso clínico, com referências na literatura. **Resultados:** foi realizada a cirurgia com ressecção ampliada e evolução satisfatória no pós-operatório. **Conclusão:** a cirurgia é o tratamento recomendado pela maioria dos autores e a biópsia é procedimento indicado para excluir malignidade. **Palavras-chave:** Buschke-Löwenstein, condiloma, aids, DST

### ABSTRACT

**Introduction:** Buschke-Löwenstein tumor is an uncommon variety of HPV infection. Being histologically benign, the tumor has invasive behavior. It may be associated with conditions of immunosuppression, and recurrence after treatment is frequent. **Objective:** to describe a case in a patient with AIDS, to show that immunosuppression is a contributing factor, and that surgery is the most effective treatment. **Methods:** a case description, with references in the literature. **Results:** extended resection surgery with satisfactory outcome in the postoperative period. **Conclusion:** surgery is the treatment recommended by most authors and biopsy is an indicative procedure to exclude malignancy. **Keywords:** Buschke-Löwenstein, condiloma, aids, STD

## INTRODUÇÃO

O condiloma acuminado gigante (CAG) é conhecido como *tumor/síndrome de Buschke-Löwenstein* (TBL)<sup>1-8</sup>, *carcinoma verrucoso de Ackerman*<sup>1</sup>, ou como *condilomatose pré-cancerosa de Delbaco y Unna*<sup>2</sup>. Sua incidência na população é de 0,1%<sup>5</sup>. A lesão, de comportamento invasivo, foi descrita inicialmente em 1896, por Buschke<sup>1,3-5</sup>, mas somente em 1925 a entidade clínica foi bem definida por Löwenstein<sup>3-5</sup>. Dawson, em 1964, relatou o primeiro caso de CAG em localização perianal<sup>1-4</sup>.

O CAG é uma variante do condiloma acuminado<sup>4</sup>. Histologicamente, apresenta aspecto benigno, mas clinicamente demonstra comportamento de malignidade, ao infiltrar os tecidos adjacentes<sup>2-3</sup>. Em um CAG é possível identificar coilocitose (vacuolização citoplasmática), mitoses infrequentes, acantose (hiperqueratose) e membrana basal intacta<sup>3-5</sup>. Não ocorre angioinvasão, infiltração linfática nem metástase<sup>9</sup>. Macroscopicamente, o CAG tem consistência amolecida, aspecto róseo, sendo altamente vascularizado e produz escavação dos tecidos moles<sup>3</sup>.

O tumor de Buschke-Löwenstein apresenta 60 a 66% de recorrência após tratamento<sup>1,4-6</sup>. Ocasionalmente pode apresentar involução espontânea<sup>5,7</sup>. O rápido crescimento deste tumor costuma estar associado a deficiências da imunidade (aids, tratamento imunossupressor, alcoolismo e diabetes *mellitus*)<sup>2,5,6,8</sup> ou gravidez<sup>3</sup>. Em 1975, Sturm chamou a atenção para a possibilidade de degeneração maligna do CAG em carcinoma de células escamosas<sup>3</sup>.

## OBJETIVO

Descrever o caso clínico de um condiloma acuminado gigante (CAG) em um paciente portador da síndrome de imunodeficiência adquirida, uma vez que esta variedade de condiloma é pouco descrita na literatura.

Ressaltar a importância de pesquisar condições de imunossupressão que contribuam para o rápido crescimento do condiloma acuminado gigante.

Mostrar que a cirurgia com excisão ampla da lesão é a modalidade de tratamento mais eficaz, podendo estar associada ou não a outras terapêuticas complementares.

## RELATO DE CASO

Paciente do sexo masculino, 23 anos, natural do estado do Rio de Janeiro, militar, com sorologia positiva para o vírus da imunodeficiência humana há 3 anos. Encontrava-se em tratamento regular com antirretrovirais (zidovudina, lamivudina e efavirenz) havia 2 meses. Apresentava, em seus últimos exames laboratoriais, contagem de células CD4+ de 190/mm<sup>3</sup> e carga viral de 17.900/mm<sup>3</sup>.

O paciente referiu início do quadro clínico há 6 meses, com queixa de dor e lesão vegetante de tamanho pequeno na região anal. Fez uso de analgésicos e anti-inflamatórios tópicos, promovendo alívio parcial. A lesão apresentou aumento progressivo de tamanho durante este período, quando então procurou o ambulatório do Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Hospital Central do Exército.

O exame proctológico identificou uma volumosa lesão vegetante, de aspecto verrucoso, com aproximadamente 12 cm em seu maior diâmetro (**Figura 1**), localizada em região anal, com prolapso mucoso circunferencial associado. A retossigmoidoscopia revelou presença de múltiplas lesões pequenas em mucosa retal.

<sup>1</sup> Médicas residentes em Infectologia.

<sup>2</sup> Médicos do Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias.

<sup>3</sup> Médico preceptor da Residência Médica em Infectologia.

<sup>4</sup> Médicos do Serviço de Proctologia.

<sup>5</sup> Médica do Serviço de Anatomopatologia.

Instituição: Hospital Central do Exército.



Foi realizada exérese cirúrgica, com ressecção ampla da lesão (**Figura 2**). A revisão da cirurgia, após 26 dias, mostrou que a ferida estava cicatrizada e apresentava-se com aspecto clínico satisfatório (**Figura 3**). O estudo histológico da lesão evidenciou a presença de coilocitose, sugestiva de infecção pelo HPV (**Figura 4**). O paciente encontra-se atualmente sob acompanhamento clínico ambulatorial, não tendo apresentado recorrência da lesão.

## DISCUSSÃO

O tumor de Buschke-Löwenstein acomete preferencialmente pessoas do sexo masculino<sup>1</sup>, numa relação homem/mulher de 3,3:1. É uma variante do condiloma acuminado e também está relacionado com a presença do papilomavírus humano tipos 6, 11, 16, 18 e 54<sup>1,6,9</sup>. Para evidenciar a presença do HPV, torna-se necessária a

realização de técnicas moleculares (hibridização *in situ*, captura híbrida ou reação em cadeia da polimerase).

Na avaliação clínica do paciente com CAG, recomenda-se realizar uma proctossigmoidoscopia e uma tomografia computadorizada abdominopélvica para detecção de lesões viscerais<sup>9</sup>. A ultrassonografia endoanal pode detectar comprometimento do esfíncter anal<sup>6</sup>.

Devido a sua extensão, ao elevado índice de recorrência e risco de malignização, a cirurgia com excisão radical para o condiloma acuminado gigante é o tratamento de escolha<sup>6</sup>. Na transformação maligna também está indicada a ressecção dos gânglios linfáticos<sup>5</sup>.

Quando o esfíncter anal é invadido, a ressecção abdominoperineal deve ser realizada<sup>4</sup>. Como por vezes a área afetada é extensa, a colostomia derivativa temporária é parte complementar do trata-



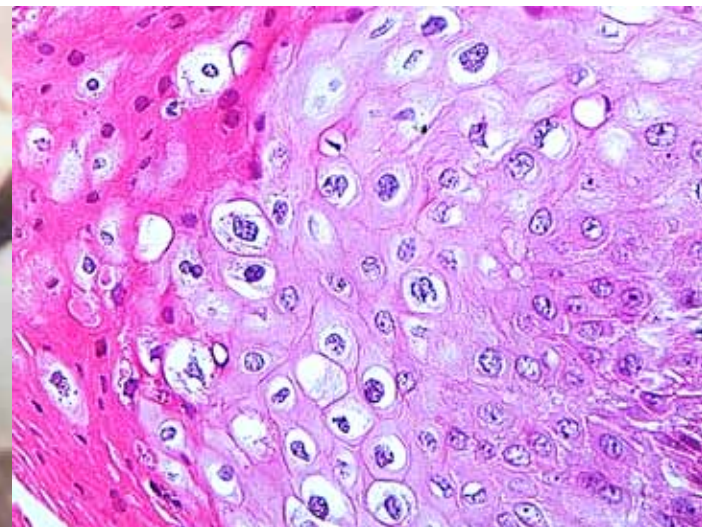
**Figura 1** – Na mesa cirúrgica.



**Figura 2** – Pós-operatório imediato.



**Figura 3** – Pós-operatório tardio.



**Figura 4** – Coilocitose (400 x). Coloração HE.

mento<sup>3</sup>. A remoção cirúrgica radical tem êxito de 63-91% e baixo nível de recorrência<sup>2</sup>.

Podem ainda ser utilizados como tratamentos complementares: a criocirurgia<sup>6</sup>, o laser<sup>6</sup>, a eletrocoagulação<sup>6</sup>, a oxigenoterapia hiperbárica<sup>6</sup>, a quimioterapia (bleomicina, 5-fluorouracil, cisplatina)<sup>4,9</sup>, a radioterapia<sup>4,9</sup>, a imunoterapia com interferon<sup>9</sup>, o uso tópico de Imiquimod (que induz a produção de interferon- $\alpha$  e citocinas contra as células infectadas pelo HPV)<sup>6,9</sup> e a podofilina<sup>9</sup>. Hicheri *et al.* comentam que a radioterapia pode ser utilizada inicialmente para reduzir a massa do CAG, permitindo a cirurgia em seguida, ou também nas recorrências<sup>5</sup>. Nas excisões incompletas a quimioterapia pode ser útil<sup>5</sup>. Estas outras opções terapêuticas não foram utilizadas no paciente do presente relato.

Os diagnósticos diferenciais do CAG incluem a tuberculose anal, o carcinoma espinocelular, doenças por fungos, a sífilis, os ceratoacantomas, o condiloma plano, a hiperplasia pseudoepiteliomatosa, o linfogranuloma venéreo e a doença de Bowen<sup>1,3,5</sup>.

Em 30 a 56% dos casos, o CAG evolui para carcinoma microinvasivo ou carcinoma de células escamosas<sup>5-6</sup>, enquanto este risco, no caso de um condiloma acuminado simples, é de apenas 2%<sup>6</sup>. Deve-se suspeitar de malignização quando ocorrem sangramento, hipertrofia de linfonodos ou infiltração da base do tumor<sup>5</sup>.

As complicações do CAG são diversas: abscessos<sup>1</sup>, superinfecção<sup>5</sup>, fistulas<sup>1,3,5</sup>, necrose<sup>5</sup> estenose retal<sup>3</sup>, sangramento tumoral ou da ferida operatória<sup>1</sup>, infecção do trato urinário<sup>1</sup>, obstrução ureteral<sup>1</sup>, incontinência ou estenose anal<sup>1</sup> e recorrência<sup>1</sup>. Pode ainda ocorrer invasão para o interior da cavidade pélvica, com comprometimento dos órgãos genitais<sup>1</sup>.

## CONCLUSÃO

A maioria dos autores dos estudos citados neste trabalho recomenda a cirurgia local ampla e agressiva como tratamento de escolha. Huang *et al.* sugerem ainda o fechamento da ferida operatória por segunda intenção, com vistas a evitar contaminação da ferida operatória. A biópsia de todas as lesões deve ser realizada, pois o tumor de Buschke-Löwenstein é uma lesão com risco para transformação e desenvolvimento do carcinoma escamocelular.

## Conflito de interesses

Os autores declaram não haver nenhum tipo de conflito de interesse no desenvolvimento do estudo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Nunes BLBBP, Wolle LPB, Nossa FLC, Magi JC, Silva JH *et al.* Tumor de Buschke-Löwestein associado a carcinoma espinocelular. Relato de caso e revisão da literatura. *Rev Bras Coloproct* 1999; 19(3): 192-5.
2. Parapar I, Taboada N. Exéresis quirúrgica radical como único tratamiento del condiloma acuminado gigante: a propósito de um caso. *Colomb Med* 2007; 38: 143-8.
3. Vattimo A, Leite CC, Formiga GJS, Silva JH. Condiloma gigante acuminado perianal (Tumor de Buschke-Loewestein). *Rev Bras Coloproct* 1987; 7(2): 63-5.
4. Huang SM, Leung WH, Chen BF. Malignant transformation of perianal giant condyloma acuminatum. *J Soc Colon Rectal (Taiwan)* 2007; 18: 23-30.
5. Hicheri J, Jaber K, Dhaoui R, Youssef S, Bouziani A *et al.* Giant condyloma (Buschke-Löwestein tumor). A case report. *Acta Dermatoven APA* 2006; 15(4): 181-3.
6. Coelho FMP, Mano AL, Bacellar MS, Codes LMG, Souza ELQ *et al.* Tumor de Buschke-Löwestein: tratamento com imiquimod para preservação esfinteriana. Relato de caso. *Rev Bras Coloproct* 2008; 28(3): 342-6.
7. Pereira ACC, Menezes MLB, Maia AF, Barros RCR, Carmo DS. Condiloma gigante anogenital em menina de 12 anos vítima de abuso sexual. Relato de caso. *J Bras Doenças Sex Transm* 2008; 20(2): 141-4.
8. Nathan M, Beck S. Tissue erosion with perianal warts in HIV. *Genitourin Med* 1993; 69: 312-3.
9. Cardona AF, Casabuenas A, Yepes A, Combariza JF, Bruges R *et al.* Condiloma acuminado gigante: presentación de um caso. *Rev Colomb Cancerol* 2007; 11(2): 125-8.

### Endereço para correspondência:

**ALBERTO SARAIVA TIBÚRCIO**

Rua Francisco Manoel, 126

Benfica, Rio de Janeiro – RJ

CEP: 20911-270

E-mail: tiburcio.alberto@cremerj.org.br

Recebido em: 22.02.2011

Aprovado em: 26.02.2011



# RECUPERAÇÃO COMPLETA DA DOENÇA DE PAGET EXTRAMAMÁRIA RECORRENTE DA VULVA (DPEMr-V) APÓS TRATAMENTO COM IMIQUIMODE

## FULL RECOVERY OF RECURRENT EXTRAMAMMARY PAGET'S DISEASE OF THE VULVA (REMPD-V) AFTER IMIQUIMOD TREATMENT

Nelson Vespa Jr.<sup>1</sup>, Andre Aguiar<sup>2</sup>, Ronaldo Costa<sup>2</sup>, Elza Fukazawa<sup>2</sup>, Gabriel Souza<sup>2</sup>, Francisco Coelho<sup>2</sup>, Soraia Mercado<sup>2</sup>, Cintia Aparecida Osório<sup>3</sup>

### RESUMO

Apesar de rara, a doença de Paget extramamária recorrente da vulva (DPEMr-V) é uma condição grave porque, subjacente à malignidade interna, podem acompanhar lesões cutâneas superficiais. A doença de Paget extramamária é uma condição caracterizada por erupção cutânea crônica tipo eczema de pele ao redor da região anogenital em homens e mulheres. Sob o microscópio, é muito parecida com o tipo mais comum da doença de Paget mamária, que ocorre na mama. A doença de Paget extramamária ocorre mais comumente em mulheres com idades entre 50 a 60 anos. Contudo, a excisão cirúrgica é o padrão geralmente aceito para a DPEMr-V. As taxas de recorrência da DPEMr-V são altas, apesar da intervenção cirúrgica agressiva. O tratamento tópico com imiquimod creme a 5% pode ser eficaz na remoção de lesões. Relatamos o caso de uma mulher de 72 anos com DPEMr-V comprovada por biópsia, tratada com sucesso com imiquimod, com aplicações três vezes por semana, durante 6 semanas.

**Palavras-chave:** doença de Paget extramamária recorrente da vulva (DPEMr-V), imiquimode

### ABSTRACT

Although rare, extramammary Paget's disease (EMPD) is a serious condition because underlying internal malignancy may accompany superficial cutaneous lesions. Extramammary Paget disease is characterized by a chronic eczema-like rash of the skin around the anogenital regions of males and females. Under the microscope it looks very similar to the more common type of mammary Paget's disease that occurs on the breast. Extramammary Paget disease most commonly occurs in women aged between 50-60 years. Although surgical excision is the generally accepted standard of care for EMPD. The EMPD-V recurrence rates are high despite aggressive surgical intervention, treatment with topical imiquimod 5 percent cream has reportedly been efficacious in clearing lesions. We report the case of a 72-year-old woman with biopsy-proven EMPD-V of the thigh treated successfully with imiquimod application thrice weekly for 6 weeks.

**Keywords:** extramammary Paget's disease of the vulva (EMPD-V), imiquimod

## INTRODUÇÃO

A doença de Paget extramamária recorrente da vulva (DPEMr-V) é um adenocarcinoma raro, caracterizado por diferenciação glandular e um curso insidioso. Com o tratamento padrão, são vistas uma possível perda de função tissular e recorrência da doença. As taxas de recorrência da EMPD-V são altas, apesar da intervenção cirúrgica agressiva<sup>1,5</sup>. O diagnóstico é feito por exame histopatológico, e o tratamento recomendado atualmente é excisão cirúrgica larga. As características histopatológicas são similares na doença de Paget da mama e na doença de Paget vulvar. As células de Paget estão presentes isoladamente ou em pequenos grupos e, caracteristicamente corram-se com hematoxilina e eosina<sup>6</sup>. A identificação de novas estratégias terapêuticas menos mutilantes e agressivas que a reexcisão, a terapia de raios X ou quimioterapia pode ser uma boa opção.

Nós relatamos um caso em que a resolução clínica e histológica completa de EMPD-V não invasivo da vulva foi conseguida com o mínimo de efeitos adversos após 6 semanas de aplicação de imiquimod.<sup>6-9</sup> Imiquimod é um imunomodulador que estimula a produção de uma série de citocinas, incluindo IL-1, IL-6, IL-8 e IL-12 e, especialmente, interferon IFN- $\alpha$  e TNF<sup>1,3,10</sup>. O imiquimod é geralmente bem tolerado, sem efeitos secundários graves ou dano tecidual. Imiquimode pode ser uma alternativa útil ou adjuvante no tratamento da EMPD.

## RELATO DO CASO

Apresentamos um caso de uma paciente com DPEMr-V recorrente, que respondeu ao tratamento com imiquimode tópico. Uma mulher de 72 anos de idade com um histórico de hipertensão e diabetes foi submetida, em 1995, a vulvectomia (com margens livres da doença) por DPEMr-V. Ela abandonou o seguimento e voltou, 8 anos depois, com uma lesão benigna, uma pápula eritematosa perto da cicatriz cirúrgica. Ao obter alívio dos sintomas com corticoide tópico, a paciente não compareceu para uma vulvosopia programada.

A paciente reapareceu 2 anos depois com uma lesão maior (**Figura 1a**). Ao exame, a lesão com hipopigmentação e leu-



**Figura 1a** – Doença de Paget envolvendo a vulva e a região glútea. Avaliação clínica.

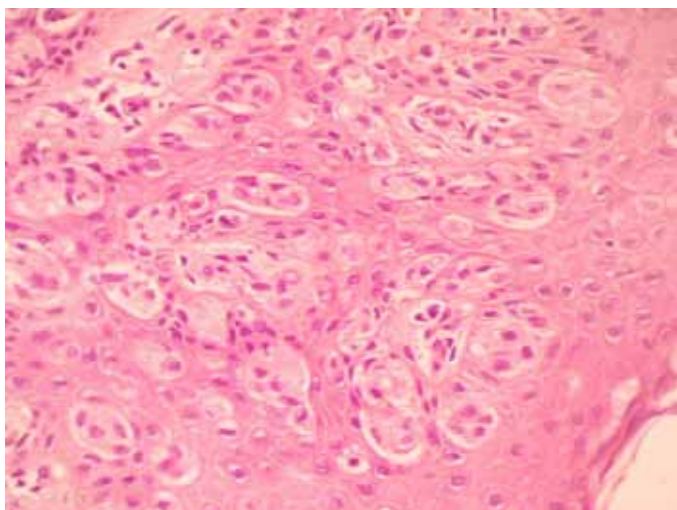
<sup>1</sup> Setor de Patologia e Coloscopia Cervical do Departamento de Oncologia do Hospital do Câncer, São Paulo, Brasil.

<sup>2</sup> Departamento de Oncologia do Hospital do Câncer, São Paulo, Brasil.

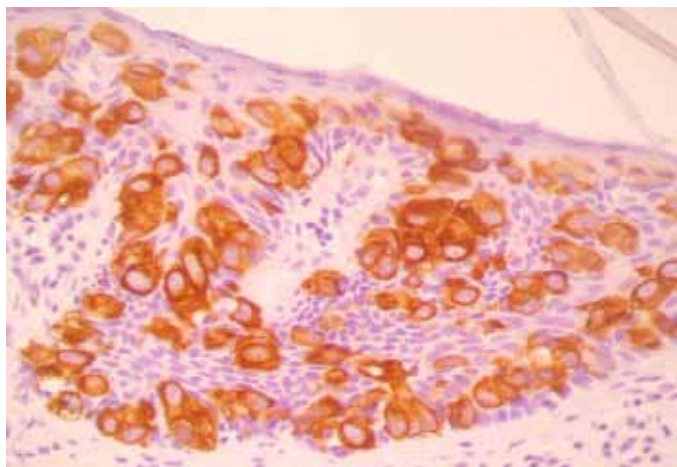
<sup>3</sup> Departamento de Patologia do Hospital do Câncer, São Paulo, Brasil.

coplasia foi observada na vulva e na região glútea. A biópsia foi positiva para DPEMr-V e o diagnóstico diferencial foi confirmado por exame histopatológico (HE – **Figura 1b**) e imuno-histoquímica (**Tabela 1**). A imuno-histoquímica foi positiva para CK 7 (**Figura 1c**), EMA (**Figura 1d**) e CEA (**Figura 1e**). Devido às doenças secundárias crônicas (diabetes e hipertensão arterial), não foi proposta nova cirurgia. As opções terapêuticas foram discutidas com a paciente e ela concordou em se submeter ao tratamento com creme de imiquimode a 5% durante 6 semanas.

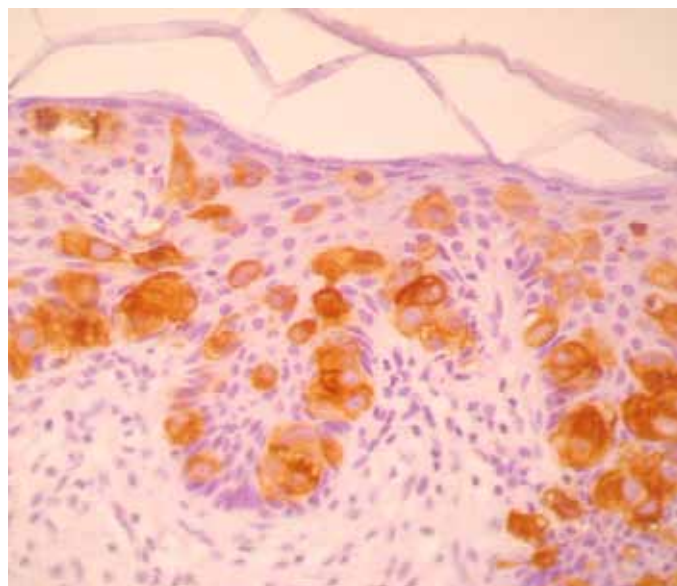
O tratamento foi iniciado em imiquimode em 10.08.2005. Uma semana depois, ela voltou à sala de emergência com dor de cabeça e sintomas gripais, recebendo atendimento médico e também uma avaliação ginecológica (**Figura 2**). Devido a dor, ardor e ulceração no local tratado, voltou 14 dias após (**Figura 3**) e a aplicação tópicamente foi suspensa por 2 semanas. Na próxima visita, ela apresentou melhora significativa, com apenas uma leve hiperemia (**Figura 4**), e o medicamento foi reiniciado. Depois que o esquema terapêutico foi completado, a avaliação da paciente e a biópsia foram negativas (**Figuras 5a-d**). O acompanhamento confirmou a abordagem da doença com sucesso (**Figura 6**). A paciente permaneceu clinicamente livre da DPEMr-V por cerca de 1 ano.



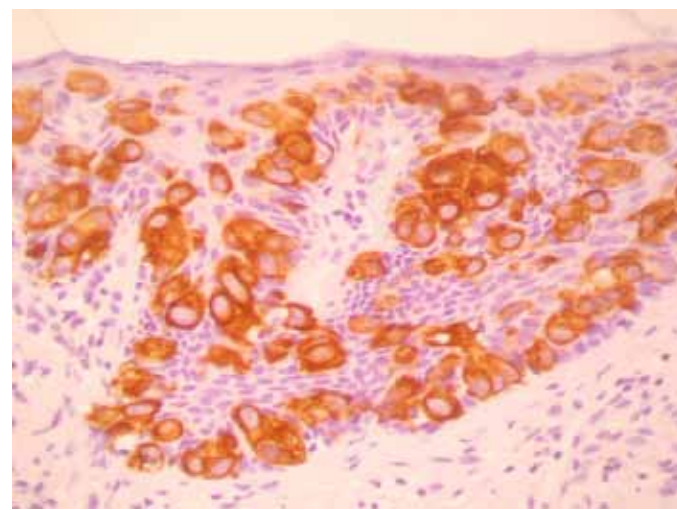
**Figura 1b** – Biópsia representativa de DPEMr-V com células de Paget – coloração com hematoxilina e eosina (15.06.2005).



**Figura 1c** – CK 7 (15.06.2005).



**Figura 1d** – EMA (15.06.2005).



**Figura 1e** – CEA (15.06.2005).



**Figura 2** – Avaliação, 1 semana após o tratamento tópico com imiquimode a 5% (17.08.2005).





**Figura 3** – Eventos adversos locais associados ao uso de imiquimode, induzindo a descontinuação do tratamento.



**Figura 4** – Melhora do quadro lesional com o tratamento local – 2 semanas de tratamento seguidas de 2 semanas de interrupção temporária do imiquimode tópico (08.09.2005).



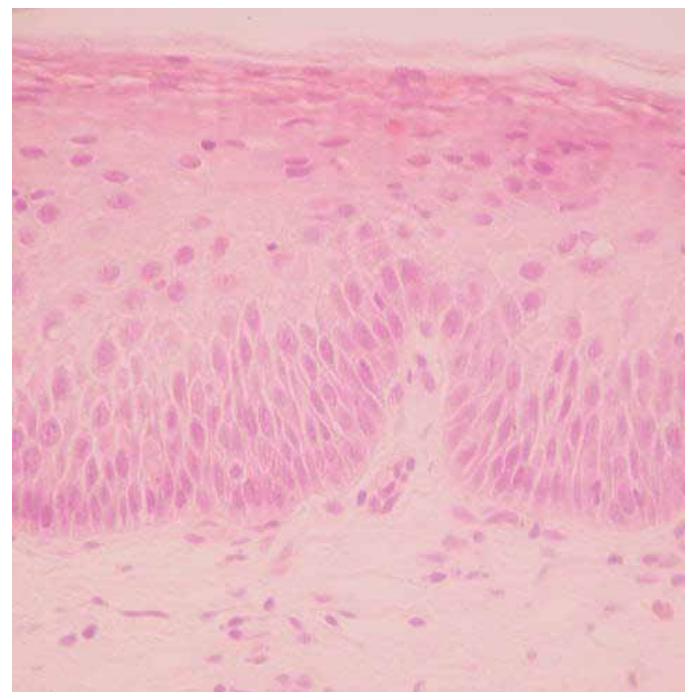
**Figura 5a** – Remissão após o término da terapia tópica com imiquimode. Avaliação clínica.



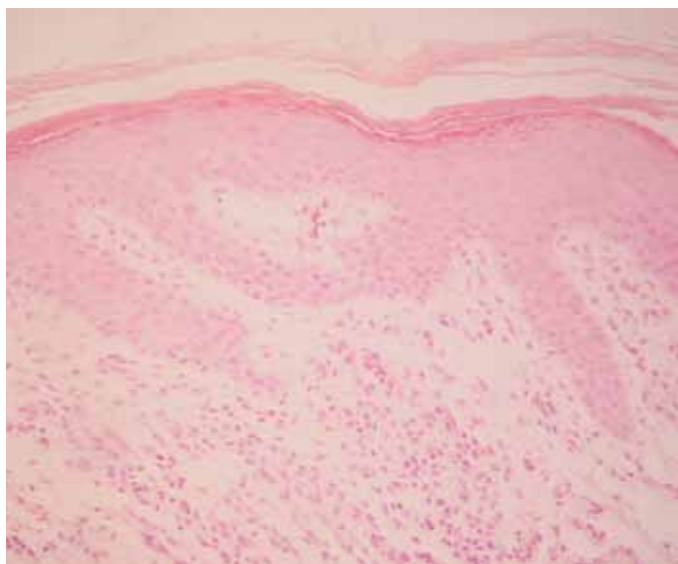
**Figura 5b** – Para confirmar a ausência de doença acentuada, foram feitas sete biópsias *punch*, que não mostraram sinal de doença recorrente (11.11.2005).

**Tabela 1** – Coloração imuno-histoquímica

Imuno-histoquímica	Resultados
CK 7	Positivo
EMA	Positivo
CEA	Positivo
GCDFP-15	Fracamente positivo
HMB-45	Negativo
Proteína S-100	Negativo
Melan-A	Negativo
c-erbB-2	Negativo
p53	Negativo



**Figura 5c** – Inflamação crônica leve e ausência de células pagetoides (11.11.2005).



**Figura 5d** – Inflamação crônica leve e ausência de células pagetoides (11.11.2005).



**Figura 6** – Imagem representativa do seguimento clínico da terapia com imiquimode induzindo a remissão da DPEMr-V (15.03.2006).

## CONCLUSÃO

O manejo da EMPD-V pode ser desafiador e, às vezes, frustrante. Vários fatores contribuem para as falhas de recorrência da doença e falha de tratamento. Este relatório sugere que o imiquimode tópico pode ser considerado como uma alternativa de tratamento para pacientes com doença de Paget extramamária recorrente, a fim de evitar o sofrimento, a desfiguração permanente e os déficits funcionais. O imiquimode creme age como modificador da resposta imune, e parece ser uma promissora terapia adicional.

## Conflito de interesses

Os autores declaram não haver nenhum tipo de conflito de interesse no desenvolvimento do estudo.

## REFERÊNCIAS

1. Parker LP, Parker JR, Bodurka-Bevers D et al. Paget's disease of the vulva: pathology, pattern of involvement and prognosis. *Gynecol Oncol* 2000; 77: 183-9.
2. Stockfleth E, Meyer T, Benninghoff B et al. Successful treatment of actinic keratosis with imiquimod cream 5%: a report of six cases. *Br J Dermatol* 2001; 144: 1050-3.
3. Shieh S, Dee AS, Cheney RT et al. Photodynamic therapy for the treatment of extramammary Paget's disease. *Br J Dermatol* 2002; 146: 1000-5.
4. Eedy DJ. Imiquimod: a potential role in dermatology? *Br J Dermatol* 2002; 147: 1-6.
5. Shvartsman HS, Langstein H, Worley C, Malpica A, Ramondetta LM. Use of a vacuum-assisted closure device in the treatment of recurrent Paget's disease of the vulva. *Obstet Gynecol* 2003; 102(5 Pt 2): 1163-1166.
6. Hanna W, Alowami S, Malik A. The role of HER-2/neu oncogene and vimentin filaments in the production of the Paget's phenotype. *Breast J* 2003; 9: 485-490.
7. Zampogna JC, Flowers FP, Roth WI, Hassenein AM. Treatment of primary limited cutaneous extramammary Paget's disease with topical imiquimod monotherapy: two case reports. *J Am Acad Dermatol* 2002; 47(Suppl. 4): S229-S235.
8. Berman B, Spencer J, Villa A, Poochareon V, Elgart G. Successful treatment of extramammary Paget's disease of the scrotum with imiquimod 5% cream. *Clin Exp Dermatol* 2003; 28(Suppl. 1): 36-38.
9. Wang LC, Blanchard A, Judge DE et al. Successful treatment of recurrent extramammary Paget's disease of the vulva with topical imiquimod 5% cream. *J Am Acad Dermatol* 2003; 49(4): 769-72.
10. Villa AM, Berman B. Immunomodulators for skin cancer. *J Drugs Dermatol* 2004; 3(5): 533-39.

## Endereço para correspondência:

**NELSON VESPA JUNIOR**

Rua Borba Gato 331, Ipe 62

Alto da Boa Vista – São Paulo

CEP: 04747-030

E-mail: vespa@globo.com

Recebido em: 10.10.2010

Aprovado em: 12.12.2010

# FULL RECOVERY OF RECURRENT EXTRAMAMMARY PAGET'S DISEASE OF THE VULVA (rEMPD-V) AFTER IMIQUIMOD TREATMENT

## RECUPERAÇÃO COMPLETA DA DOENÇA DE PAGET EXTRAMAMÁRIA RECORRENTE DA VULVA (DPEMr-V) APÓS TRATAMENTO COM IMIQUIMODE

Nelson Vespa Jr.<sup>1</sup>, Andre Aguiar<sup>2</sup>, Ronaldo Costa<sup>2</sup>, Elza Fukazawa<sup>2</sup>, Gabriel Souza<sup>2</sup>, Francisco Coelho<sup>2</sup>, Soraia Mercado<sup>2</sup>, Cintia Aparecida Osório<sup>3</sup>

### ABSTRACT

Although rare, extramammary Paget's disease (EMPD) is a serious condition because underlying internal malignancy may accompany superficial cutaneous lesions. Extramammary Paget disease is characterised by a chronic eczema-like rash of the skin around the anogenital regions of males and females. Under the microscope it looks very similar to the more common type of mammary Paget's disease that occurs on the breast. Extramammary Paget disease most commonly occurs in women aged between 50-60 years. Although surgical excision is the generally accepted standard of care for EMPD. The EMPD-V recurrence rates are high despite aggressive surgical intervention, treatment with topical imiquimod 5 percent cream has reportedly been efficacious in clearing lesions. We report the case of a 72-year-old woman with biopsy-proven EMPD-V of the thigh treated successfully with imiquimod application thrice weekly for 6 weeks.

**Keywords:** extramammary Paget's disease of the vulva (EMPD-V), imiquimod

### RESUMO

Apesar de rara, a doença de Paget extramamária recorrente da vulva (DPEMr-V) é uma condição grave porque, subjacente à malignidade interna, podem acompanhar lesões cutâneas superficiais. A doença de Paget extramamária é uma condição caracterizada por erupção cutânea crônica tipo eczema de pele ao redor da região anogenital em homens e mulheres. Sob o microscópio, é muito parecida com o tipo mais comum da doença de Paget mamária, que ocorre na mama. A doença de Paget extramamária ocorre mais comumente em mulheres com idades entre 50 a 60 anos. Contudo, a excisão cirúrgica é o padrão geralmente aceito para a DPEMr-V. As taxas de recorrência da DPEMr-V são altas, apesar da intervenção cirúrgica agressiva. O tratamento tópic com imiquimod creme a 5% pode ser eficaz na remoção de lesões. Relatamos o caso de uma mulher de 72 anos com DPEMr-V comprovada por biópsia, tratada com sucesso com imiquimod, com aplicações três vezes por semana, durante 6 semanas.

**Palavras-chave:** doença de Paget extramamária recorrente da vulva (DPEMr-V), imiquimode

## INTRODUCTION

Extramammary Paget's disease is an uncommon cutaneous adenocarcinoma, characterized by glandular differentiation and an insidious course. The standard treatment, although possible loss of tissue function and disease recurrence are seen. The EMPD-V recurrence rates are high despite aggressive surgical intervention<sup>1,5</sup>. The diagnosis is made histopathologically, and management is based on wide surgical excision. The histopathological features are similar in mammary and extramammary Paget's disease. The Paget's cells are present singly or in small clusters and characteristically stain with hematoxylin and eosin<sup>6</sup>. Identification of new therapeutic strategies less mutilating/aggressive than reexcision, x-ray therapy, or chemotherapy is warranted.

We report a case where complete clinical and histological resolution of non-invasive EMP-V of the vulvar was achieved with minimal adverse effects after six weeks of imiquimod application<sup>6-9</sup>. Imiquimod is an immunomodulator that stimulates the production of a range of cytokines including IL-1, IL-6, IL-8, and IL-12, and especially interferon IFN- $\alpha$  and TNF<sup>1,3,10</sup>. Imiquimod is generally well tolerated, without any major side effects or tissue damage. Imiquimod may be a useful alternative or adjuvant in the treatment of EMPD.

## CASE REPORT

Here we present a case one patient with rEMPD-V, who responded to topical imiquimod therapy. A 72 year old female with a history of hypertension and diabetes underwent margins free vulvectomy due to EMPD-V (1995). She abandoned follow-up and returned 8 years later with a benign erythematous papule lesion near to the surgical scar. Upon reliving of symptoms with topic corticoid the patient did not show up for a programmed vulvoscopy.

The patient reappeared two years later with a greater lesion (**Figure 1a**). On examination, bilateral well-defined hypo-pigmen-



**Figure 1a** – rEMPD-V disease involving vulvar and gluteus area. Clinical evaluation (15.06.2005).

<sup>1</sup> Cervical Pathology & Colposcopy Division, Gynecology Oncology Department, Hospital do Câncer, São Paulo, Brazil.

<sup>2</sup> Gynecology Oncology Department, Hospital do Câncer, São Paulo, Brazil.

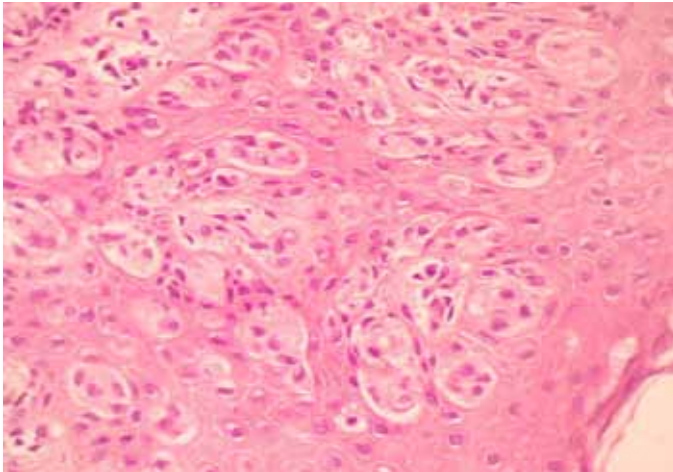
<sup>3</sup> Pathology Department, Hospital do Câncer, São Paulo, Brazil.



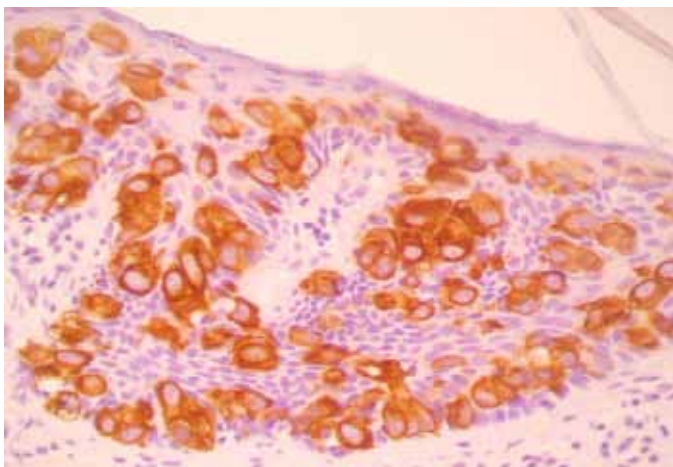
ted leukoplakia-like lesion was observed on the vulvar and gluteus area. The biopsy specimen was positive for rEMPD-V and the differential diagnosis was confirmed by histopathology (HE – **Figure 1b**) and immunohistochemistry (**Table 1**). The immunohistochemistry was positive for CK 7 (**Figure 1c**), EMA (**Figure 1d**) and CEA (**Figure 1e**).

Due to chronic underline diseases a surgery was not advised to the 72 years old patient. Therapeutic options were discussed with the patient and she agreed to undergo and patient consent form signed to treatment with imiquimod 5% cream for 6 weeks.

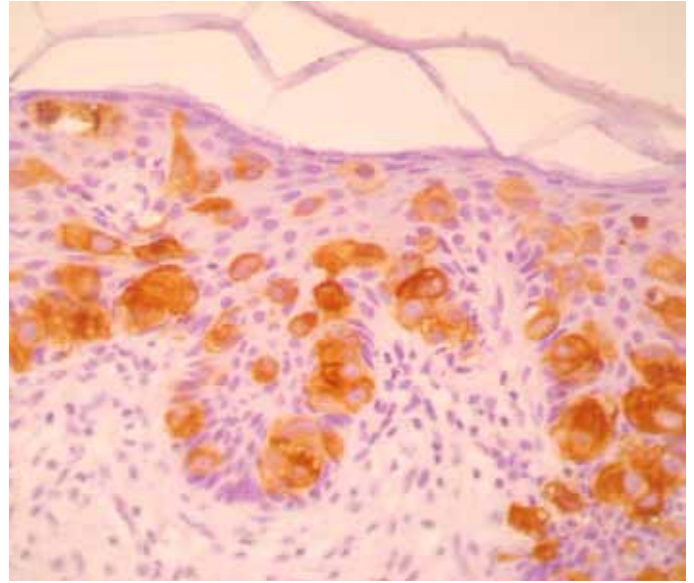
The imiquimod treatment was started on 10.08.2005. One week after, she attended the emergency room with headache and influenza-like symptoms. She received medical attention and also a gynecological evaluation (**Figure 2**). Due to pain, burning and ulceration at the target site she returned on 24.08.2005 (**Figure 3**) and the topical application was discontinued for two weeks. On the next visit, she presented significant improvement with only a mild hyperemia (**Figure 4**) and the medication was restarted. After the complete treatment schedule, the patient evaluation and biopsy were negative (**Figures 5a-d**). The follow-up confirmed successful disease approach (**Figure 6**). The patient has remained clinically free of EMPD-V for approximately 1 year.



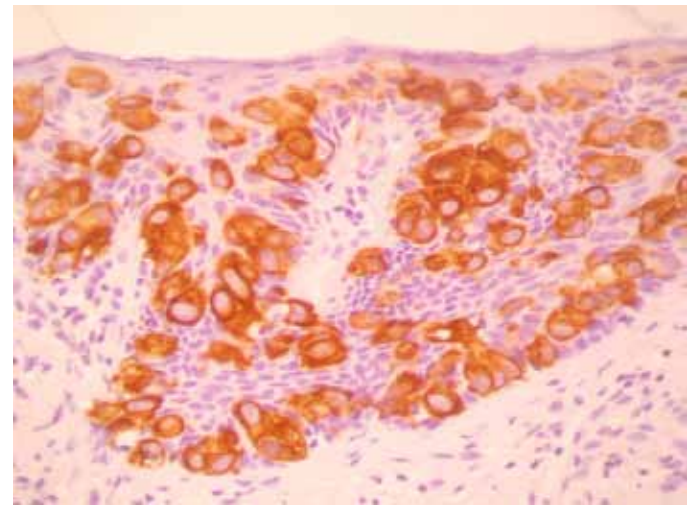
**Figure 1b** – Representative biopsy specimen of rEMPD-V with Paget's cells (15.06.2005).



**Figure 1c** – CK 7 (15.06.2005).



**Figure 1d** – EMA (15.06.2005).



**Figure 1e** – CEA (15.06.2005).



**Figure 2** – rEMPD-V evaluation one week after topical treatment with imiquimod 5% (17.08.2005).



**Figure 3** – Local adverse events associated with imiquimod use inducing treatment discontinuation (24.08.2005).



**Figure 4** – Lesion improvement at treatment target site – 2 weeks of treatment followed by 2 weeks of topical imiquimod temporary discontinuation (08.09.2005).



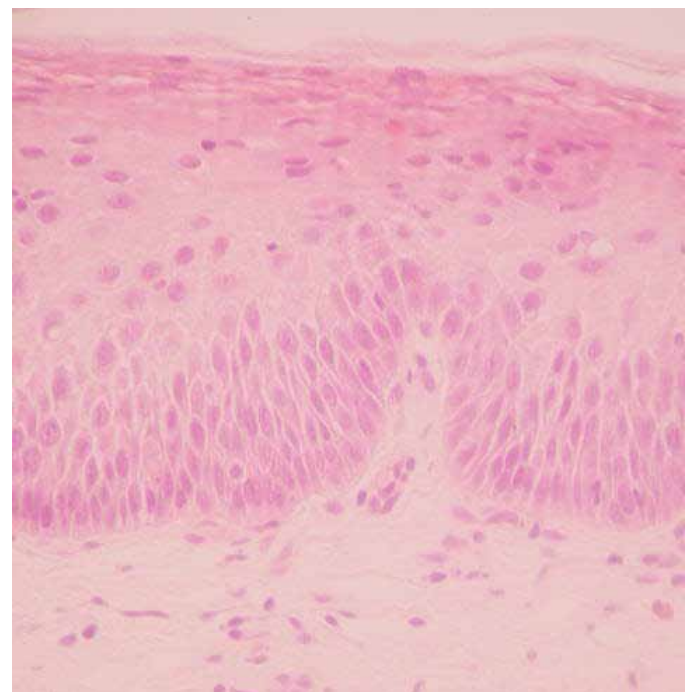
**Figure 5a** – rEMPD-V remission after completion of imiquimod topical therapy. Clinical evaluation.



**Figure 5b** – To confirm freedom from disease seven sharp punch biopsies were done and showed none sign of recurrent disease (11.11.2005).

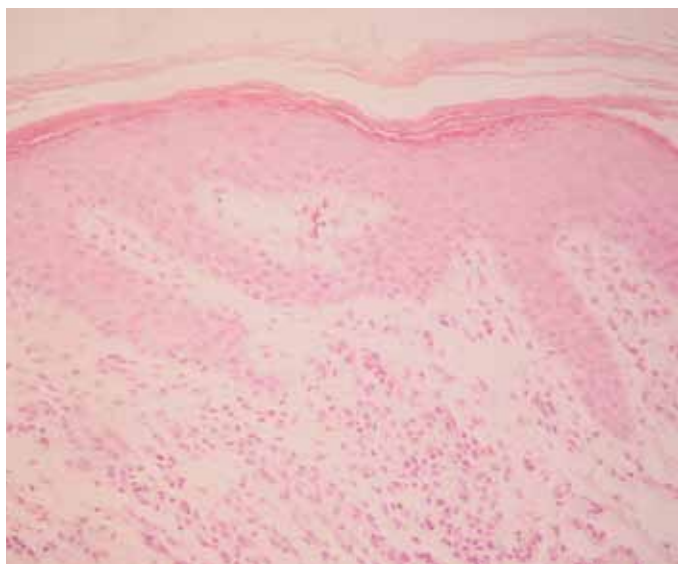
**Table 1** – Immunohistochemical Staining.

Immunohistochemistry	Results
CK 7	Positive
EMA	Positive
CEA	Positive
GCDFP-15	Weakly positive
HMB-45	Negative
S-100 protein	Negative
Melan-A	Negative
c-erbB-2	Negative
p53	Negative



**Figure 5c** – Mild chronic inflammation in the absence of pagetoid cells (11.11.2005).





**Figure 5d** – Mild chronic inflammation and in the absence of pagetoid cells (11.11.2005).



**Figure 6** – Representative picture from clinical follow-up of imiquimod therapy induced rEMPD-V remission (15.03.2006).

## CONCLUSION

The management of EMPD-V can be challenging and occasionally frustrating. Several factors contribute to the disease recurrence and treatment failures. This report suggests that Imiquimod may be considered as an alternative treatment for patients with rEMPD-V avoiding suffering, permanent disfiguration and functional deficits. The immune response modifier, imiquimod cream, appears to be a promising additional therapy.

## Conflict of interest

No conflict of interests to be declared.

## REFERENCES

1. Parker LP, Parker JR, Bodurka-Bevers D et al. Paget's disease of the vulva: pathology, pattern of involvement and prognosis. *Gynecol Oncol* 2000; 77: 183-9.
2. Stockfleth E, Meyer T, Benninghoff B et al. Successful treatment of actinic keratosis with imiquimod cream 5%: a report of six cases. *Br J Dermatol* 2001; 144: 1050-3.
3. Shieh S, Dee AS, Cheney RT et al. Photodynamic therapy for the treatment of extramammary Paget's disease. *Br J Dermatol* 2002; 146: 1000-5.
4. Eedy DJ. Imiquimod: a potential role in dermatology? *Br J Dermatol* 2002; 147: 1-6.
5. Shvartsman HS, Langstein H, Worley C, Malpica A, Ramondetta LM. Use of a vacuum-assisted closure device in the treatment of recurrent Paget's disease of the vulva. *Obstet Gynecol* 2003; 102(5 Pt 2): 1163-1166.
6. Hanna W, Alowami S, Malik A. The role of HER-2/neu oncogene and vimentin filaments in the production of the Paget's phenotype. *Breast J* 2003; 9: 485-490.
7. Zampogna JC, Flowers FP, Roth WI, Hassenein AM. Treatment of primary limited cutaneous extramammary Paget's disease with topical imiquimod monotherapy: two case reports. *J Am Acad Dermatol* 2002; 47(Suppl. 4): S229-S235.
8. Berman B, Spencer J, Villa A, Poochareon V, Elgart G. Successful treatment of extramammary Paget's disease of the scrotum with imiquimod 5% cream. *Clin Exp Dermatol* 2003; 28(Suppl. 1): 36-38.
9. Wang LC, Blanchard A, Judge DE et al. Successful treatment of recurrent extramammary Paget's disease of the vulva with topical imiquimod 5% cream. *J Am Acad Dermatol* 2003; 49(4): 769-72.
10. Villa AM, Berman B. Immunomodulators for skin cancer. *J Drugs Dermatol* 2004; 3(5): 533-39.

## Correspondence address:

**NELSON VESPA JUNIOR**  
 Rua Borba Gato 331, Ipe 62  
 Alto da Boa Vista – São Paulo  
 CEP: 04747-030  
 E-mail: vespa@globo.com

Received in: 10.10.2010

Accepted in: 12.12.2010

# 26<sup>TH</sup> INTERNATIONAL PAPILLOMAVIRUS CONFERENCE & CLINICAL AND PUBLIC HEALTH WORKSHOPS PART III - FINAL

*JULY 3-8, 2010 / PALAIS DES CONGRÈS DE MONTRÉAL, CANADA*

*Abstracts selected by Mauro Romero L Passos, Felipe DL Passos, Marc Steben*

**H**uman papillomavirus (HPV) is the most frequent sexually transmitted infection causing 5% of all cancers in human. HPV is the source of various ano genital genital such as cervical, anal, vulvar, vaginal, penile as well as of oropharyngeal cancers. HPV also causes non neoplastic anogenital and respiratory track papillomatosis. Both high risk and low risk HPV now represent, at least partially, preventable burden on the health care system and global loss of productivity.

The 26th International Papillomavirus Conference and its two workshops were held under the theme of "Sharing Knowledge for Global Health". Four commitments were made by the local organizing committee and we made sure to keep them to the International Papillomavirus Society: 1) to foster integrative research, 2) to enhance developing countries' capacities, 3) to inspire young researchers and 4) to offer an affordable learning experience.

There were 1978 participants at the conference. Two 2-day Workshops, Public Health Workshop & Clinical Workshop, preceded the main conference. During the conference we had 12 plenary sessions, 29 parallel Oral Communications Sessions, eight Early Morning Workshops (for young researchers and addressing capacity building in emerging countries), 18 Satellite Symposia (12 academic and 6 industries sponsored), 642 regular Posters and 70 e-posters.

The organisers followed very consistently an environment-friendly policy avoiding printed paper documents, increases the distribution of CD-ROM with all conference abstracts, free web-cast dissemination of the presentations and the book of abstracts through [www.hpv2010.org](http://www.hpv2010.org). To recognize the strength and the variety of researchers in our society, awards were given for both oral and poster presentation in all of our four group of interest: basic sciences, clinical and laboratory sciences, epidemiology and public health as well as capacity building. Awards for young

researchers and from developing countries were also given. The current paper contains short summaries of award recipients. Readers interested in the details of certain sessions or presentations are invited to consult [www.hpv2010.org](http://www.hpv2010.org).

Held under the theme: sharing knowledge for global health, the conference continues the tradition started last year in Malmo where every presentations were made available free to anyone joining the website, after an identification process, anyone can look or download presentations from the conference or the clinical or the public health workshop. This generosity from our speakers makes it possible to access the high quality of science and methods to all and not only to those able to make it to Montréal. This certainly helped us guarantee that in fact we delivered on our theme of sharing knowledge for global health and this unique collaboration with the Brazilian Journal of STD is a vibrant show of the interest our brazilian colleagues have spread the knowledge on HPV to their scientific community of Brazil and the editor has to be applauded for his vision and help in sharing the highest quality of knowledge!

Obrigado,

**MARC STEBEN, MD**

Médecin Conseil

Direction des risques biologiques et de la santé au travail  
Institut national de santé publique du Québec  
190, boulevard Crémazie Est -  
Montréal (Québec) Canada H2P 1E2  
Téléphone: (514) 864-1600 ext. 3234  
Télécopieur: (514) 864-7646  
secrétaire: Amélie Dugué ext. 3261

## **P-101: THE FIRST COMPLETE PAPILOMAVIRUS CHARACTERIZED FROM A MARSUPIAL HOST, THE BETTONGIA PENICILLATA PAPILOMAVIRUS TYPE 1**

*Hans Stevens<sup>1</sup>, Mark Bennett<sup>2</sup>, Elisabeth Heylen<sup>1</sup>, Philip Nicholls<sup>2</sup>, Marc Van Ranst<sup>1</sup>*

Papillomaviruses (PVs) have been found in numerous mammal species, all of which however were placental mammals. We report the first papillomavirus found in a marsupial host, the Bettongia penicillata papillomavirus type 1 (BpPV-1). BpPV-1 was found in a papillomatous lesion of a brush-tailed bettong (Bettongia penicillata) living in Western Australia. Total DNA was extracted from a frozen skin biopsy of this lesion and used as a template for multiply primed rolling-circle amplification (RCA). The RCA product was cut using the EcoRI, XbaI and HindIII restriction enzymes, subsequently cloned and the complete genomic sequence was determined. The BpPV-1 genome contains 7737 bp and codes for 5 early open reading frames (ORF), E6, E7, E1, E2 and E4, and 2 late ORFs, L2 and L1. Phylogenetic analyses of a concatenated alignment of the E1, E2, L2 and L1 ORF of BpPV-1 and 62 other PVs revealed that BpPV-1 clusters close to the root of the phylogenetic tree. Pairwise alignment revealed that the L1 and L2 ORFs are most similar to those of bandicoot papillomatosis carcinomatosis virus types 1 and 2 (BPCV) isolated from the marsupial hosts Perameles bougainville and Isoodon obesulus, respectively. These viruses have an early region similar to the early region of polyomaviruses and a late region similar to the papillomavirus late region. In a phylogenetic tree based on a concatenated alignment of the L2 and L1 ORF of BpPV-1, the 2 BPCVs and 62 other PVs, BpPV-1 also clusters together with BPCV-1 and BPCV-2. BpPV1 is the first fully sequenced PV found in a marsupial host. These sequence data provides support to the hypothesis that the BPCVs arose by genetic recombination between an ancient PV and an ancient polyomavirus.

<sup>1</sup>Laboratory of Clinical and Epidemiological Virology, Rega Institute for Medical Research, University of Leuven, Leuven, Belgium; <sup>2</sup>School of Veterinary and Biomedical Sciences, Murdoch University, Murdoch, Australia.

## **P-102: NOVEL EQUINE PAPILOMAVIRUS CLUSTERS ONLY ROUGHLY WITH OTHER EQUINE PAPILOMAVIRUSES**

*Christian Lange<sup>1,2</sup>, Kurt Tobler<sup>2</sup>, Mathias Ackermann<sup>2</sup>, Claude Favrot<sup>1</sup>*

The number of described papillomavirus (PV) species and potential PV genera is steadily increasing. It seems that every host species might potentially harbour a large set of PVs, but the ensemble of PVs from each species appears to belong only to a few genera. This has been observed for more than hundred human, but also for ten bovine and recently for seven canine PVs. In most of the other host species too few PVs have yet been identified to consider this hypothesis. We identified the DNA of a novel equine PV in aural plaques of a horse. The genome of a novel PV was amplified from a skin sample and was entirely cloned and sequenced. The novel equine PV genome contains the characteristic open reading frames (ORFs) E6, E7, E1, E2, L1 and L2, a large non coding

region between the late and early region as well as a small non coding region between the early and the late region. The novel virus was consequently designated as equine PV3 (EcPV3). The genomes of the three equine PVs were analysed and compared with each other and further PVs. Upon phylogenetic analyses the equine PVs group well together and appear in phylogenetic vicinity to some bovine PVs. Still the three equine PVs share less than 60% of nucleotide identities in L1, and may therefore be regarded as belonging to different clades. Pairwise alignment of the L1 amino acid sequences reveals that FdPV3 shares only 56.3% identities with EcPV1 and 54.9 with EcPV2. These findings may support an allocation of the equine PVs into some distinct clades, as seems to be the case in other species.

<sup>1</sup>Department of Dermatology, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Zurich, Switzerland; <sup>2</sup>Institute of Virology, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Zurich, Switzerland.

## **P-103: ANAKE PAPILOMAVIRUS DOES NOT CLUSTER WITH OTHER NON MAMMALIAN-PAPILOMAVIRUSES**

*Christian Lange<sup>1,2</sup>, Kurt Tobler<sup>2</sup>, Jessica Gull<sup>3</sup>, Mathias Ackermann<sup>2</sup>, Elisabeth Vetsch<sup>1</sup>, Claude Favrot<sup>1</sup>*

In the past decades, papillomaviruses (PVs) infecting mammalian species have been discovered in a broad genetic diversity, forming a steadily growing number of genera. The more recent discovery of PVs infecting non-mammalian species extended the potential hosts to the whole clade of amniotes. Still only four whole genomes of PVs from non-mammalian hosts have been published as yet. We discovered PV DNA in pigmented papilloma-like lesions of a diamond python (*Morelia spilota spilota*). The genome of a novel PV was amplified from one of these lesions, was cloned and sequenced. It contains the characteristic open reading frames (ORFs) E6, E7, E1, E2, L1 and L2, a large non coding region between L1 and E6 as well as a small non coding region between E2 and L2. The size of the viral genome is, with only 7048 nucleotides, rather small, which is also the case in the two other published reptile PVs. A phylogenetic analysis based on the nucleotide sequence alignment of the L1 ORF placed the *Morelia spilota* papillomavirus1 (MsPV1) close to the root. Interestingly MsPV1 does not cluster with the other four PVs of sauropsids. Pairwise alignment of the L1 sequences on the amino acid level revealed only 42.9% and 42.5% identities with the described sea turtle PVs (CmPV1, CCPV1) as well as 43.9% and 43.6% identities with the two bird PVs (FcPV1, PePV1). Pair wise alignment with other L1 sequences revealed highest identities with the polar bear PV (UmPV1 - 56.5%) and two human PVs (HPV9 - 56%, HPV1 - 55.5%). These findings suggest that mammalian and sauropsid PVs may not be as genetically distinct in general as could be anticipated based to the previous findings.

<sup>1</sup>Department of Dermatology, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Zurich, Switzerland; <sup>2</sup>Institute of Virology, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Zurich, Switzerland; <sup>3</sup>Clinic for Zoo Animals, Exotic Pets and Wildlife, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Zurich, Switzerland.

### P-104: NOVEL CETACEAN PAPILOMAVIRUSES EXHIBIT BOTH CHIMERIC AND NON-RECOMBINANT GENOME ORGANIZATIONS

Marc Gottschling<sup>1</sup>, Eric Schulz<sup>2</sup>, Ignacio G. Bravo<sup>3</sup>, Rob Deaville<sup>4</sup>, Paul D. Jepsen<sup>4</sup>, Marie-Françoise Van Bresse<sup>5</sup>, Eggert Stockfleth<sup>2</sup>, Ingo Nindl<sup>2,6</sup>

Currently known cetacean papillomaviruses (Omicronpapillomavirus) appear as chimeras. They exhibit genetic elements of viruses either with the shared tropism to mucosal tissue such as Alphapapillomavirus (i.e., early genes) or isolated from related host species such as Xipapillomavirus (i.e., late genes). We isolated and sequenced the complete genomes of four novel papillomavirus types and one variant from genital and oesophageal lesions of cetaceans, namely of *Delphinus delphis* (DdPV), *Lagenorhynchus acutus* (TtPV-3 variant) and *Phocoena phocoena* (PpPV-1, PpPV-2 and PpPV-4). Phylogenetic analyses were performed using Maximum Likelihood and Bayesian approaches. As inferred from early genes analyses, cetacean papillomaviruses, including the new types and variant, constituted a monophyletic group with (mucosotropic) Alphapapillomavirus. Analyzing late genes, they were the closest relatives of (ruminant) Xipapillomavirus, with the exception of PpPV-4. This was the unique cetacean papillomavirus that showed a consistent phylogenetic position close to the primarily mucosotropic clade. An explanation for incongruent tree topologies between early and late genes phylogenies are recombination events. PpPV-4 is the only known non-recombinant cetacean papillomavirus type and may represent a relative of a donor to chimeric Omicronpapillomavirus. Our study thus supports a complex evolutionary scenario with multiple driving forces for papillomavirus diversification, also including interspecies transmissions.

<sup>1</sup>Department of Biology, Systematic Botany, Ludwig-Maximilians-Universität München, Munich, Germany; <sup>2</sup>Clinic for Dermatology, Venerology und Allergology, Haut Tumor Centrum Charité (HTCC), Charité - Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany; <sup>3</sup>Centre for Public Health Research (CSISP), Valencia, Spain; <sup>4</sup>Institute of Zoology, Regents Park, London, United Kingdom; <sup>5</sup>Cetacean Conservation Medicine Group (CMED), CEPEC, Museo de Delfines, Pucusana, Peru; <sup>6</sup>DKFZ - Charité, Viral Skin Carcinogenesis, Viral Transformation Mechanisms, German Cancer Research Center (DKFZ), Heidelberg, Germany.

### P-105: NOVEL MONKEY BETAPAPILLOMAVIRUS ASSOCIATED WITH HAND AND FOOT PAPILOMAS

Charles Wood<sup>1</sup>, Sarah Tannehill-Gregg<sup>2</sup>, Zigui Chen<sup>3</sup>, Koenraad van Doorslaer<sup>3</sup>, Mark Cline<sup>1</sup>, Robert Burk<sup>3,4</sup>

Betapapillomaviruses are a diverse genus of papillomaviruses (PVs) commonly associated with human skin papillomas and epidermal dysplasia. Few beta-PVs have been characterized in nonhuman species. This report describes a novel beta-PV, named *Macaca fascicularis* PV type 2 (MfPV-2), isolated from exophytic skin papillomas on the hands and feet of an adult male cynomolgus monkey (*M. fascicularis*). On histology the papillomas were composed of thickened epidermis with superficial foci of

cytomegaly and cytoplasmic pallor. Nuclei exhibited moderate pleomorphism with frequent central clearing and peripheral chromatin. Positive immunostaining for PV antigen, p16, and the proliferation marker Ki67 was present multifocally within all layers of affected epidermal cells. Complete sequence identity (100%) was noted between PV genomes sequenced from hand and foot lesions. The MfPV-2 genome was 7632 bp in length and included putative open reading frames for E1, E2, E4, E6, E7, L1, and L2 genes, similar to other beta-PVs. The closest PV relatives to MfPV-2 are HPV115 (67.4% pairwise identity) and MfPV-1 (67.3% pairwise identity), which was also isolated from hand and foot papillomas in a cynomolgus macaque. Phylogenetic analysis placed MfPV-2 in a new species group (number 6) among the beta-PVs, distinct from MfPV-1. These findings provide further support for the idea that tissue tropism among ancient primate PVs developed prior to divergence of human and nonhuman primate PV types.

<sup>1</sup>Department of Pathology, Wake Forest University School of Medicine, Winston-Salem, NC, USA; <sup>2</sup>Department of Drug Safety Evaluation, Bristol-Myers Squibb Research & Development, Mount Vernon, IN, USA; <sup>3</sup>Department of Microbiology and Immunology, Albert Einstein College of Medicine, Bronx, NY, USA; <sup>4</sup>Departments of Pediatrics, Epidemiology & Population Health, and Obstetrics, Gynecology and Women's Health, Albert Einstein College of Medicine, Bronx, NY, USA.

### P-108: SULINDAC INHIBITS PROLIFERATION AND INDUCES APOPTOSIS IN CERVICAL CANCER CELL LINES

C.D. Spillane<sup>1,2</sup>, C. White<sup>1,2</sup>, K. Linder<sup>2</sup>, T. McEligott<sup>1</sup>, L. Kehoe<sup>1,2</sup>, O. Sheils<sup>1</sup>, C.M. Martin<sup>1,2</sup>, J.J. O'Leary<sup>1,2</sup>

**Background:** Sulindac, a commonly used NSAID, has been investigated as a potential novel therapeutic for different forms of cancer, including colon and breast. A recent study looked at the molecular action of this drug on the HPV18 infected cervical cell line, HeLa, and demonstrated that not only could it induce apoptosis but also degrade one of the main oncoproteins, E7.

**Design:** This study aimed to validate the previous findings and to extend the analysis to other cervical carcinoma cell lines with differing origins, HPV status and viral DNA content. Three cervical cancer cell lines were examined, the adenocarcinoma derived HPV18 positive HeLa, the squamous cell carcinoma derived HPV16 positive SiHa and the HPV negative C33A.

**Results:** Sulindac had a time and dose dependent growth inhibitory effect on all three cell lines. However, the most potent response was observed in the HeLa cells, with the IC50 value approximately 200  $\mu$ M less than the other two cell lines. Analysis of the HeLa cells demonstrated that this activity occurred predominantly through the induction of apoptosis but additionally by cell cycle arrest. The previous findings that sulindac induced a post-transcriptional degradation of HPV18 viral oncogene E7 were validated. This decrease was dose dependent and appeared to correlate with an observed G1 arrest. However, in comparison with the previous findings these results were observed with significantly lower concentrations of sulindac, 115  $\mu$ M compared to 500  $\mu$ M. In addition, it was demonstrated that a decrease in COX activity may

be partially responsible for the anti-proliferative activity of sulindac. **Conclusion:** This data indicates that the antineoplastic activities of sulindac are multifaceted. Since most cancers progress through the action of multiple pathways, drugs that simultaneously block several pathways might be particularly effective as therapeutic agents. Therefore, these results suggest that NSAIDs may offer potential as novel therapeutics for cervical cancer.

<sup>1</sup>Histopathology Department, Trinity College Dublin, Dublin, Ireland;

<sup>2</sup>Pathology Department, Coombe Women's Hospital, Dublin, Ireland.

### **P-110: IN VITRO SELECTION OF RNA APTAMERS TO HPV-16 L1 VLPs**

*Ana Gabriela Leija-Montoya<sup>1</sup>, Maria Luisa Benítez-Hess<sup>1</sup>,  
Julia D. Toscano-Garibay<sup>1</sup>, Luis M. Alvarez-Salas<sup>1</sup>*

Cervical cancer is causally associated to persistent infection with high risk human papillomavirus (HPV), especially HPV-16. The HPV capsid is mainly composed of the L1 protein that can self-assemble in the absence of genetic material forming virus-like particles (VLPs) that are structurally and immunologically similar to the infectious virions. Aptamers are oligonucleotide ligands obtained by the iterative application of the SELEX method (Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment) over combinatorial libraries and are capable of binding tightly and specifically to its targets. In this work, aptamers that specifically recognize HPV-16 virus-like particles (VLPs) were isolated from a combinatorial library of 415 variants using a modified SELEX method. Several aptamers were obtained after three cycles of negative selection and five cycles of positive selection against HPV-16 L1 VLPs. These aptamers were sequenced and divided into three groups according to sequence similitude. An aptamer representative of each group was probed for specificity against HPV-16 VLPs, the selection system and bovine albumin. Although all the probed aptamers efficiently bound the VLPs, the Sc5-3 aptamer showed the highest specificity. Later experiments using bacteria-produced HPV-16 L1 and GST-L1 chimeras resulted also in specific binding by Sc5-c3 aptamer, suggesting that recognition of L1 is not dependent in quaternary structure. Current experiments are aimed to establish the L1 domain associated to Sc5-c3 binding and cross-reactivity against other HPV types. Highly specific L1-recognizing aptamers have great potential as diagnostic tools and as antiviral agents to block HPV-16 infection.

<sup>1</sup>Laboratorio de Terapia Génica, Departamento de Genética y Biología Molecular, CINVESTAV, México, D.F., México.

### **P-112: HUMAN PAPILLOMAVIRUS 6/11-SPECIFIC T-CELLS BINDING CLASS II TETRAMER-E2/E6 COMPLEXES ELICIT REDUCED IFN-?**

*Edward James<sup>1</sup>, Devoti James<sup>2,3</sup>, Rosenthal David<sup>2,3,4</sup>, Hatam Lynda<sup>2,3</sup>, Steinberg Bettie<sup>4,5</sup>, Abramson Allan<sup>3,5</sup>, Bonagura Vincent<sup>2,3,4</sup>*

DST - J bras Doenças Sex Transm 2010; 22(4): 233-267

**Objectives:** The HLA-DRB1\*0102, DRB1\*0301 haplotype is associated with increased severity of RRP, a disease caused by HPV-6/11. TH1-like responses to E6/E2 proteins have been shown to protect against papillomavirus-induced disease in animals, and TH2 polarization may be related to RRP disease severity in DRB1\*0102 and DRB1\*0301 expressing patients with RRP. **Methods:** Using tetramer guided epitope mapping, we identified the dominant immunogenic peptides within HPV-11 early proteins E6/E2, restricted by DRB1\*0102 and/or DRB1\*0301. Peptide binding, tetramer staining, and proliferation assays identified minimal epitopes within these peptides. The cytokine profile of sorted tetramer positive T-cell lines from RRP patients (n=6) and controls (n=10) was measured using a cytokine capture assay, to determine E2/E6-responsive T-cell polarization. **Results:** Two distinct E6/E2 peptides (E6 113-132, E2 1-20) contained DRB1\*0102 and DRB1\*0301 restricted epitopes respectively. An additional peptide (E2 281-300) contained an epitope presented by both DRB1\*0102 and DRB1\*0301. Minimal epitopes within these peptides bound to recombinant DR protein, gave positive tetramer staining for sorted T-cell lines, and elicited T-cell proliferation in both RRP patients and HLA-matched healthy controls. While the magnitude of responses to these epitopes was similar in both groups, IFN- $\gamma$  secretion was substantially lower in T-cell lines isolated from RRP patients and IL-13 was expressed by some tetramer-peptide binding T-clones. **Conclusions:** CD4+ T-cells specific for E2/E6 epitopes are easily detected in RRP patients and healthy controls with DRB1\*0102 and DRB1\*0301 haplotypes. However, RRP patients exhibit HPV-specific, immune dysregulation, indicated by decreased IFN- $\gamma$ , but increased IL-13 expression. Therefore, therapeutic vaccination or other interventions that repolarize T-cell responses and restore TH1-like cytokine responses to HPV proteins could improve outcomes for RRP patients.

<sup>1</sup>Benaroya Research Institute, Seattle, WA, USA; <sup>2</sup>Feinstein Institute for Medical Research, North Shore-LIJ Health System, Manhasset, NY, USA; <sup>3</sup>Division of Allergy/Immunology, North Shore LIJ Health System, Manhasset, NY, USA; <sup>4</sup>Elmezzi Graduate School of Molecular Medicine, North Shore LIJ Health System, Manhasset, NY, USA; <sup>5</sup>Department of Otolaryngology, Long Island Jewish Medical Center, New Hyde Park, NY, USA.

### **P-114: REVERSAL OF HPV-MEDIATED SUPPRESSION OF LANGERHANS CELL FUNCTION WITH THE TLR3 AGONIST POLYICR**

*Diane Da Silva<sup>1</sup>, Maaike Koopman<sup>1</sup>, Heike Brand<sup>1</sup>, Gregory McKee<sup>2</sup>, W. Martin Kast<sup>1</sup>*

**Background:** The HPV family of viruses establishes persistent infections because it has evolved mechanisms that allow it to evade the human immune system. Studies from our laboratory have identified HPV-mediated suppression of antigen presentation by Langerhans cells (LC) as a key mechanism through which HPV evades immune surveillance. PolyICR is a stable TLR3 agonist that is a broad inducer of innate immunity and is being developed as a vaccine adjuvant and antitumor agent. An important feature of PolyICR is its ability to enhance dendritic cell expression of cell surface markers, cytokine production and functional activation of T cells.

**Objectives:** In this study, we determined whether PolyICR can overcome HPV-induced immune suppression by functionally activating LC in the presence of HPV16 and inducing activation of HPV16-specific T cells.

**Methods:** Human LC were analyzed for the expression of MHC and T-cell co-stimulatory molecules, production of Th1 inducing cytokines, in vitro migration, and activation of HPV16-specific T cells when LC were exposed to HPV16 VLP and subsequently to PolyICR.

**Conclusions:** PolyICR was able to activate LC that had been pre-exposed to HPV16 VLP such that expression of MHC, CD40, CD80, CD86, and CD83 were highly upregulated and LC secreted high amounts of Th1 and inflammatory cytokines and chemokines. Upregulation of the chemokine receptor CCR7 resulted in a significant increase in migration capacity. LC incubated with HPV16 VLP and treated with PolyICR induced an HPV16-specific CD8+ T cell response detected by interferon gamma Elispot and MHC tetramer analysis that was absent when LC were exposed to VLP alone. These data suggest that the TLR3 agonist PolyICR is a promising therapeutic molecule that can overcome HPV-induced immune suppression of LC and result in an LC capable of stimulating an anti-HPV T-cell mediated immune response.

<sup>1</sup>Norris Comprehensive Cancer Center, University of Southern California, Los Angeles, CA, USA; <sup>2</sup>Akela Pharma Inc, Austin, TX, USA.

### P-115: DETECTION OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS TYPE 16 E7-SPECIFIC T CELLS BY ELISPOT ASSAY

*Chung Won Lee<sup>1</sup>, Min Jong Song<sup>1</sup>, Keun Ho Lee<sup>1</sup>, Soo Young Hur<sup>1</sup>, Jong Sup Park<sup>1</sup>*

**Objectives:** The study aims to evaluate the effect of a human papillomavirus type 16 (HPV16) E7 synthetic peptides on the antigen-specific T-cell response in Carcinoma in situ (CIS) and cervical cancer patients.

**Methods:** We characterized the HPV-16 E7 specific T-cell epitopes using E7 overlapping peptide pools with peripheral blood lymphocytes obtained from normal healthy donors and HPV-16+ 5 CI patients and 3 invasive cervical carcinoma patients with informed consent. We then analyzed the difference in the HPV-16 E7-specific T-cell immune responses in patients during or after treatment of the lesion by ELISPOT assay.

**Results & Conclusions:** All of CIS patients were underwent loop electrosurgical excision procedure (LEEP) and all of cervical carcinoma patient were type III radical hysterectomy. Analysis of peripheral blood lymphocytes obtained from patients with HPV-16+ CIS and cervical carcinoma showed that the HPV-16+ E7 peptide pool 2-3 (aa 16-55) specific CD4+ T-cell immune response was significantly higher than other peptide pool. The HPV-16 E7 peptide specific T-cell immune response correlates with regression of established HPV16+ lesions and freedom from disease recurrence. Thus, this E7 epitope may be useful for the characterization of HPV-specific immune responses in patients infected with HPV-16 or immunized with HPV vaccines.

<sup>1</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Catholic University, Seoul St. Mary's Hospital, Seoul, Korea.

### P-117: CELLULAR IMMUNE RESPONSE TO HUMAN PAPILLOMAVIRUS 58 L1, E6 AND E7 IN CHINESE WOMEN WITH TRANSIENT INFECTIONS AND CERVICAL NEOPLASIA

*Paul Chan<sup>1</sup>, Shih-Jen Liu<sup>2</sup>, T.H. Cheung<sup>1</sup>, Winnie Yeo<sup>1</sup>, SM Ngai<sup>1</sup>, Jo Cheung<sup>1</sup>, Stephen Man<sup>3</sup>*

**Background:** A relatively high prevalence of HPV58 has been observed among invasive cervical cancers (ICC) from certain parts of the world, especially the eastern Asia, where a vaccine targeting specifically against HPV58 may be needed.

**Subjects and Methods:** T-cell responses to HPV58 L1, E6 and E7 peptides among Hong Kong Chinese women with transient infections, cervical intraepithelial neoplasia (CIN) grades 2 and 3, and invasive cervical cancers (ICC), were examined. Overlapping 9-mer peptides were screened using an in-vitro peptide binding assay, and followed by an interferon- $\gamma$  enzyme-linked immunospot (IFN- $\gamma$  ELISPOT) assay using peripheral blood mononuclear cells (PBMCs). Altogether, 91 women with HPV58 infection; including 32 transient infections, 16 CIN2, 15 CIN3, and 28 ICC, were examined.

**Results:** L1 peptides located at amino acid positions 296-304, 327-335, 101-109 and 469-477 showed positive IFN- $\gamma$  ELISPOT results from 4 HLA A11 subjects, and the responses were mainly observed from women with transient infections. On the other hand, responses to E6 and E7 peptides were mainly observed from subjects with CIN2 or above. Two HLA A11-restricted E6 peptides (amino acid positions 64-72 and 94-102), and 3 HLA A11-restricted E7 peptides (positions 78-86, 74-82, and 88-96) showed positive responses. One HLA A2-restricted E6 peptide located at the position 99-107 had elicited positive responses from 2 CIN2 subjects. Another HLA A24-restricted L1 peptide located at position 468-476 was found to have positive responses from 2 CIN2 subjects.

**Conclusions:** T-cell responses were of low intensity and only detected in a small proportion of infected subjects across different grades of cervical lesion. The E6 and E7 epitopes identified in this study can be considered for further investigation for their role as therapeutic vaccines against HPV58-associated cervical neoplasia.

<sup>1</sup>The Chinese University of Hong Kong, Hong Kong; <sup>2</sup>National Health Research Institute, Taiwan; <sup>3</sup>Cardiff University School of Medicine, Cardiff, UK.

### P-118: CELLULAR IMMUNE RESPONSE TO HUMAN PAPILLOMAVIRUS 52 L1, E6 AND E7 IN CHINESE WOMEN WITH DIFFERENT GRADES OF CERVICAL LESION

*Paul Chan<sup>1</sup>, Shih-Jen Liu<sup>2</sup>, Jo Cheung<sup>1</sup>, T.H. Cheung<sup>1</sup>, Winnie Yeo<sup>1</sup>, Stephen Man<sup>3</sup>*

**Background:** HPV52 has been found in a relatively high prevalence among cervical neoplasia in East Asia. Vaccines target specifically at HPV52 may be required for this region. The E6 and E7 proteins encoded by HPV are prime targets for therapeutic vaccine development.

**Subjects and Methods:** 95 Hong Kong Chinese women with

confirmed HPV52 infections; including 33 transient infections, 17 CIN 2, 15 CIN3, and 30 invasive cervical cancers had peripheral blood mononuclear cells collected to measure the T-cell responses using interferon- $\gamma$  enzyme-linked immunospot (IFN- $\gamma$  ELISPOT) assay.

**Results:** Epitopes located at amino acid positions 103-111, 332-340, 342-350 and 373-381 of the L1 protein; and at 27-35 and 86-94 of the E6 protein; and at 1-9 and 27-35 of the E7 protein, were found to elicit positive responses from HLA A11 individuals. A24-specific epitopes included 60-68 and 98-106 of the L1 protein, 42-50 and 59-67 of the E6 protein, and 24-32 of the E7 protein. One epitope (99-107) of the E6 protein showed positive responses for HLA A2 subjects.

**Conclusions:** The proportion of subjects showing detectable T-cell responses and the intensity of responses were low across all grades of cervical neoplasia suggesting that immune evasion mechanisms had set on early in the course of disease progression. T-cell responses against L1 were mainly confined to subjects who had recently cleared an HPV52 infection, whereas E6- and E7-specific responses were mainly observed from subjects who had developed cervical neoplasia. Further studies are warranted to evaluate the usefulness of these epitopes as therapeutic vaccine candidates.

<sup>1</sup>The Chinese University of Hong Kong, Hong Kong; <sup>2</sup>National Health Research Institute, Taiwan; <sup>3</sup>Cardiff University School of Medicine, Cardiff, UK.

### P-119: SEQUENCE VARIATIONS OF HUMAN PAPILOMAVIRUS TYPE 58 E2, E4 AND E5 GENES ACROSS THE WORLD

*Paul Chan<sup>1</sup>, Jo Cheung<sup>1</sup>, Alfred Luk<sup>1</sup>, Wendy Ho<sup>1</sup>*

**Introduction:** HPV58 is more common in Asia and ranks the second or third among cervical cancers from Chinese populations.

**Method:** A total of 571 HPV58 samples, including 521 cervical scrapes and biopsies, and 50 penile scrapes collected from 15 countries were sequenced for the full length of E2, E4 and E5 genes. The phylogenetic relationship among different HPV58 variants was analysed by constructing maximum likelihood (ML) phylogenetic trees using PAUP\* 4.0 b10.

**Results:** A total of 410 isolates were successfully sequenced for the E2 and E4 gene, and 421 isolates for the E5 gene. 76 variants of E2 were identified, but none was identical to the prototype. E2-WW01 and E2-WW02 were found in 43.9% and 16.8% of the specimens, respectively. Nucleotide positions 3445, 2935, 3685, 3571 and 2932 were the five most variable sites. The ML tree had a stem-like pattern with a main stem passing through variants E2\_WW01, E2\_WW39, E2\_WW76, E2\_WW02, and E2\_WW07. 36 variants of E4 were identified, but none was identical to the prototype. E4-WW01 and E4-WW02 was found in 50.5% and 18.8% of specimens, respectively. Nucleotide positions 3445, 3571, 3596, 3411 and 3550 were the five most variable sites. No significant cluster was observed in the ML tree. 47 variants of E5 were identified. The prototype-like variant (E5\_WW18) was found in only 1% of isolates. E5-WW01 and E5-WW02 was found in 48.2% and 22.1% of specimens, respectively. Nucleotide positions 3949, 3988, 3957, 4047 and 3930 were the five most variable sites. Only one significant cluster

was observed in the ML tree, which only contained 2 variants.

**Conclusion:** Nucleotide sequence variations occur in the E2, E4 and E5 genes; but the variations are not sufficient for HPV58 lineage grouping. Clinical and epidemiological implication of these sequence variations remain to be established.

<sup>1</sup>Department of Microbiology, Faculty of Medicine, The Chinese University of Hong Kong, Hong Kong SAR, China.

### P-120: CORRELATION OF MUCOSAL TYPE 1 IMMUNE RESPONSE TO ONCOGENIC HUMAN PAPILOMAVIRUS (HPV) IN CERVICAL T CELLS TO FATE OF PRECURSOR LESIONS OF CERVICAL CANCER

*Satoko Kojima<sup>1</sup>, Kei Kawana<sup>1</sup>, Terufumi Yokoyama<sup>1</sup>, Kensuke Tomio<sup>1</sup>, Shiho Miura<sup>1</sup>, Katsuyuki Adachi<sup>1</sup>, Katsutoshi Oda<sup>1</sup>, Tomoyuki Fujii<sup>1</sup>, Shiro Kozuma<sup>1</sup>, Yuji Taketani<sup>1</sup>*

**Introduction:** Given that the cervical intraepithelial neoplasia (CIN) develops in the cervical mucosa followed by human papillomavirus (HPV) infection, the mucosal cytotoxic (type1) immunity against HPV is necessary for control of CIN. The aim of this study was to establish a method for measuring mucosal anti-HPV cellular immune response and to examine the relationship between the mucosal immunity and the CIN course. In this study, we focused on mucosal type1 immune responses to HPV16 E7 oncoprotein.

**Patients and Methods:** Cervical lymphocytes (105-6 cells) were obtained from cervix of 27 patients with CIN lesions by Cytobrush under written informed consent. Among them, 17 patients with CIN 2-3 were positive for HPV16, and 10 patients with CIN 1/2 were positive for other HPV ("Other HPV group"). Seventeen patients with CIN 2-3 were grouped according to their course; 8 patients who received conization after sampling due to progression were classified into "Cone group", and 9 who dispensed with conization after sampling due to stable diseases or regression to CIN1 into "Treatment-free (TF) group". Cervical lymphocytes were examined for ELISPOT assay to detect HPV16 E7-specific IFN-gamma producing cells. Numbers of E7-specific IFN-gamma producing cells (anti-E7 type1 immune cells) were compared between the three groups.

**Result:** FACS analysis revealed that 3.7-20% (median=6.0%) of the cervical lymphocytes expressed CD3 (CD4:CD8=6:4) whereas 0.1-0.5% expressed CD19. Number of anti-E7 type1 immune cells of TF, Cone and Other HPV groups was 63-126 (average=98.6), 0-70 (average= 36.0), and 0-71 (average=42.7) /104 cells, respectively. The cell number of TF group was significantly higher when compared to either Cone or Other HPV group (t test; p<0.005).

**Conclusion:** Patients who induced mucosal E7-specific type1 immune responses can control CIN2-3 lesions spontaneously. The number of anti-E7 type1 immune cells in the cervical mucosa was a promising-biomarker to determine a fate of CIN2-3 lesions.

<sup>1</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, University of Tokyo, Tokyo, Japan.



### P-121: CYTOKINE LEVELS IN CERVICOVAGINAL SECRETIONS OF WOMEN WITH HIGH SQUAMOUS INTRAEPITHELIAL LESIONS (HSIL)

*B. Maira Mösch<sup>1</sup>, Larissa Marcolino Doddi<sup>2</sup>, Jossimara Poletini<sup>2</sup>, Danielle Ferreira da Silva<sup>3</sup>, Joao Manuel Grisi Candeias<sup>3</sup>, Marcia Guimaraes da Silva<sup>2</sup>*

**Background:** Current data shows that human papillomavirus (HPV) is the primary causal agent in the development of cervical cancer. Most HPV infections likely involve a balance of Th1 and Th2 type immune responses.

**Objectives:** To measure cervical levels of the interleukin (IL)-4, IL-6, IL-8, IL-10 and IL-12 from women with HSIL and from women in a control group

**Methods:** A total of 40 women with a histopathological diagnosis of HSIL and 38 women without lesions but with high-risk HPV attended in Botucatu Medical School, and Amaral Carvalho Hospital, Jaú, SP. During the speculum exam cervical secretion was collected. The concentrations of the cytokines were determined using quantitative ELISA kits (R&D Systems). The research and genotyping assay of the HPV, in extracted secretions, was carried out on fragments of cervical biopsies obtained through a colposcopic examination of the cervix, using the L1 consensus PCR (GP5+/GP6+) and multiplex PCR.

**Results:** The median age of the control group was 33 years (22-60) and for the patients with HSIL, 37 years (19-70). Sixty patients (77.0%) were of Caucasian origin, 38.5% of the women were smokers and 23.0% reported lifetime monogamy. Of the women who were sexually active, the median of sexual intercourse was 1 in the control group and 2 in the HSIL group. In relation to oral contraceptives, 44.9% of all patients reported having used. DNA-HPV was detected in all cervical biopsy samples and the most common HPV types identified were, in order of decreasing prevalence, HPV-18, -33 and -16. No significant difference in local IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 and IL-12 was found in patients with HSIL compared to the control group.

**Conclusions:** The production of cytokines in the cervicovaginal secretions is similar in patients with HSIL and patients without lesions contaminated with high-risk HPV. Financial support: FAPESP: 2008/58861-3.

<sup>1</sup>Faculty of Earth and Life Sciences, Vrije Universiteit, Amsterdam, The Netherlands; <sup>2</sup>Department of Pathology, Botucatu Medical School, São Paulo State University, Botucatu, Brazil; <sup>3</sup>Department of Microbiology and Immunology, Botucatu Biosciences Institute, São Paulo State University, Botucatu, Brazil.

### P-123: IFN- $\gamma$ , IL-12, IL-18 AND HPV IN CERVICAL CARCINOGENESIS

*Gloria Fernández-Tilapa<sup>1</sup>, Hilda Jiménez-Wences<sup>1</sup>, Fabiola Padilla-Islas<sup>1</sup>, Dinorah Nashely Martínez-Carrillo<sup>1</sup>, Luz del Carmen Alarcón-Romero<sup>2</sup>, Amalia Vences-Velázquez<sup>3</sup>, Berenice Illades-Aguilar<sup>4</sup>*

**Background:** The host response to malignant tumors is a primary function in cellular immunity, modulated by Th1 cytokines. Objective: To determine RNA expression of IFN- $\gamma$ , IL-12, IL-18 in premalignant lesions and cervical cancer associated with HPV infection.

**Methods:** Were analyzed 123 biopsies with diagnosis of low grade squamous intraepithelial lesion (LSIL), 40 with high grade squamous intraepithelial lesion (HSIL), 48 of cervical carcinoma (CC) and 66 cone fragments obtained from women with colposcopy findings of HPV infection and/or cervical lesion. Thirty-three cervical scrapes from cytologically normal women (CN) were studied too. PCR was used for HPV screening with the MY09/MY11 and GP5+/GP6+ primers; RFLPs or sequencing were used for typing and cytokines mRNA expression was detected by RT-PCR.

**Results:** The prevalence of HPV infection was 83% in LSIL, 77.5% in HSIL and 100% in CC (Table 1). The most common types viral were 16, 18, 58 and 31. IFN- $\gamma$  mRNA was found in 27.6% of the CN samples, 3.4% of LSIL, 15% of HSIL and 39.4% of CC. The SIL and CC samples that expressed IFN- $\gamma$  had high oncogenic risk HPV DNA; 48.5% of CC expressed IL-18 mRNA, and the level of transcripts was higher in CN than in CC; the lowest levels were found in SIL. Only 65% of IL-18 positive biopsies were HPV-positive of which 43% were HPV 16-positive. None of the samples with SIL or CC expressed the message of IL-12p35 and p40 subunits and only 25% of the CN samples had IL-12p35 mRNA. Only 48% of the samples were IFN- $\gamma$  and IL-18 mRNA positives (Table 2).

Table-1. Infection by HPV in cases of SIL and CC, detected by PCR-MY and PCR-GP+. State of the Guerrero, Mexico, 2003.

PCR -MY PCR-GP+	Infection by HPV				Total n
	Negative	Negative	Positive	Positive	
	Negative	Positive	Positive	NR <sup>a</sup>	
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
LSIL	21 (17)	34 (27.6)	52 (42.3)	16 (13.0)	123
HSIL	9 (22.5)	5 (12.5)	11 (27.5)	15 (37.5)	40
CC	0 (0.0)	4 (8.3)	3 (6.3)	41 (85.4)	48
<b>Total</b>	<b>30</b>	<b>43</b>	<b>66</b>	<b>72</b>	<b>211<sup>a</sup></b>

<sup>a</sup> The percentage calculated by column, the totals in column and row.

<sup>a</sup> It was not realized.

**Table-2. Expression of the mRNA of IL-12 and IL-18 in samples with detectable levels of the transcripts IFN- $\gamma$ , in cervical tissue with normal cytology, SIL or CC.**

mRNA de IFN- $\gamma$ positive (n)	mRNA IL-12p35 <sup>pos</sup> / IL-18 <sup>pos</sup>	mRNA IL-12p35 <sup>pos</sup> / IL-18 <sup>neg</sup>	mRNA IL-12p35 <sup>neg</sup> / IL-18 <sup>pos</sup>	mRNA IL-12p35 <sup>neg</sup> / IL-18 <sup>neg</sup>
	CN	8 2/8	2/8	3/8
LSIL	4 0	0	1/4	3/4
HSIL	6 0	0	2/6	4/6
CC	13 0	0	9/13	4/13

Pos: Positive expression, Neg: Without expression

**Conclusions:** In cervical tissues infected by HPV there is important dysregulation in IL-18, IL-12 and IFN- $\gamma$ , which are key in the Th1 activation response and favoring persistent HPV infection and increasing the risk to develop premalignant lesions as well as cervical cancer.

<sup>1</sup>Laboratorio de Investigación Clínica, Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Guerrero, Chilpancingo, México; <sup>2</sup>Laboratorio de Citopatología, Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Guerrero, Chilpancingo, México; <sup>3</sup>Laboratorio de Inmunobiología y Diagnóstico Molecular, Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Guerrero, Chilpancingo, México; <sup>4</sup>Laboratorio de Biomedicina Molecular, Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Guerrero, Chilpancingo, México.

#### P-125: SEQUENCE VARIATION OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS TYPE 58 E7 ACROSS THE WORLD

*Wendy C.S. Ho<sup>1</sup>, Jo LK Cheung<sup>1</sup>, Alfred CS Luk<sup>1</sup>, Paul KS Chan<sup>1</sup>*

**Introduction:** HPV58, though rare worldwide, ranks the second or third among cervical cancers detected from Chinese populations. The E7 oncoprotein disrupts cell cycle regulation and is a key leading to the transformation of infected cells. **Method:** A total of 571 HPV58-positive samples, including 521 cervical scrapes and biopsies, and 50 penile scrapes collected from 15 countries were analysed. The E7 gene was sequenced and aligned by CLUSTAL X to identify HPV58 E7 variants. The entropy of each variable nucleotide position was calculated. The phylogenetic relationship among different HPV58 variants was analysed by maximum likelihood (ML) trees generated by PAUP\* 4.0 b10, and Bayesian phylogenetic trees constructed by MrBayes v3.1.2. **Results:** A total of 441 isolates were successfully sequenced with 22 variants identified. The prototype-like variant being detected in 5.7% of isolates, was the fourth most common variant found. E7-WW01 and E7-WW02 were found in 49.7% and 21.1% of the specimens, respectively. The second and fourth most common variant, E7-WW02 and E-7-WW04, were found more commonly in Asia. Nucleotide positions 694, 760, 632, 793 and 801 were the five most variable sites, with an entropy value of 0.69, 0.57, 0.53, 0.40 and 0.39, respectively. All these variations involved amino acid changes. The 22 variants of E7

were divided into two main clusters in the ML tree, whereas three significant clusters were observed in the Bayesian tree.

**Conclusion:** Multiple nonsynonymous sequence variations occur in the E7 gene of HPV58. It is worthwhile to further study the oncogenic implication of these variants.

<sup>1</sup>Department of Microbiology, Faculty of Medicine, The Chinese University of Hong Kong, Hong Kong SAR, China.

#### P-127: DETERMINATION OF THE DIAGNOSTIC ACCURACY OF TESTING FOR HIGH-RISK (HR) HUMAN PAPILLOMAVIRUS (HPV) TYPES 16, 18 AND 45 IN PRECANCEROUS CERVICAL LESIONS

*Sven Tiewes<sup>1</sup>, Winfried Steinberg<sup>1</sup>, Wladimir Schneider<sup>1</sup>, Christoph Hanrath<sup>1</sup>*

**Objectives:** The purpose of this study was to determine the positive predictive value of HR-HPV testing for precancerous lesions of the cervix uteri. Therefore, we focused on the diagnostic accuracy of testing for one or more of the HPV types 16, 18 and 45 for all HR-HPV positive women. HR-HPV infections with subtypes 16, 18 and 45 have demonstrated a higher risk of developing cervical cancer [Bulk S, et al. Br J Cancer 2006; 94:171-5]. **Methods:** Between 2007 and 2008 a total of 586 women were recruited: a group of 477 women with a history of known cervical lesions and/or HPV infections (eligibility criterion: HR-HPVDNA positive test result with HC2T) and a group of 109 women who were examined as part of their routine cervical cancer screening. Baseline HR-HPV status was measured at enrolment with the FDA-approved Hybrid Capture® 2 HPVDNA Test and the HR-HPV 16/18/45 Probe Set Test (HC2T, PST; QIAGEN, Hilden, Germany). Cervical smears were classified according to the Second Munich Nomenclature (1989). The results were converted to the nearest equivalent in the Bethesda system. In general, study subjects were followed up semi-annually for a period of 11/2 years. The histopathological endpoint of CIN 2-3 lesion was used as a surrogate endpoint. **Results:** To date data for 43.5 % of the risk group and for the complete control group were available. CIN 2-3 was confirmed in 77 HR-HPVDNA positive women. 85.7% of these lesions were positive for one or more of the HR-HPV types 16, 18 and 45 (PST+). 88.2% (60/68) of the histologically confirmed CIN 3 lesions and six out of nine (66.6%) CIN 2 lesions were positive

PST+. Furthermore, all women with a histologically confirmed squamous cell carcinoma (n = 4) were PST+. Besides, three (50%) out of six detected CIN 1 lesions were PST+. Nonetheless, histology confirmed no malignancy in three cases. Two of them were PST+. Within the next few month study results will be updated. **Conclusion:** These preliminary results demonstrate that starting cervical cancer screening at the age of 20 years remains important as seventeen (25%) of the 68 histologically verified CIN 3 lesions arose in women who were younger than 30 years. Our data suggest that adding an HR-HPV test that detects one or more of the HR-HPV types 16, 18 and 45 in conjunction with cytology could help to identify women with an underlying cervical lesion who have an elevated risk of developing severe cervical lesions.

<sup>1</sup>Dr. Steinberg und Partner, Laboratory for Cytopathology, Soest, Germany.

### P-132: E6 AND E7/HPV58 VARIANTS IN WOMEN WITH NORMAL CYTOLOGY FROM THE COLOMBIAN COHORT

Oscar Buitrago<sup>1,3</sup>, Nicolas Morales<sup>1,3</sup>, Carolina Martín<sup>1,3</sup>, Antonio Huertas<sup>1</sup>, Pablo Moreno<sup>1</sup>, Teresa Martínez<sup>1</sup>, Monica Molano<sup>1</sup>

**Background:** Human papillomavirus type 58 (HPV 58) is highly prevalent in women with normal cytology in the Colombian population. Also this type is highly prevalent in women with high grade squamous intraepithelial cervical lesions (HGSIL) and in women with invasive cervical cancer worldwide. There are few studies of E6 and E7/HPV 58 variants and some of them have shown an association of variants presence with a higher risk of HGSIL and cervical cancer. In Colombia there are no studies of E6 and E7/HPV58 variants in women with normal cytology. **Objectives:** To identify E6 and E7/HPV58 variants in cervical scrapes of women with prevalent HPV 58 infections in the Bogotá cohort. **Methods:** The E6 and E7 regions of 34 samples HPV 58 positives were amplified using the E6F1/E7R1 primers for the ORF E6 and E7P1/E7P2 primers for the ORF E7. E6 and E7/HPV 58 variants were detected using automated direct sequencing. The reference sequence of HPV 58 was used to compare sequences. **Results:** 27/34 samples amplified the ORF E6 and E7 (79.4%). Twenty one of these samples have the T307/A694/G744/A761 variant (77.8%), three samples have the T307/T632/G744 /A760 variant (11.1%), one sample has the A169/T307/A599/A694/G744 /A761 variant (3.7%), one sample has the T307/A694/G744/A761/G763 variant (3.7%) and one sample has the T307/G744 variant (3.7%). None of the samples had the reference sequence of HPV58. **Conclusions:** Five different variants were identified in the samples analyzed: 3 previously identified in Asian population and 2 new variants (A169/T307/A599/A694/G744/A761 variant and T307/A694/G744/A761/G763 variant). The follow up analysis of these variants will give important information about the role of these variants in the persistence of HPV 58 infection and in the development of cervical intraepithelial lesions.

<sup>1</sup>Grupo de Investigación en Biología del Cáncer, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá, Colombia; <sup>2</sup>Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia; <sup>3</sup>Grupo Investigación Epidemiológica, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá, Colombia.

### P-133: HPV-16 INTRATYPE VARIATION IN WOMEN ATTENDING GYNECOLOGICAL OUTPATIENT DEPARTMENT DURING 2009 IN SPAIN

Sonia Perez<sup>1</sup>, Ana Cid<sup>2</sup>, Monica Pato<sup>4</sup>, M Teresa Saran<sup>3</sup>, Sonia Gonzalez<sup>1</sup>, M Carmen Alvarez<sup>2</sup>, M Gloria Esteban<sup>2</sup>, Julio Torres<sup>1</sup>, Isabel Lopez-Miragaya<sup>1</sup>, Maria Oña<sup>5</sup>

**Objective:** To detect nucleotide polymorphisms within the LCR, E6 and L1 genes of HPV 16 in general population of Northwest Spain. **Materials and Methods:** 2 protocols were carried out for HPV detection and genotyping in endocervical samples received from women attending a gynecological outpatient department during the year 2009: nested PCR MY09/11-GP5/6 (followed by DNA sequencing) in one Microbiology Unit and Amplicor HPVtest and Linear Array HPV Genotyping Test (Roche) in another one. HPV 16 was detected in 170 women. For identification of HPV 16 sequence variation, 761bp from the LCR-E6 region (Nt 7701-591) and 422bp from the L1 region (Nt 6599-7021) were amplified (Expand HiFi, Roche) as previously described (Xi LF, 2006. Wheeler, 1997) and sequenced (BigDye 1.1. Abi Prism 3100-Avant). All sequences from a sample were combined for the analysis. For the multiple alignment and the phylogenetic analysis the reference sequences European (E), Asian (As), African (Af1, Af2), Asian-American (AA) and NorthAmerican (NA) were included (Yamada, 1995). **Results:** In 145 cases (average age 35.7 years) sequences of the three regions were available. The distribution of HPV 16 variants was: 131/145 (90.3%) E lineage and 14/145 (9.7%) non E variants. Of the 131 E lineage sequences, 66 (50.4%) grouped into the E-350G cluster (52 European Patron E-P, 4 E-C109G, 4 E-G131G, 2 E-C188G, 1 E-m), 61 (46.6%) into the E-350T cluster (all of them E-P) and 4 (3.1%) into the E-350G/350T one (E-P). Among the non E variants there were 7 AA, 4 Af2, 2 Af1 and 1 NA strains. **Conclusions:** European lineage was the most prevalent HPV 16 variant. There was a homogeneous presence of E-350G and E-350T. No Asian Variant was found in the studied population.

<sup>1</sup>Microbiology Unit, Complejo Hospitalario Universitario Vigo, Vigo, Spain; <sup>2</sup>Microbiology Unit, Complejo Universitario Ourense, Ourense, Spain; <sup>3</sup>Gynecology Unit, Complejo Hospitalario Universitario Vigo, Vigo, Spain; <sup>4</sup>Gynecology Unit, Complejo Hospitalario Ourense, Ourense, Spain; <sup>5</sup>Microbiology Unit, Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo, Spain.

### P-136: SPECTRAL PHENOTYPE OF ONCOGENIC HPV-INFECTED EXFOLIATIVE CERVICAL CYTOLOGY

Pierre Martin-Hirsch<sup>1</sup>, Jemma Kelly<sup>1</sup>, Cara Martin<sup>2</sup>, Walter Prendiville<sup>2</sup>, John O'Leary<sup>2</sup>, Frank Martin<sup>1</sup>

Human papillomavirus (HPV) is a sexually-transmitted infection associated with cervical cancer. Over 100 HPV types have been identified of which 13 are high-risk oncogenic. In unvaccinated women worldwide, the incidence of cervical cancer from HPV 16 and 18 will remain. Cervical cytology can be graded from normal (atypia-free) to low-grade (borderline nuclear abnormality/cervical intraepithelial neoplasia [CIN] 1) to high-grade (CIN2/3). Infrared (IR) spectroscopy is a non-destructive technique that allows the acquisition of a biochemical-cell fingerprint based on vibrational states of chemical bonds in the interrogated sample. Exfoliative

cervical cytology specimens (n=147) were retrieved, graded by a cytologist and HPV-tested/genotyped using Hybrid Capture 2 and the Roche HPV Linear Array. Additionally, the spectral signatures cervical cell lines C33A, HeLa and SiHa were examined. After washing, cellular material was transferred to low-E glass slides and interrogated using attenuated total reflection Fourier-transform IR (ATR-FTIR) spectroscopy; 10 spectra were acquired per sample. Given the complex nature of a resultant dataset consisting of thousands of variables (wavenumbers), we used multivariate analysis for data reduction and information retrieval. Principal component analysis coupled with linear discriminant analysis (PCA-LDA) gave a visual representation of the data (scores plot) and, identification of the wavenumbers and consequent biochemical entities responsible for segregation (loadings plot). Immortalised cell lines were readily distinguishable from each other. It was difficult to segregate categories of cytology associated with specific HPV infection types. However, in low-grade cytology infected with high-risk oncogenic HPV 16 or 18, it was possible to segregate women based those aged 20 - 29 y and 30 - 39 y. This suggests a spectral phenotype in exfoliative cervical cytology associated with transient versus persistent HPV infection.

<sup>1</sup>Centre for Biophotonics, Lancaster Environment Centre, Lancaster University, Lancaster, UK; <sup>2</sup>Department of Pathology, Coombe Women and Infants University Hospital, Dublin, Ireland.

### P-137: A COMPETITIVE SEROLOGY ASSAY SHOWS PROTECTION AGAINST HPV INFECTION BY NATURAL TITERS IN THE GUANACASTE NATURAL HISTORY STUDY

*Nicolas Wentzensen<sup>1</sup>, Ana Cecilia Rodriguez<sup>2</sup>, Raphael Viscidi<sup>3</sup>, Rolando Herrero<sup>2</sup>, Allan Hildesheim<sup>1</sup>, Jorge Morales<sup>2</sup>, Sholom Wacholder<sup>1</sup>, Mahboobeh Safaeian<sup>1</sup>, Robert Burk<sup>4</sup>, Mark Schiffman<sup>1</sup>*

**Background:** VLP-based HPV ELISA serology assays only partially predict immunity. A novel competitive Luminex Immunoassay (cLIA) has been developed by M. Esser and colleagues to specifically measure neutralizing antibodies against HPV types included in the quadrivalent vaccine. **Objective:** We evaluated whether cLIA measured immunity against subsequent HPV6, 11, 16, and 18 infections in a subcohort of women nested in the Guanacaste Natural History Study.

**Methods:** We tested women who were HPV6, 11, 16, and 18 DNA negative at baseline and had a subsequent persistent infection or type-related CIN2+ with one of these 4 HPV types, and half of women with a subsequent transient infection (n=369 total). We also tested a sample of women from the cohort stratified by sexual activity and genotype status (n=498). The cLIA results are compared to previous VLP-based ELISA results for HPV16 (other types to be presented).

**Results:** The reproducibility for HPV16 cLIA testing was very good (R-square 0.95). Only 77/867 women were seropositive by HPV16 cLIA (including 0/69 virgins) compared to 224/867 by HPV16 VLP ELISA (p<0.001). ELISA but not cLIA seropositivity increased with number of previous sexual partners (p<0.001). HPV16 cLIA

positivity was associated with protection against subsequent infections or HPV16-associated CIN2+ (OR 0.31, CI: 0.11-1.03). No women developing HPV16+ CIN2+ were cLIA positive. HPV16 ELISA positivity showed weaker protection (OR 0.63, CI: 0.42-1.04) that increased with strong seropositivity (OR 0.43, CI: 0.22-0.85). In paired, mutually-adjusted analyses, cLIA seropositivity was correlated with strong ELISA seropositivity; but cLIA positivity was the important predictor of immunity.

**Conclusions:** Neutralizing antibodies developing from the natural humoral immune response against HPV can be measured. Detection of neutralizing antibodies against HPV16 is associated with significant protection against subsequent infection and disease; however, the cLIA assay has low sensitivity to measure previous exposure.

<sup>1</sup>DCEG, NCI, NIH, Bethesda, MD, USA; <sup>2</sup>Proyecto Epidemiológico Guanacaste, San Jose, Costa Rica; <sup>3</sup>Johns Hopkins University, Baltimore, MD, USA; <sup>4</sup>Albert Einstein College of Medicine, New York, NY, USA.

### P-139: SEROPREVALENCE OF SEVEN HIGH RISK HPV TYPES IN THE DUTCH POPULATION

*Mirte Scherpenisse<sup>1,2</sup>, Rutger Schepp<sup>1</sup>, Hein Boot<sup>1</sup>, Chris Meijer<sup>1,2</sup>, Guy Berbers<sup>1</sup>, Fiona Van Der Klis<sup>1</sup>*

**Background and Objectives:** HPV infections are one of the most common sexually transmitted diseases. In March 2009 the Dutch government decided to routinely vaccinate all 12 year old girls against HPV-16 and HPV-18 with the bivalent HPV-vaccine (Cervarix, GSK). Data about the seroprevalence of high risk HPV types in the Dutch population are scarce. In 2006/2007 a large serum bank was established by means of a cross-sectional population-based study (ISRCTN 20164309). The serological antibody levels against 7 high risk HPV serotypes will be determined in this serum bank from the prevaccination era using a multiplex immuno assay (MIA) as developed by the vaccine producer. The MIA is validated for measurement of specific antibodies against HPV type 16, 18, 31, 33, 45, 52, and 58.

**Methods:** The cross-sectional serosurvey consists of samples from men and women between 0-79 years of age, n=6386 (1). The specific antibodies against seven high risk HPV types will be determined in this serum bank with a fluorescent bead-based multiplex immuno assay with virus like particles (VLPs) for the seven HPV serotypes coupled to the microspheres (luminex technology).

**Results and Discussion:** The antibody levels against the 7 high risk HPV serotypes obtained with the MIA will be presented. This study will contribute to gain insight into incidence of high risk HPV infections in the Dutch population. It is important to study the effects of the routine vaccination and the catch-up campaign started in 2009. Furthermore, possible shifts in the seroprevalence of the high risk HPV types can be distinguished by comparing the antibody levels in a serosurveillance study established in 1995/1996, with the data from the 2006/2007 study.

1. van der Klis et al, *Neth. J. Med.*, 2009, 67:301-8.

<sup>1</sup>Laboratory for Infectious Diseases and Screening, National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven, The Netherlands; <sup>2</sup>Department of Pathology, VU University Medical Centre, Amsterdam, The Netherlands.

### **P-140: CALIBRATION OF AN HPV 6/11/16/18 SEROLOGY STANDARD TO AN INTERNAL STANDARD AND WHO 05/134 FOR HPV 16**

*Katie Matys<sup>1</sup>, Melissa Rose<sup>1</sup>, Lauren Ciminera<sup>1</sup>, Tina Green<sup>1</sup>, Jeff Gatz<sup>2</sup>, Paul Liberator<sup>1</sup>, Mark Esser<sup>1</sup>*

**Background:** A Food and Drug Administration (FDA) or World Health Organization (WHO)/National Institute of Biological Standards and Controls (NIBSC) Human Papillomavirus (HPV) 6/11/16/18 human reference standard is not available. A 30L reference standard comprised of sera from women vaccinated with GARDASIL<sup>®</sup> was created to measure the antibody response to HPV 6, 11, 16 and 18 virus-like particles (VLPs).

**Methods:** A protocol was written and performed to collect serum and plasma from women within 6 months following vaccination with the HPV 6/11/16/18 VLP-containing vaccine, GARDASIL. The sera were screened in a competitive Luminex immunoassay (HPV-4 cLIA) for antibody titers to neutralizing epitopes on the VLPs and 31 individuals with high antibody titers were selected for plasma donation. The pooled reference serum was calibrated to an internal African Green monkey (AGM) reference standard and the WHO 05/134 type 16 reference standard. A set of 81 samples from GARDASIL vaccinees and non-vaccinees were used in the concordance analysis to determine the relative potency of the human reference standard in milli-Merck units/mL (mMU/mL).

**Results:** The provisional potency of the reference standard was determined to be 1274, 1198, 3544 and 686 mMU/mL for types 6, 11, 16 and 18, respectively and 276 IU/mL for type 16. The serostatus agreements using the two different reference standards were 95.5%, 97.5%, 99.4% and 93.2% for types, 6, 11, 16 and 18 respectively.

**Conclusions:** Since this reference standard is from women rather than African Green monkeys it is more qualitatively and quantitatively similar to sera from subjects enrolled in clinical trials and samples from sero-epidemiology studies. The results from this potency calibration suggest that this reference standard can be used by multiple laboratories to help harmonize results from vaccine clinical trials and sero-epidemiology surveys.

<sup>1</sup>PPD Vaccines and Biologics Lab, Wayne, PA, USA; <sup>2</sup>Bioreclamation, Hicksville, NY, USA.

### **P-142: DEVELOPMENT OF A GUHCL-MODIFIED ELISA FOR MEASURING THE AVIDITY OF ANTI-HPV VLP ANTIBODIES**

*Joseph Dauner<sup>1</sup>, Yuanji Pan<sup>1</sup>, Allan Hildesheim<sup>2</sup>, Troy Kemp<sup>1</sup>, Carolina Porras<sup>3</sup>, Ligia Pinto<sup>1</sup>*

Modified ELISAs estimate avidity through using various chaotropic agents and measuring the degree to which they disrupt the interaction between antibody and antigen. The theory behind the assay is the higher the avidity of an interaction the less susceptible it is to the effects of a chaotropic agent. The goal of this study was to develop a modified ELISA to measure the avidity of human papillomavirus (HPV)-specific antibodies raised after vaccination with HPV virus-like particles (VLP) and potentially in the context of natural infection. The HPV VLP used for coating antigens are complex, multimeric protein antigens and presumably also susceptible to

the actions of the chaotrope. Therefore, a number of chaotropic agents, including urea, diethylamine, guanidine hydrochloride and ammonium thiocyanate were evaluated in the assay for their effectiveness in measuring avidity while not affecting the integrity of the plate-bound VLP. Guanidine hydrochloride (GuHCl) was selected as an ideal chaotropic reagent because it had a minimal effect on the integrity of the plate-bound VLP. The assay was then successfully applied to a subset of sera from Cervarix<sup>®</sup> recipients from the NCI Costa Rica trial (n = 50) collected at month 12 visit. Samples were diluted to give a target OD of 1.0 and a range of concentrations of guanidine 0.5 to 3.5 M was used. Overall, the assay was highly reproducible (overall CV = 3.6%) and captured a considerable range of antibody avidity indices (median = 2.78 M, IQR = 0.96-3.26 M). Therefore, a GuHCl-modified ELISA is an acceptable, low cost and high throughput method to measure avidity indices of HPV-specific antibodies that can be used within a clinical trial setting. Additional studies are warranted to address the potential role of antibody avidity in protection against infection. Funded by NCI Contract No. HHSN261200800001E.

<sup>1</sup>HPV Immunology Laboratory, SAIC-Frederick, Inc., NCI-Frederick, Frederick, MD, USA; <sup>2</sup>Division of Cancer Epidemiology and Genetics, NCI, NIH, Bethesda, MD, USA; <sup>3</sup>Proyecto Epidemiológico Guanacaste, Fundación INCIENSA, San Jose, Costa Rica

### **P-143: LOW AVIDITY OF HPV 16 ANTIBODIES IS ASSOCIATED WITH INCREASED SUSCEPTIBILITY TO LOW - BUT NOT HIGH-RISK HPV INFECTIONS**

*Proscovia Bazanya Namujju<sup>1,2</sup>, Lea Hedman<sup>3</sup>, Klaus Hedman<sup>3</sup>, Cecily Banura<sup>4,5</sup>, Edward Katongole Mbidde<sup>2</sup>, Romano Byaruhanga<sup>5,6</sup>, Moses Muwanga<sup>7</sup>, Reinhard Kirnbauer<sup>8</sup>, Heljä-Marja Surcel<sup>1</sup>, Matti Lehtinen<sup>1</sup>*

**Background:** Assessment of low avidity antibodies has been used for differential diagnosis of acute vs. recent infections with viral, bacterial and parasitic agents. The low-avidity antibodies may, however, persist for a longer period in some individuals.

**Objectives:** We studied whether low avidity of human papillomavirus type (HPV16) IgG antibodies is associated with susceptibility to other HPV infections (indicated by corresponding seropositivity).

**Methods:** A cross-sectional study was performed on HPV16 seropositive pregnant Finnish and Ugandan women. Three hundred and sixty-seven HPV16 seropositive women were randomly selected from four groups: A) HPV16 seropositives only, B) HPV16 and HPV6/11 or C) HPV31/33 or D) HPV18/45 seropositivity. We tested for avidity of HPV16 antibodies using HPV16 virus-like particles in a modified ELISA.

**Results:** The overall prevalence of low avidity HPV16 antibodies among the HPV seropositive women was 18% (68/368). The proportions of low avidity HPV16 antibodies in the different groups were: A) 17% (28/160), B) 33.8% (23/68), C) 10.8% (9/84), and D) 14.3% (8/56). Women with the low-avidity HPV16 antibodies had an increased risk of being seropositive for low risk HPV types 6/11 (odds ratio, OR=2.4; 95% CI, 1.2-4.5). No increased risk of being seropositive for high-risk HPV types 18/31/33/45 was observed.

**Conclusions:** Our findings suggest that there are differences in

risk of being seropositive for low-risk and high-risk HPV types by low-avidity of HPV16 antibodies. Associated characteristics of host immunity could modify susceptibility to the different HPV types.

<sup>1</sup>National Institute for Health and Welfare, Oulu, Finland; <sup>2</sup>Uganda Virus Research Institute, Entebbe, Uganda; <sup>3</sup>University of Helsinki, Helsinki, Finland; <sup>4</sup>Makerere University, Kampala, Uganda; <sup>5</sup>Karolinska Institute, Stockholm, Sweden; <sup>6</sup>San Raphael of St. Francis Hospital Nsambya, Kampala, Uganda; <sup>7</sup>Entebbe Hospital, Entebbe, Uganda; <sup>8</sup>Medical University of Vienna, Vienna, Austria.

### **P-144: DETECTION OF ANTI-HPV SERUM ANTIBODIES 3 TO 12 YEARS AFTER DETECTION OF HPV DNA IN GENITAL SAMPLES FROM YOUNG WOMEN**

*Joseph Carter<sup>1</sup>, Mary Colangelo<sup>1</sup>, Shu-Kuang Lee<sup>2</sup>, Laura Sycuro<sup>2</sup>, Laura Koutsky<sup>2</sup>, Denise Galloway<sup>1,3</sup>*

Detection of antibodies to multiple HPVs in a single well using GST-L1 fusion proteins on a Luminex platform has not been well validated. This study investigates the association between HPV-type specific seropositivity and alpha HPV genital infection detected years earlier, and to assess antibody persistence. Female university students (n=285) who had previously participated in a cohort study in which they were tested for HPV DNA at 4 month intervals over an average of 3.9 years were recalled for a follow-up study. The median elapsed time between HPV DNA detection in the first study and the initial follow-up visit was 7 years (range 3 to 12). At follow-up, antibodies to 16 genital HPV types were examined using a multiplex binding assay. Associations were confirmed if women in whom HPV DNA was detected in the 1st study were significantly more likely to be seropositive for that type at follow-up compared with women in whom HPV DNA was not detected. Statistically significant associations between the type-specific detection of HPV DNA and antibodies were found for types 6, 16, 18, 33, 35, 39, 52, and 67. Antibodies to HPVs 11, 31, 51, 56, 59 and 68 were also detected more frequently among women in whom HPV DNA had been detected in the first study compared with women who consistently tested negative for that type but the associations did not achieve statistical significance. Only antibodies to HPVs 45 and 58 showed no relationship to previous DNA detection. Among women in whom HPV DNA had been detected there was considerable variation in the proportion of seropositive women. To more fully address the persistence of antibodies, we are testing sera from the first study using the multiplex assay to 16 HPV types. The results will be compared with the long-term follow-up seroprevalence to assess persistence.

<sup>1</sup>Program in Cancer Biology, Division of Human Biology and Public Health Science, Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, WA, USA; <sup>2</sup>Department of Epidemiology, University of Washington School of Public Health and Community Medicine, Seattle, WA, USA; <sup>3</sup>Department of Microbiology, University of Washington, Seattle, WA, USA.

### **P-146: TRANSCRIPTIONAL REGULATION OF E-CADHERIN BY HPV16 E6**

*Zarina D'Costa<sup>1</sup>, Charles Matthews<sup>1</sup>, Marilyn Hibma<sup>1</sup>*

*DST - J bras Doenças Sex Transm 2010; 22(4): 233-267*

**Background:** E-cadherin, a cell surface adhesion molecule, is needed for the retention of Langerhans cells (LC), the primary antigen presenting cells in the skin. We have previously reported that the E6 oncoprotein of HPV16 is able to cause a 50 % decrease in the levels of cell surface E-cadherin in vitro. This decrease is further enhanced when cells are co-transfected with both oncoproteins of the virus, E6 and E7. The objectives of this study were thus to investigate the potential transcriptional regulation of E-cadherin by HPV16 E6. **Methods:** Quantitative RT-PCR was used to compare the levels of E-cadherin mRNA in E6 and control cells. A luciferase-based reporter assay was used to determine the activity of the wild type and deletion constructs of the E-cadherin promoter, in cells with and without E6. Spontaneously immortalized epithelial cells, HaCaTs, were transduced with retroviruses expressing HPV16 E6. Protein lysates were collected from these cells and stained for transcriptional repressors of E-cadherin via western blotting. **Results:** The mRNA levels of E-cadherin were found to be 0.61 times less in cells expressing E6 compared to control cells. The measured luciferase activity showed that the E-cadherin promoter is less transcriptionally active in E6 expressing cells than control cells. Protein levels of Snail, the main transcriptional repressor of E-cadherin, were found to be elevated in cells expressing E6 relative to control cells.

**Conclusion:** HPV16 E6 is able to regulate the cell surface adhesion molecule E-cadherin at a transcriptional level. This manipulation of E-cadherin levels correlates with decreases in LC numbers in HPV16 infected skin, thus representing an immune evasion mechanism by HPV16.

<sup>1</sup>Department of Microbiology and Immunology, University of Otago, Dunedin, New Zealand.

### **P-147: HUMAN PAPILLOMAVIRUS ASSOCIATED LOSS OF E-CADHERIN EXPRESSION IS CONSERVED ACROSS ALL BUT THE B GENERA**

*Cheng Mee Leong<sup>1</sup>, John Doorbar<sup>2</sup>, Ingo Nindl<sup>3</sup>, Han-Seung Yoon<sup>4</sup>, Merilyn Hibma<sup>1</sup>*

E-cadherin is a cell adhesion molecule expressed predominantly on epithelial cells. Surface expression of E-cadherin is crucial for normal tissue organisation and morphogenesis and its loss is frequently associated with cancer. In the epidermis, E-cadherin has an additional role in Langerhans cell (LC) retention by mediating adhesion between keratinocytes and LC. We have previously reported that E-cadherin expression is frequently lost from the membrane of basal and parabasal keratinocytes in human papillomavirus type 16 (HPV16) infected cervical lesions. The aim of this study was to determine the degree of conservation of E-cadherin down-regulation among HPV types from other members of the  $\alpha 7$  genus and from representative types from other genera. Lesions infected with  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  or  $\mu$  types (including only low-grade lesions from high-risk types), were examined for E-cadherin following immunofluorescence staining. In normal tissues (n=16), E-cadherin expression was membranous and strong. E-cadherin was cytoplasmic or heterogeneous (i.e. membranous staining was absent from the majority of cells) in 11 samples infected with

high-risk  $\alpha 7$  or  $\alpha 9$  types. In cutaneous lesions (n=9) infected with low-risk types from  $\alpha 4$ ,  $\mu$  or  $\gamma$  genera, staining was heterogeneous or negative. Although the majority of  $\alpha 10$ -infected lesions (n=7) showed heterogeneous E-cadherin staining, two tissues exhibited membranous staining and significantly  $\beta$ -infected lesions had normal E-cadherin expression. The relationship between E-cadherin expression and LC was determined in all tissues following CD1a and E-cadherin double staining. In all tissues, LC were localised in areas where E-cadherin was expressed and were depleted from tissues with low E-cadherin expression. E-cadherin down-regulation by HPV therefore was not restricted to high-risk types or mucosa-infecting types but was also observed in low-risk and some cutaneous HPVs. There was a correlation between E-cadherin loss and LC depletion, supporting the hypothesis that repression of E-cadherin expression influences the immune microenvironment by mediating LC depletion.

<sup>1</sup>Department of Microbiology and Immunology, University of Otago, Dunedin, New Zealand; <sup>2</sup>National Institute for Medical Research, Mill Hill, London, UK; <sup>3</sup>DKFZ-Charite Cooperation, Viral Skin Carcinogenesis, German Cancer Research Center, Heidelberg, Germany; <sup>4</sup>Department of Pathology, University of Otago, Dunedin, New Zealand.

#### **P-148: CORRELATION OF LOCAL INFLAMMATORY CYTOKINES AND HPV CLEARANCE INDUCED BY CRYOSURGERY**

*Chamsai Pientong<sup>1</sup>, Praphatson Malat<sup>1</sup>, Tipaya Ekalaksananan<sup>1</sup>, Bunkerd Kongyingyoes<sup>2</sup>, Bundit Chumworathayee<sup>3</sup>*

Low-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN I) lesions are almost always the result of human papillomavirus (HPV) infection. Spontaneous resolution of CIN I lesions is common, whereas persistent HPV infection is the risk of cervical cancer development. This study aimed to investigate the mRNA level of IFN-g, IL-10 and TNF- $\alpha$  in women with histology confirmed LSIL after cryosurgery and to determine the role of cryosurgery intervention in increased immune activation. At first visit, cervical cells and biopsies were collected from 100 women with LSIL within 3 months after histological diagnosis and detected for HPV DNA. The HPV positive cases were divided into cryosurgery (performed at second visit) and control groups. At third visit, cervical cells and biopsies were collected from both groups 6 months after cryosurgery, whereas only cervical cells were collected 12 months after cryosurgery. The HPV DNA was detected using PCR with GP5+/GP6+ primers and the mRNA level of IFN-g, IL-10 and TNF- $\alpha$  were determined in cervical tissues using real time PCR. The result showed that HPV DNA was found in 60 cases and the most common HPV was HPV16 (60%). Cryosurgery was performed in 29 cases within 4 weeks after the first visit and 31 cases were control group. At first visit, mRNA of IFN-g, IL-10 and TNF- $\alpha$  were expressed in 93%, 93% and 97% of 100 cases, respectively. The mRNA level of IFN-g, IL-10 and TNF- $\alpha$  were increased in both groups. However, cryosurgery did not differently activate mRNA expression from control when it was performed within 4 weeks after the first visit. Almost of HPV persistence detected 12 months after cryosurgery were found in cases with decreased mRNA level of IFN-g. These results suggested that, after

biopsy or cryosurgery, inflammatory cytokines, especially, IFN-g were increased and correlated to HPV clearance.

<sup>1</sup>Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand; <sup>2</sup>Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand; <sup>3</sup>Department of Obstetrics and Gynaecology, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand.

#### **P-149: ALTERATION OF PLASMA TH2-CHEMOKINES IN PATIENTS WITH RECURRENT RESPIRATORY PAPILLOMATOSIS (RRP) TREATED WITH CELECOXIB**

*David W. Rosenthal<sup>1,2,3</sup>, James A. DeVoti<sup>2,3</sup>, Bettie M. Steinberg<sup>2,4</sup>, Alan Abramson<sup>4</sup>, Vincent R. Bonagura<sup>2,3</sup>*

**Objectives:** RRP is characterized by recurrent benign tumors of the respiratory tract, caused by infection with human papillomavirus 6 and 11 (HPV). The immunologic mechanism(s) that govern disease variation remain unresolved, but we have previously shown an increased expression of TH2-like chemokines, (CCL17, CCL18, and CCL22). In a small pilot trial (n=4) we have shown clinical improvement in patient severity scores with administration of a COX2-inhibitor, celecoxib. We hypothesize that TH2-like chemokines play a critical role in the immune response of patients with RRP, and the pathogenesis of disease can be altered by COX2-inhibition.

**Methods:** Patients enrolled in a twelve month pilot trial of a COX2-inhibitor, celecoxib, were followed longitudinally during administration of celecoxib (n=3). Plasma samples were assayed by cytokine specific (CCL17, CCL18, CCL22) ELISA (DuoSet, R&D Systems) every 3 months during administration of celecoxib. Patients with RRP not enrolled in the pilot trial had multiple plasma samples assayed over a twelve month period as a control.

**Results:** CCL18 decreased in all three patients during celecoxib administration, while CCL17 and CCL22 did not change over twelve months. Patients not in the celecoxib pilot trial maintained similar chemokine expression levels in the plasma over 12 months.

**Conclusions:** These results support our previous studies that show RRP is a TH2-like disease, and suggests that the disease may be modified by alteration of the TH2-like chemokine CCL18. CCL18 has been shown to be altered by prostaglandin E2, the target for COX2 and CCL18 is produced by T-cells, dendritic cells, and alternately activated macrophages. This study examines the mechanism by which COX2 inhibition may alter the host's response to HPV.

<sup>1</sup>Elmazzi Graduate School of Molecular Medicine, North Shore-LIJ Health System, Manhasset, NY, USA; <sup>2</sup>Feinstein Institute for Medical Research, North Shore-LIJ Health System, Manhasset, NY, USA; <sup>3</sup>Division of Allergy/Immunology, North Shore-LIJ Health System, Great Neck, NY, USA; <sup>4</sup>Department of Otolaryngology, North Shore-LIJ Health System, New Hyde Park, NY, USA.

#### **P-150: SELECT MICRO-RNA'S (miRNA'S) ARE UPREGULATED IN HPV-6 AND -11 INDUCED RECURRENT RESPIRATORY PAPILLOMATOSIS (RRP)**

*James A. DeVoti<sup>1</sup>, David W. Rosenthal<sup>1,2,3</sup>, Jennifer Diaz<sup>3</sup>, Alan Abramson<sup>4</sup>, Bettie M. Steinberg<sup>1,4</sup>, Vincent R. Bonagura<sup>1,3</sup>*



**Background:** The transcriptional profile of papillomas is characterized by altered expression of immune response genes, and another group of genes that are frequently seen in cancers. Individual micro-RNAs (miRNAs) regulate a large number of target genes and more than one miRNA may regulate a specific gene, resulting in complex genetic regulation. To determine if miRNAs effect the altered transcriptome in RRP, we compared expression levels of a panel of 88 miRNAs from papilloma tissue, vs. unaffected, autologous laryngeal tissue. **Methods:** Papilloma tissue (n=12) and unaffected, autologous laryngeal tissue (n=12) were obtained after obtaining informed consent. In order to enrich miRNA, small RNAs were separated by size exclusion from total RNA (>5µg each sample) that had been extracted from pairs of tissues. The small RNA directed cDNA synthesis, and the cDNA was then screened for individual miRNA expression levels using a commercially available expression profiling assay (MAH-001; SABiosciences). **Results:** Four miRNAs were up-regulated, and 7 were down-regulated, utilizing a fold change greater than 4.0 in the data analysis. However only the upregulated miRNAs (miR-195, miR-21, miR-27a, and miR-26-b), which were from 5.7 to 8.5 fold increased, were also statistically significant (p= 0.009 to 0.001). **Conclusion:** We have identified 4 miRNAs that may contribute to the altered transcriptional profile present in actively growing papillomas from patients with RRP. All of these miRNAs have been reported to also be upregulated in a variety of cancers and also in non-malignant diseases. We are currently confirming these findings in a larger set of archived RNA. This report is the first demonstration of altered miRNA levels in RRP. Understanding the pathways that are impacted by these regulatory molecules may provide new insight into the disease process, and could potentially identify rationale targets for therapeutic intervention.

<sup>1</sup>Feinstein Institute for Medical Research, North Shore-LIJ Health Systems, Manhasset, NY, USA; <sup>2</sup>Elmezzi Graduate School for Molecular Medicine, North Shore-LIJ Health Systems, Manhasset, NY, USA; <sup>3</sup>Department of Pediatrics, Schneider Children's Hospital, New Hyde Park, NY, USA; <sup>4</sup>Department of Otolaryngology, Long Island Jewish Medical Center, New Hyde Park, NY, USA.

### **P-151: THE ALTERED HLA CLASS I AND HLA-G EXPRESSION IS ASSOCIATED WITH IL-10 EXPRESSION IN PATIENTS WITH CERVICAL CANCER**

*Josefa Antonia Rodríguez<sup>1</sup>, Constanza Gómez<sup>3</sup>, Martha Lucia Serrano<sup>1</sup>, María Mercedes Bravo<sup>1</sup>, Alba Lucia Còmbita<sup>1,2</sup>*

Although the infection with high risk HPV is an important risk factor in cervical cancer etiopathogenesis, there is increasing evidence suggesting that the ability to avoid immunosurveillance seems to be linked to transforming potential of HPV and to a rapid progression to cancer. A shift from a Th1 to Th2 cytokine profile and the subsequent expression of IL-10 has been associated with impairment of tumour immunosurveillance and progression of cervical cancer. In other cancer models, the IL-10 contribute to the impaired anti-tumour immune response by down-regulating HLA-I expression or by increasing HLA-G expression. To evaluate the contribution of these mechanisms in cervical cancer progression, we analyzed the association of HLA-I, HLA-G

and IL-10 expression by immunohistochemistry in tumour cells from 63 patients: nine with CIN III, ten with invasive cervical cancer stage IBI-II, 20 with IIA-B and 24 with IIIB-IVB. A down regulation of HLA-I expression was observed in 84,7% of patients. 39/59 (66.1%) displayed total loss of HLA-I expression, while 11/59 (18.6%) showed partial expression. HLA-G and IL-10 up regulation was observed in 16/58 (27,6%) and 27/58 (46,6%) of cases, respectively. Most of the HLA-G positive cases show concurrent up regulation of IL-10 cytokine 14/16 (87.5%) (Spearman's rho= 0.507, P=0.000). We found also a significant association between IL-10 expression and down regulation of HLA-I (P=0.028). Among patients that over expressed IL-10 cytokine, 13/27 (48,1%) had total loss of HLA-I expression, and 7/27 (25,9%) showed down regulation. Finally, we observed a higher HLA-G expression in patients with down regulation of HLA-I expression than those with normal HLA-I expression (X2 de Pearson, P=0.004). No significant association was observed between expression of these proteins and different stages of cancer. Our results suggest that, in cervical cancer, the IL-10 expression could correlate cooperatively with up regulation of HLA-G expression and down regulation of HLA-I expression.

<sup>1</sup>Grupo de Investigación en Biología del Cáncer, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá, Colombia; <sup>2</sup>Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia; <sup>3</sup>Departamento de Patología, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá, Colombia.

### **P-152: COMPARISON OF NORMALIZATION METHODS FOR MEASURING IMMUNE MARKERS IN CERVICAL SECRETION SPECIMENS**

*Morgan Marks<sup>1</sup>, Rafael Irizarry<sup>1</sup>, Yolanda Eby<sup>1</sup>, Philip E. Castle<sup>2</sup>, Justin Lessler<sup>1</sup>, Patti E. Gravitt<sup>1</sup>*

Ophthalmic sponges are used to collect undiluted cervical secretions for assessment of markers of genital tract immunity. Heterogeneity in absorbed and extracted sample volumes requires normalization in order to make valid inter-individual comparisons in marker levels. Issues with standard normalization procedures based on dilution factor calculation using sponge weight to estimate specimen volume prompted evaluation of alternative methods. We evaluated the validity of dilution factor adjustment across a range of secretion volumes as well as two alternative volume-independent methods for normalization. Sponges were collected from seventy eight (n=78) women enrolled in a study of the natural history of HPV in Perimenopause (HIP). Separately, we experimentally absorbed 5-200ul of PBS containing BSA onto sponges. Secretion volume was estimated by subtracting the weight of a representative dry sponge from a sponge after specimen collection. Total protein was extracted from each sponge in 300ul of PBS and quantified using a BCA assay. Cytokines measured using the Bio-Plex Human Cytokine 27-Plex Panel were normalized to 1) total protein; 2) dilution factor or 3) median cytokine concentration. The relationship of normalization factors and cytokine concentration pre- vs. post-normalization to specimen volume was assessed using Spearman rank correlation. Total protein and median cytokine concentration were positively correlated to specimen

volume. Dilution factor was poorly correlated to specimen volume due to inaccuracies in measuring specimen weight at low volumes resulting in over-inflated or negative values. Total protein and median cytokine normalized markers were significantly correlated to each other. Individual cytokines were less likely to be correlated to specimen volume after normalization by total protein or median cytokine methods compared to dilution factor. Dilution factors based on specimen volume suffer from loss of precision and validity at low specimen volume. We present alternative methods that minimize the effects of sampling heterogeneity on cytokine measurement. Further validation of these methods is ongoing.

<sup>1</sup>Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health, Baltimore, MD, USA; <sup>2</sup>US National Cancer Institute, NIH, DHHS, Bethesda, MD, USA.

### **P-153: SIMPLE AND CONVENIENT METHODS FOR PURIFYING PSEUDOVIRUS OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS TYPE 58**

*Hyung Jin Kim<sup>1</sup>, So Young Kim<sup>1</sup>, Hong-Jin Kim<sup>1</sup>,  
John T. Schiller<sup>2</sup>*

Pseudovirus (PsV) has been used for human papillomavirus (HPV) study because native HPV do not efficiently replicate in the cell culture system. The Optiprep density gradient (OG) has been used for purifying the HPV PsV. In spite of advantage that OG provides recovering PsV with high infectious titer, its disadvantages such as requiring high priced equipment, 4 hours of centrifugation time and technical difficulty limit applicability of HPV PsV system. In this study, we introduced heparin chromatography (HC) and cation-exchange chromatography (CC) to develop a convenient purification system for HPV58 PsV, and the purification efficiencies between OG, HC and CC were evaluated. To simplify the column work of HC and CC, the columns were packed with 0.1 ml of resins, and samples were equilibrated with adding binding buffer instead of dialysis. These methods shorten the time for column working into 20 min. In addition, highly purified PsVs were obtained by two chromatographic methods. Almost all contaminants were removed as a flow-through in binding condition of 0.33 M NaCl and pH 7.0. The recovery ratios of infectious PsV titer by OG, HC and CC were 60 - 89%, 30 - 56% and 7 - 15%, respectively. Therefore, OG and HC showed superior recovery ratios while CC showed low recovery ratio. In the neutralizing antibody titration using PsVs purified by the three kinds of methods, the titers of mouse serum immunized with HPV58 PsV showed similar levels. These results indicate that HPV58 PsVs purified by HC and CC are useful for study of HPV type 58. Our two purification methods provide a simple and convenient system in obtaining highly purified PsV. In addition, two methods have considerable potential for scale-up to purify large amount of PsV. It is expected that our two purification methods could be applied to purifying different types of HPV PsV.

<sup>1</sup>College of Pharmacy, Chung-Ang University, Seoul, Korea; <sup>2</sup>Laboratory of Cellular Oncology, National Cancer Institute, Bethesda, Maryland.

### **P-154: IDENTIFICATION OF SUITABLE ENDOGENOUS CONTROL MOLECULES FOR MICRORNA EXPRESSION ANALYSIS IN HUMAN CERVICAL TISSUES**

*Yuanming Shen<sup>1</sup>, Yang Li<sup>1</sup>, Xing Xie<sup>1</sup>*

Quantitative real-time RT-PCR (RT-qPCR), as a sensitive and reproducible quantization technique for detection of gene expression, is being used in microRNA (miRNA) expression research. Selection of optimal reference RNA targets for proper normalization is critical in miRNA RT-qPCR analysis, but it is still rather empirical. No optimal reference genes in miRNA RT-qPCR analysis have been identified in human cervical cancer up to date. In this study, we selected nine ubiquitous and stably expressed candidate reference RNA targets, including five (let-7a, miR-23a, miR-200c, miR-1979, and miR-26a) according to miRNA microarray analysis for 6 pairs of human normal and cancerous cervical tissues, and four (miR-103, miR-191, 5S rRNA, and U6 snRNA) used frequently in previous studies. All nine candidate genes were examined across 24 normal cervical tissues and 24 cervical carcinoma tissues to determine the most appropriate normalizer(s). The geNorm and NormFinder were employed for identifying the stability of gene expression and suitability for normalizers. Our results showed that all studied RNA targets reached a high expression stability with low M values (<1.5), five to nine Candidate miRNA normalizers [U6 snRNA (P = 0.39), 5S rRNA (P = 0.9), miR-23a (P = 0.5), miR-103 (P = 0.12), and miR-191 (P = 0.1)] were equivalently expressed between the normal and tumor groups, while the expressions of the other four Candidate miRNA normalizers (miR-1979, let7a, miR-200C, and miR-26a) were significantly increased in malignant samples (all P < 0.001). MiR-23a was identified as the most stable and reliable reference gene followed by miR-191 and miR-103. Our results suggested that miR-23a, miR-191 and miR-103 are the optimal reference miRNAs that can be used for normalization in gene profiling studies of cervical cancer; of them, miR-23a is a novel miRNA normalizer.

<sup>1</sup>Department of Gynecologic Oncology, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou, China.

### **P-155: THE FEASIBILITY OF PAPILOCHECK HPV TESTING ON STORED SUREPATH VIALS**

*Helle Pedersen<sup>1</sup>, Jalil Hariri<sup>1</sup>*

**Objectives:** The effect of storage on SurePath™ specimens as regard to DNA extraction is not clearly illustrated in the literature, although some companies recommend DNA extraction within a week of sample collection. The aim of this study is to test the effect of long time storage on DNA extraction from SurePath™ specimens. **Methods:** The study included an old group of 98 leftover SurePath™ vials stored at room temperature for 2-8 weeks, and a new group of 97 leftover SurePath™ vials from the daily routine. DNA extraction was performed manually on all specimens using the PapilloCheck™ DNA extraction kit, and the SensoQuest Labcycler™ for PCR. HPV genotyping was then made using PapilloCheck™ DNA-chip and CheckScanner. **Results:** ASCUS+ was reported in 62 and 65 cases of the old and new groups respectively. The remaining specimens were WNL. Of these 40 (65%) and 46 (71%) samples harboured HR-HPV. The incidence of HR-HPV in the normal cases was on the

other hand 7/36 (19%) and 15/32 (47%) in the old and the new groups respectively. The storage time of normal and ASCUS+ specimens in the old group was identical. The age range was comparable in normal and ASCUS+ cases in both groups. **Conclusions:** It seems that 2-8 week of storage has no negative effect on HR-HPV testing in ASCUS+ cases. The significant difference of HR-HPV incidence in the normal cases is hardly due to failure in DNA extraction, because otherwise it would also have affected the ASCUS+ cases. All of the normal 36 cases in the old group, and 11 of the 32 normal cases in the new group were reported by cytotechnologists. The remaining 21 normal cases of the new group were reported by pathologists, which may explain the significant difference.

<sup>1</sup>Department of Pathology, Sonderborg Hospital, Sonderborg, Denmark.

### **P-156: DNA EXTRACTION FROM RESIDUAL CELL-PELLET AND SUREPATH VIAL FOR PAPILOCHECK DNA-TESTING**

*Helle Pedersen<sup>1</sup>, Gitte Sondergaard<sup>1</sup>, Jalil Hariri<sup>1</sup>*

**Objectives:** The PapilloCheck™ DNA testing is not validated for SurePath™ residual cell-pellet. The objective of this study was to compare the DNA extraction from SurePath™ vial and the corresponding cell-pellet for PapilloCheck™ HPV DNA-testing. **Methods:** The study included 37 SurePath™ specimens reported as WNL and 62 specimens of ASCUS+. The DNA extraction from the cell-pellet as well as the vial from each case was performed manually using the PapilloCheck™ DNA extraction kit. The PCR was performed on SensoQuest Labcycler™. The PCR product was then hybridized to the PapilloCheck™ DNA-chip and scanned by CheckScanner™. **Results:** Three cases were HR-HPV positive in vials and negative in cell-pellet, while one was HR-HPV positive in cell-pellet and negative in vial. Another case was negative in vial and positive for LR-HPV in cell-pellet. HR-HPV was detected in 3 cases in the cell-pellet group, but the corresponding vials contained only LR-HPV. Otherwise there was full agreement regarding HR-HPV. One of the 3 missed cases of the cell-pellet group was reported as HSIL, and the other two were reported as WNL. All of these 3 cases harboured HR-HPV in the corresponding vials. One of the 2 missed cases in the vial group was WNL and harboured HR-HPV in the cell-pellet, while the other was reported ASCUS but harboured LR-HPV in the cell-pellet. HSIL was reported in 10 cases. One of these was HR-HPV negative in cell-pellet as well as the vial, and 1 was HR-HPV negative in cell-pellet only. When both methods were considered, no HR-HPV was missed. **Conclusion:** The study showed that the cell-pellet is feasible for DNA-testing by PapilloCheck™ and there was no significant difference between the vial and cell-pellet groups regarding HR-HPV detecting. It also seems that the combination of both methods can be used in equivocal cases.

<sup>1</sup>Department of Pathology, Sonderborg Hospital, Sonderborg, Denmark.

### **P-157: COMPARING PAPILOCHECK HPV-DNA TESTING AND IMMUNOCYTOCHEMISTRY ON SUREPATH SPECIMENS**

*DST - J bras Doenças Sex Transm 2010; 22(4): 233-267*

*Jalil Hariri<sup>1</sup>, Helle Pedersen<sup>1</sup>*

**Introduction:** The comparison of PapilloCheck™ HPV testing (PC-HPV) and immunocytochemistry (ICC) using HPV surrogate markers is to the best of our knowledge not sufficiently studied. The aim of this pilot study was to compare the reliability of PC-HPV and ICC to detect or predict HSIL. **Methods:** PC-HPV and ICC using p16, ProExCTM, and Ki67 were performed on 37 normal and 62 ASCUS+ SurePath™ specimens. DNA extraction for PC-HPV was performed on the residual cell-pellet as well as left over material in the vials. The ICC was processed on BenchMark® XT Ventana/Roche. The ICC was interpreted positive when at least 2 of the markers were positive. Histology was available in 30 of the ASCUS+ cases. **Results:** HSIL, LSIL, ASCUS, and ASC-H were found in 10 (16%), 14 (23%), 29 (47%) and 5 (8%) out of the 62 positive smears respectively. AIS and AGC were found in 1 and 2 cases respectively. HR-HPV was negative in 2 cases of the cell-pellet group; one of these was also negative in the vial group. Otherwise HR-HPV was detected in all of the HSIL cases in cytology as well as in histology. The ICC was negative in 2 histologically verified cases of HSIL. One of these was ASCUS in cytology while the other showed HSIL, which also was HR-HPV negative in the cell-pellet group. **Conclusion:** The sensitivity of PC-HPV using vials, PC-HPV using cell-pellets and ICC to detect or predict HSIL was 91%, 82%, and 82% respectively. All 3 methods were thus comparable, although the sensitivity of PC-HPV using vials was slightly superior, but not significantly better. When all methods were used the sensitivity to detect HSIL was raised to 100%, but more efforts are needed to clarify this issue.

<sup>1</sup>Department of Pathology, Sonderborg Hospital, Sonderborg, Denmark.

### **P-158: VALIDATION OF L-SHAPE ENDO/ESOCERVICAL FLOCKED SWAB AND CYMOL TRANSPORT MEDIUM WITH NUCLISENS EASYQ® HPV v1.1 ASSAY**

*Damien Jeantet<sup>1</sup>, Maria Bonhomme<sup>1</sup>, Faustine Meynier<sup>1</sup>, Arnalda Giambra<sup>2</sup>, Alice Squassina<sup>2</sup>, Ernestina Valagussa<sup>3</sup>, Paolo Libretti<sup>3</sup>, Maria Peroni<sup>4</sup>, Giuseppe Ciravolo<sup>4</sup>, Santina Castriciano<sup>2</sup>*

**Objectives:** NucliSENS sEasyQ® HPV v1.1 (bioMérieux) is a qualitative nucleic acid assay for the detection of E6/E7 HPV oncogene mRNA (HPV16, 18, 31, 33 and 45). The L-shape endo/esocervical flocked swab (LEC) is a device for Pap collection and CyMol is a cell and nucleic acid preservation medium (Copan Italia).

Study objectives were:

1) validate the performance of LEC and CyMol medium compared to the Cervex brush (CB) (Rovers) and PreservCyt solution (Hologic) for collection and preservation of specimens for HPV detection with the NucliSENS EasyQ® HPV 1.1 assay.

2) Evaluate stability of specimens in CyMol medium after 3 weeks at room temperature (RT) and 6 weeks at -20°C.

**Methods:** Six hundred clinical specimens were collected from voluntary women during a routine visit for Pap testing at 5 Fleming Lab sites in Brescia. Two clinical specimens (300 with CB in PreservCyt and 300 with LEC in CyMol) were collected from each patient in a

randomized order and classified for PAP cytology status. Aliquots of all positive specimens in CyMol medium and the same number of negative specimens were used for 3 weeks RT and 6 weeks -20°C stability study. All specimens were extracted and tested with the NucliSENS® easyMAG® and EasyQ® HPV v1.1 assay. **Results:** The results of the comparison study show a concordance of 100% between the specimens collected in CyMol and specimens collected in PreservCyt (Table 1). The invalid rates are comparable in the two transport media. Stability of specimens in CyMol stored at RT was demonstrated up to 3 weeks. The stability study after 6 weeks at -20°C is still in progress. **Conclusions:** No statistical difference was found between the specimens collected with cervix brush in PreservCyt solution and specimens collected with L-shape endo/esocervical flocked swab in CyMol medium when tested with NucliSENS EasyQ® HPV v1.1.

Table n°1: Concordance of the NucliSENS EasyQ® HPV v1.1 assay for the two media

		PreservCyt		
		Positive	Negative	Total
CyMol	Positive	26	0	26
	Negative	0	269	269
	Total	26	269	295

<sup>1</sup>Biomérieux, Grenoble, France; <sup>2</sup>Copan Italia Spa, Brescia, Italy; <sup>3</sup>Department of Cytology, Fleming Lab, Brescia, Italy; <sup>4</sup>Department of Gynecology, Brescia University, Brescia, Italy.

### P-159: IDENTIFICATION OF SUITABLE ENDOGENOUS CONTROL GENES FOR MICRORNA GENE EXPRESSION ANALYSIS IN HUMAN CERVICAL TISSUES

*Shen Yuanming<sup>1</sup>, Li Yang<sup>1</sup>*

Quantitative real-time RT-PCR (RT-qPCR) is a sensitive and reproducible gene expression quantization technique which is now being used in microRNA (miRNA) expression research. As with mRNA analysis, selection of optimal reference RNA targets for proper normalization is a critical aspect of miRNA RT-qPCR data analysis. Unfortunately, the selection of reference RNA targets to normalize miRNA levels is still rather empirical and no suitable reference genes have been identified in human cervical cancer to date. In this study, first we filter five ubiquitous and stably expressed candidate reference RNA targets (let-7a, miR-23a, miR-200c, miR-1979, miR-26a) in 6 pairs of normal and malignant human cervical tissues using miRNA microarray. Then the expression of these five miRNA genes and miR-103, miR-191 as well as two small nucleolar RNA genes (5S rRNA and U6 snRNA) that were already used in various studies, were examined across 24 normal cervical tissues and 24 cervical carcinoma tissues to determine the most appropriate normalizers. The expression stability and suitability of the 9 candidate reference RNA targets were validated employing geNorm and NormFinder. MiRNA23a and miRNA191 were demonstrated as the most stable reference genes and thus could be used as reference genes for normalization in gene profiling studies of cervical cancer, while the combination of two miRNAs (miRNA23a and miRNA191) should be recommended as a much more reliable normalization strategy. This is the first study

to identify reliable for analysis of miRNA by RQ-PCR in human cervical tissue.

<sup>1</sup>Women's Reproductive Health Laboratory of Zhejiang Province, Women's Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou, China.

### P-161: CONFIRMATION OF HC2 POSITIVE/CYTOLOGY NORMAL WOMEN BY PAPILOCHECK AND ROCHE LINE BLOT ASSAY

*Andrew Bailey<sup>1</sup>, Alexandra Sargent<sup>1</sup>, Joanna Nagorko<sup>1</sup>, Claire Gilham<sup>3</sup>, Henry Kitchener on behalf of the ARTISTIC Trial Study Group<sup>2</sup>*

**Introduction:** With the possible addition of high risk HPV (HR HPV) testing to cervical cancer screening programmes women who present with normal cytology but who are found to be HR HPV positive pose a particular dilemma. Confirmation of the presence of HR HPV in such samples could help in the clinical management of these women. **Objectives:** To confirm the presence of high risk HPV (HR HPV) genotypes in cervical samples taken from cytology normal women who were found to be HR HPV positive using the Qiagen Hybrid Capture 2 (HC2) assay. **Methods:** Stored archival samples of cervical cells obtained from approximately 2,500 women enrolled into the ARTISTIC trial are being examined during the course of this study. All women had normal cytology but were found to contain a HR HPV type by Qiagen HC2. Nucleic acid was extracted using either the Roche MagNAPure or the Biomérieux automated extraction systems. An aliquot of DNA was then amplified and genotyped using both the Roche Prototype Line Blot (LBA) and the Greiner-Bio-One HPV genotyping assays. **Results:** Initial results obtained from testing 1281 HC2 positive/cytology normal samples showed that 57% contained a HR HPV genotype by Papillocheck compared to 63.8% which contained a HR HPV genotype when using LBA. The ability of either assay to confirm the presence of HR HPV genotypes was highly dependent on the RLU/cut off value of the HC2 assay. **Conclusions:** The Roche prototype Line Blot assay appeared slightly more sensitive for the confirmation of HR HPV infections. These results indicate that approximately a third of women with normal cytology but who were found to be positive by HC2 positive do not have a HR HPV infection and, thus, could be managed more conservatively.

<sup>1</sup>Clinical Virology, Central Manchester University Hospitals NHS Foundation Trust, Manchester, UK; <sup>2</sup>University Department of Obstetrics & Gynaecology, Manchester, UK; <sup>3</sup>Institute of Cancer Research, London, UK.

### P-165: MAPPING VIRUS INTEGRATION SITES IN HPV16+ ORAL CANCERS BY REAL TIME PCR

*William Seaman<sup>1</sup>, Marion Couch<sup>1</sup>, Jennifer Webster-Cyriaque<sup>1</sup>*

Integration of the oncogenic HPV genome into the host chromosome is a critical event in tumor initiation. Breakpoints in the viral genome occur in the E2 gene, resulting in disruption of E2 expression and dysregulation of the E6/ E7 viral oncogenes. Early detection of integration related E2 disruption is paramount in the treatment/management of oncogenic HPV-related lesions. We have

developed a single tube multiplex assay capable of simultaneously detecting the HPV16 L1 gene as well as 3 different regions along the entire length of E2. This assay was used to determine the E2/L1 ratio in CaSki and SiHA cells. For CaSki DNA the E2:L1 copy number ratio for each E2 primer pair/probe was approximately one indicating that there is no detectable E2 disruption in these cells. Furthermore, our assay was capable of identifying the previously reported 3' E2 breakpoint in SiHA cells. We screened 65 oral cancers for the presence of HPV16 using qPCR and identified 10 oral cancers that were HPV16+. In one of these cancers, E2:L1 ratios of 1 were obtained using primer pair/probe combinations corresponding to the 5' end of E2 but no 3' E2 signal could be detected indicating that the E2 breakpoint occurred in the 3' end of the E2 gene and suggesting that there was complete integration of HPV16 genome. A low E2:L1 ratio (<0.75) was detected in 4 other oral cancer DNA samples suggesting that in these cancers there was a mixture of episomal and integrated HPV16 genomes. High E2/L1 ratios (>0.75) were detected in the other 5 cancers suggesting that high levels of HPV16 episomes were present possibly masking detection of integration events. This novel assay should allow for the detection and mapping of E2 disruption and allow for rapid screening of clinical samples for HPV16 integration events.

<sup>1</sup>Lineberger Comprehensive Cancer Center, University of North Carolina at Chapel Hill, NC, USA.

### P-167: APTIMA HPV ASSAY - CLINICAL PERFORMANCE

*Luis Martins<sup>1</sup>, Daniela Cochicho<sup>1</sup>, Mario Cunha<sup>1</sup>, Carmo Ornelas<sup>1</sup>*

The detection of HPV DNA in cervical specimens is usually made by PCR in the L1 region of the virus. The existing tests detect the presence of HPV, which is present in both transient infections, that resolve spontaneously, and in persistent infections. APTIMA HPV Assay (AHPV) detects E6/E7 mRNA of high-risk HPV types (14), using Transcription Mediated Amplification (TMA) technology. Detection of HPV mRNA may be more specific for detection of persistent infection which is more likely to progress to cervical dysplasia and cervical cancer. **Aim:** Evaluation of the AHPV sensitivity and specificity, considering the endpoint for disease the detection of  $\geq$ CIN1 and  $\geq$ CIN2+. **Materials and Methods:** To evaluate the clinical performance of AHPV assay, a total of 179 smear specimens - 15 negative, 25 ASCUS, 51 CIN1, 59 CIN2+ and 29 carcinomas - were analyzed by AHPV. **Results:** The % of positive samples for ASCUS, CIN1, CIN2+ and Carcinoma were 50%, 67%, 91% and 96%, respectively. Considering the  $\geq$ CIN2+ as the endpoint of disease, AHPV showed a clinical sensitivity and specificity of 84% and 51%. If we lower the endpoint of disease to  $\geq$ CIN1, the sensitivity increases to 89.9% and the specificity lowers to 45.9%. These results are very similar to those published: 90.8% vs 84% and 56.2% vs 51%. The Positive and Negative Predictive Value (PPV and NPV) of AHPV is 62.7% and 77.01%, respectively, for  $\geq$ CIN2+. If we consider the endpoint of disease as  $\geq$ CIN1, the PPN becomes 76.3% and the NPV 70%. The PPV determined has higher value than those published (32.3%) and the NPV has a lower value. **Conclusions:** This assay has a good clinical sensitivity and higher

clinical specificity relative to the majority of the DNA tests. It's also a good marker of the viral activity of E6/E7 oncogenes, that can be associated with the progression to disease.

<sup>1</sup>Portuguese Institute of Oncology of Lisbon, Clinical Pathology, Laboratory Virology, Lisbon, Portugal.

### P-168: CLINICAL PERFORMANCE OF ABBOTT REAL TIME HIGH RISK HPV, APTIMA HPV AND PAPILOCHECK FOR DETECTION OF $\geq$ CIN2+ LESIONS

*Luis Martins<sup>1</sup>, Daniela Cochicho<sup>1</sup>, Mario Cunha<sup>1</sup>, Carmo Ornelas<sup>1</sup>*

**Background:** Published studies indicate that HPV DNA testing for cervical intraepithelial neoplasia of grade 2 or 3 has a sensitivity of 94.6%, versus the 55.4% for the Pap testing. Regarding the specificity, the HPV DNA tests and Pap testing have, respectively, 94.1% and 96.8%. Generally, HPV DNA test have good sensitivity but poor specificity. Detection of HPV mRNA may improve specificity. Abbott Real Time High Risk HPV can detect 14 high risk HPV types, genotyping both HPV16 and HPV18; APTIMA HPV assay detects the oncogene E6/E7 viral activity from the same 14 high risk types and Papillocheck can detect 14+4 high risk types and 6 low risk types. **Objectives:** To evaluate clinical Specificity, Sensitivity, Positive Predictive Value (PPV) and Negative Predictive Value (NPV) for  $\geq$ CIN2+ of the Abbott RealTime High Risk HPV (AbHPV), APTIMA HPV (AHPV) and Papillocheck (PC). **Methods:** To evaluate clinical performance of AHPV, AbHPV and PC assays for the detection of CIN2+ lesions a total of 94 smears specimens - 12 negative, 24 ASCUS, 21 CIN1, 20 CIN2+ and 17 carcinomas - were analyzed by these tests. **Results:** Overall agreement of AHPV, AbHPV and PC was 91.5% (86/94). Considering the endpoint as CIN2+, clinical sensitivity and specificity of AHPV was 97.2% and 50.9%, for AbHPV was 94.6% and 52.6% and for PC assay was 97.3% and 33.8%. All assays have high NPVs: 96.7%, 93.8% and 96%, respectively. The PC assay has a lower PPV than AHPV and AbHPV. **Conclusions:** The clinical sensitivity for CIN2+ lesions is similar for all the tests (94.6-97.3%). Relatively to specificity, the AbHPV and AHPV have similar values and PC has the lower value. These values are in agreement by those published by other authors. All tests have a high sensitivity for detection CIN2+ lesions and can be used to redefine the screening protocols for cervical cancer.

<sup>1</sup>Portuguese Institute of Oncology of Lisbon, Clinical Pathology, Laboratory Virology, Lisbon, Portugal.

### P-169: NOVEL REAL TIME GENOTYPING ASSAY FOR HPV 16 E6-350G VARIANT DETECTION

*Sonia Perez<sup>1</sup>, Agar Araujo<sup>1</sup>, Ana Cid<sup>2</sup>, Maria José Lamas<sup>3</sup>, Jonathan Fernández<sup>1</sup>, Pura Garra<sup>1</sup>, Isabel López-Miragaya<sup>1</sup>, Julio Torres<sup>1</sup>, Santiago Melón<sup>4</sup>*

**Background:** it has been suggested that some Human papillomavirus (HPV) 16 E6 variants (for instance T350G) could be involved in viral persistence and progression of HPV infection. Detection of

these variants by DNA sequencing is expensive and time consuming.

**Objective:** To evaluate a novel RT-PCR (Real Time PCR) assay for detection of HPV 16 350G Variant.

**Materials and Methods:** For identification of HPV 16 sequence variation, 761bp from the LCR-E6 region (Nt 7701-591) were amplified (Expand HiFi, Roche) as previously described (Xi LF, 2006), sequenced with the same primers (BigDye 1.1. Abi Prism 3100-Avant), and compared with NCBI database. For the T350G discrimination assay two different labeled probes were used: wild strain was detected in the VIC-filter and mutant strain in the FAM-filter (GTXpress Master Mix. 7500 Fast. Applied Biosystems). Primers and Taqman-MGB probes were designed targeting the conserved region between the different HPV 16 subtypes. Analytical performance was analyzed testing of 10-fold serial dilutions of the HPV 16 WHO International Standard (NIBSC 06/202) and DNA of HPV 16 LCR-E6 region from a wild strain, a 350G mutant strain, and mixes of both (350K). Clinical sensitivity and specificity were calculated by performing both RT-PCR and LCR-E6 sequencing in 121 endocervical samples positive for HPV16 in routine screening.

**Results:** For the T350G discrimination RT-PCR assay, the cut-off value was approx  $5.0 \times 10^3$  vp/ml for T350T, for T350G and for T350G detection in mixtures containing 20% of this mutant. The results of both RT-PCR and DNA sequencing were, respectively: 65/65 350G variant, 4/4 350K variant, 52/52 350T. In comparison with DNA sequencing, the novel assay sensitivity and specificity were 100% for the 350G Variant detection.

**Conclusion:** This novel real time genotyping assay is a rapid, sensitive and specific method for detection of HPV 16 E6-350G Variant.

<sup>1</sup>Microbiology Unit, Complejo Hospitalario Universitario de Vigo, Vigo, Spain;

<sup>2</sup>Microbiology Unit, Complejo Hospitalario de Ourense, Ourense, Spain;

<sup>3</sup>Gynecology Unit, Complejo Hospitalario Universitario de Vigo, Vigo, Spain;

<sup>4</sup>Microbiology Unit, Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo, Spain.

### P-170: LACK OF TYPE-SPECIFIC CONCORDANCE OF ROCHE LINEAR ARRAY® AND INNOGENETICS INNO LiPa® PERFORMED ON DIFFERENT DNA EXTRACTS

*Maria Gabriella Donà<sup>1</sup>, Maria Benevolo<sup>3</sup>, Fulvia Pimpinelli<sup>2</sup>, Mara Battista<sup>2</sup>, Livia Ronchetti<sup>3</sup>, Francesca Stivali<sup>2</sup>, Antonella Moscarelli<sup>2</sup>, Massimo Giuliani<sup>1</sup>, Aldo Di Carlo<sup>4</sup>, Amina Vocaturo<sup>3</sup>*

**Background:** A plethora of manual and automated DNA extraction systems are used for the specimen preparation prior to HPV testing, not always in compliance with the guidelines of kit manufacturers.

**Objectives:** To investigate the influence of different DNA extraction methods on HPV typing by Linear Array® (LA, Roche) and InnoLiPa® (IL, Innogenetics).

**Methods:** Twenty samples, which tested positive by LA using the Roche-recommended AmpliLute® extraction, were selected. Two other methods were used for DNA extraction from the original PreservCyt® cervical samples: the QiAmp® Blood mini kit (Qiagen) and the NucliSens EasyMAG® automated system (bioMérieux). LA and IL were performed in parallel on the three different extracts.

**Results:** Type-specific concordance (i.e. same HPV types found in

all the three extracts) was observed in 11/20 samples (55%) for LA and 15/20 (75%) for IL. When comparing the results obtained on the DNA extracted with the two manual methods, 5/20 (25%) and 4/20 (20%) cases were not concordant by LA and IL, respectively. When comparing LA results obtained on any of the manual extracts with those obtained after automated extraction, 7/20 samples (35%) did not show type-specific concordance in both cases. IL results were non concordant in 4/20 cases (20%) when comparing the AmpliLute® vs. the automated DNA extraction, while non concordant results were observed in 3/20 cases (15%) when comparing the Qiagen vs. the automated extraction. Lack of type-specific reproducibility in LA concerned 9 HPV types (2 LR and 7 possible HR or HR), mostly with medium/high inclusivity level (i.e. types the LA detects at higher concentration level).

**Conclusions:** HPV genotyping test performance is significantly affected by the DNA extraction method, although at lesser extent for IL. Use of consistent protocols for sample preparation is a priority to guarantee intra-assay and intra-laboratory reproducibility over time, particularly when monitoring transient vs. persistent HPV infections.

<sup>1</sup>UOC Dermatologia Infettiva, San Gallicano Dermatological Institute (IRCCS), Rome, Italy; <sup>2</sup>Laboratorio di Patologia Clinica, San Gallicano Dermatological Institute (IRCCS), Rome, Italy; <sup>3</sup>Pathology Department, Regina Elena Cancer Institute (IRCCS), Rome, Italy; <sup>4</sup>Scientific Director, San Gallicano Dermatological Institute (IRCCS), Rome, Italy.

### P-171: UNIVERSAL HPV GENOTYPING OF GP5+/6+/-, AMPLICOR- AND PGMY-AMPLIMERS BY DIGENE RH AND LQ TESTS

*D.T. Geraets<sup>1</sup>, L.J. van Doorn<sup>1</sup>, W.G.V. Quint<sup>1</sup>, W.J.G. Melchers<sup>2</sup>*

**Background:** The Amplicor HPV test (Amplicor, Roche) permits the simultaneous detection of 13 HR-HPV types in a single reaction. However, to identify the specific HPV genotype, a separate PGMY-based amplification is required to perform the Linear Array HPV Genotyping Test (LA, Roche).

**Objectives:** The goal of the current study was to test whether the novel digene HPV Genotyping RH (reverse hybridization-based) and LQ Tests (xMAP-based) (QIAGEN, GP5+/6+ PCR-based identification of 18 classified HR-HPV genotypes) allow direct genotyping of Amplicor- and PGMY-based amplimers.

**Methods:** HPV-positive cervical scrapes for the current study were pre-selected based on genotyping results by a different method. A selection of these HPV-positive cervical samples was amplified and analyzed by Amplicor (n=258), while another panel of cervical specimens was PGMY-amplified and genotyped by LA (n=66). Both Amplicor- and PGMY-amplimers were additionally genotyped by the digene RH Test and LQ Tests.

**Results:** Amplicor-amplimers (n=258): 193/258 samples were Amplicor-positive, and these amplimers could be directly genotyped for 13 HR types by RH Test (183/193) and LQ Test (189/193). 65/258 samples remained Amplicor-negative, but contained one of 13 HR-HPV genotypes in 6/65 by RH Test and in 8/65 by the LQ Test. In addition, genotyping revealed untargeted types (HPV66 and 82) that were amplified but undetected by Amplicor.



PGMY-amplimers (n=66): Of 66 samples genotyped for presence of 18 HR types, 26 were positive by LA, 25 by RH Test, and 26 by LQ Test. RH and LQ Test demonstrated good agreement with LA for HPV genotyping.

**Conclusions:** The digene HPV Genotyping RH and LQ Tests can be directly applied on amplimers generated by the GP5+/6+, Amplicor, and PGM systems. The use of a universal genotyping test could contribute to standardization of HPV testing for clinical practice.

<sup>1</sup>DDL Diagnostic Laboratory, Voorburg, The Netherlands; <sup>2</sup>Department of Medical Microbiology, Radboud University Nijmegen Medical Center, Nijmegen, The Netherlands.

### P-173: ANALYTICAL VALIDATION OF THE DIGENE HPV GENOTYPING RH AND LQ TESTS

*D.T. Geraets<sup>1</sup>, D.A.M. Heideman<sup>2</sup>, M. Frank<sup>3</sup>,  
M.N.C. de Koning<sup>1</sup>, P.J.F. Snijders<sup>2</sup>, C.J.L.M. Meijer<sup>2</sup>,  
L.J. van Doorn<sup>1</sup>, W.G.V. Quint<sup>1</sup>*

**Background:** The GP5+/6+-based digene HPV Genotyping RH and LQ Tests were recently introduced for identification of 18 HPV genotypes and 2 subtypes (i.e., HPV16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68 (68a), 73, 82MM4 (82IS39)) in HC2-positive samples. Analytical validation data are presented here.

**Methods:** Assays were validated according to ICH guidelines for, among others, analytical sensitivity, analytical specificity, reproducibility, accuracy and robustness.

**Results:** Analytical sensitivity Formal Limit of Detection (LOD) for HPV16, 18, and 45 ranged between 4 and 23 copies/PCR. Analytical sensitivities for the remaining 15 types varied between 1 and 100,000 copies/PCR.

**Analytical specificity:** The assays did not cross-react with non-targeted types. In addition, no other pathogens commonly found in the female anogenital tract were reactive.

**Reproducibility:** Plasmids representing all targeted HPV types and 92 clinical samples were assayed in replicates on different days by different technicians with different kit lots. The results showed 100% identical genotypes in the plasmid panel and more than 95% reproducibility for clinical samples.

**Accuracy:** One hundred and eight clinical samples were tested in parallel by digene RH and LQ Tests and the homebrew GP5+/6+-PCR RLB system. Initial agreement was 91% and 93% with the RH and LQ Test, respectively. After discordant resolution the agreement was 98% for both assays.

**Robustness:** The assay results remained unaffected by deliberate variations in relevant method parameters, such as increased or decreased PCR temperature conditions, hybridization temperatures, and incubation times.

**Interfering substances:** The presence of blood and other potentially interfering substances had no effect on the assays.

**Conclusions:** The digene RH and LQ Tests show good analytical performance characteristics. Performance evaluation on clinical samples is ongoing. However, it is important to realize that assay efficacy is determined by the entire diagnostic algorithm comprising DNA isolation, PCR and amplicon analysis.

<sup>1</sup>DDL Diagnostic Laboratory, Voorburg, The Netherlands; <sup>2</sup>Department of Pathology, VU University Medical Center, Amsterdam, The Netherlands; <sup>3</sup>QIAGEN Hamburg GmbH, Research & Development, Hamburg, Germany.

### P-174: EVALUATION OF TEST PERFORMANCE CHARACTERISTICS AND OPERATIONAL PARAMETERS OF 5 HPV GENOTYPING ASSAYS

*Anuradha Rebbapragada<sup>1,2</sup>, Stephen Perusini<sup>1</sup>, Alessandro Di Prima<sup>1</sup>, Kumar Ramakrishna<sup>3</sup>, Irving Salit<sup>4</sup>, Vanessa Goleski<sup>5</sup>,  
Sam Ratnam<sup>6</sup>, Alberto Severini<sup>5,7</sup>*

**Background:** Identification of HPV types is required for epidemiologic measurements of vaccine efficacy and type-specific risk for cervical cancer. In order to identify the most suitable genotyping platform for population studies, we evaluated 5 genotyping platforms against a panel of 355 liquid based cytological (LBC) samples.

**Methods:** The testing panel of 355 samples consisted of N=171 cervical LBC from women who were referred to colposcopy for follow up and N=184 intra-anal LBC from HIV-positive men with clinical history of abnormal anal pathology. Nucleic acid was extracted from LBC by the AmpLilute kit (Roche), amplified as per individual assay protocol and detected with the Roche Linear Array (LA), INFINITI HPV 26-plex (INF), Seeplex HPV18 ASE (SG), Qiagen 16-plex (QIA), and an in-house Luminex (LU) assay. LA detection of HPV52 was confirmed by PCR.

**Results:** In order to overcome the lack of a "gold standard" when assessing test performance, we defined a HPV consensus result when 3 tests detected the same HPV type. Since only the 13 HR HPV types are commonly represented in all 5 tests, detailed comparative analysis was focused on HR HPV. The analytical sensitivity/specificity for HR HPV detection ranged from 10% to 100% for individual HPV types. Pair-wise test comparisons revealed that concordance varied by HPV type and kappa values ranged from 0.052 to 0.862 (poor to excellent). The tests also varied in their ability to detect co-infection with multiple HPV types. Infection with >3 HPV types was detected in 31.9%, 26.5% and 31.5% of samples by the LU, SG and LA assays and in 11% by the INF and QIA assays. Cost, throughput and labour varied between assays. **Conclusions:** HPV genotyping assays vary in test performance and operational parameters. Our data will inform the decision framework for the laboratory component of HPV surveillance and vaccine evaluation.

<sup>1</sup>Ontario Agency for Health Protection and Promotion, Toronto, ON, Canada; <sup>2</sup>Department of Laboratory Medicine and Pathobiology, University of Toronto, Toronto, ON, Canada; <sup>3</sup>Department of BioStatistics, Dalla Lana School of Public Health, University of Toronto, Toronto, ON, Canada; <sup>4</sup>HIV Immunodeficiency Clinic, Toronto General Hospital, University Health Network, Toronto, ON, Canada; <sup>5</sup>National Microbiology Laboratory, Public Health Agency of Canada, Winnipeg, MB, Canada; <sup>6</sup>Newfoundland Public Health Laboratory, St. John's, NL, Canada; <sup>7</sup>Department of Medical Microbiology, University of Manitoba, Winnipeg, MB, Canada.

### P-175: REPRODUCIBILITY OF EARLY MORNING ORAL RINSE SELF SAMPLING FOR DETECTION OF ORAL HPV

*Mahnaz Fatahzadeh<sup>1</sup>, Nicolas F. Schlecht<sup>2</sup>, Janae Ostolozza<sup>3</sup>,  
Anne Dunne<sup>3</sup>, Dannielle Botallico<sup>3</sup>, Sharod McKinney<sup>3</sup>,  
Robert D. Burk<sup>3</sup>*

**Background:** Oral HPV has been implicated in the etiology of malignant oral disease. However, reported rates of oral HPV vary by methodologies to collect specimens and the



sensitivity of assays used. We hypothesized that a specimen obtained upon arising in the morning would provide more exfoliated cells and a better substrate for HPV DNA detection. **Methods:** We selected an HIV positive population attending an inner city oral health clinic with high expected prevalence of oral HPV infection. Oral rinse specimens were obtained from 52 consenting adults at two time points within the same day: samples were collected upon arising in the morning and approximately 8 hours later in clinic and tested for HPV DNA by MY09/11 and FAP PCR. Kappa statistics were used to assess agreement between paired samples. **Results:** The detection rate of HPV DNA in oral rinse samples ranged from 53.8% for samples collected in the afternoon to 59.6% for morning samples. Sixteen (30.8%) individuals tested positive for high-risk HPV and 34 (65.4%) for low-risk types. There was good agreement in detection of HPV DNA between morning and afternoon samples ( $\kappa=0.57$ , 95%CI: 0.35-0.79). This increased when restricting for high-risk types detected in either morning (28.9%) or afternoon (23.1%,  $\kappa=0.75$ , 95%CI: 0.55-0.96). Distribution in number of concurrent types was also similar for morning and afternoon samples; 17 (54.8%) and 11 (39.3%) samples, respectively were positive for a single type, whereas 11 (35.5%) and 12 (42.9%) had multiple HPV. **Conclusion:** Although HPV was detected more often in early morning oral rinse samples, detection rates on the same day (at home and in clinic) were similar. Self collected oral rinse sampling may provide a potential method for monitoring oral HPV infection.

<sup>1</sup>Department of Diagnostic Sciences, New Jersey Dental School, UMDNJ, Newark, NJ, USA; <sup>2</sup>Department of Epidemiology & Population Health, Albert Einstein College of Medicine, Bronx, NY, USA ; <sup>3</sup>Department of Pediatrics, Albert Einstein College of Medicine, Bronx, NY, USA .

#### **P-176: EVALUATION OF DRY AND WET TRANSPORTED CERVICAL EXFOLIATED SAMPLES FOR DETECTION OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS INFECTION**

*Qinghua Feng<sup>1</sup>, Viorica Popov<sup>1</sup>, Steve Cherne<sup>1</sup>, Rachel Winer<sup>4</sup>, Hector Zambrano<sup>2</sup>, Carlos Yerovi<sup>3</sup>, Stephen Hawes<sup>4</sup>, Laura Koutsky<sup>4</sup>, Nancy Kiviat<sup>1</sup>*

We determined the feasibility of HPV detection in cervical exfoliated cells collected as dry swab samples. Both dry cervical swab and STM cervical swab samples were collected from 135 patients attending either colposcopy or women's clinics in Guayaquil, Ecuador, who had a cytology diagnosis within 6 months. HPV was detected by dot blot hybridization and genotyped by the liquid bead microarray (LBMA) assay. Overall, 23.1% of dry samples were positive for any high-risk HPV types, and 24.6% of STM samples were positive for any high-risk HPV types. Of 125 paired samples, the type-specific high-risk HPV proportion positive agreement was 60.7% ( $\kappa$  0.69, 95% CI: 0.53-0.82). We found that dry samples were more likely to be insufficient for HPV testing than STM samples. Consistent with this observation, we showed that genomic DNA quantitated by  $\beta$ -actin gene was almost 20 times lower in dry samples than in STM samples when detected by

the real time Taqman assay, while HPV DNA viral loads in dry samples were only 1.6 times lower than in matched STM samples. We concluded that cervical exfoliated cells could be collected as dry swab samples for HPV detection.

<sup>1</sup>Department of Pathology, School of Medicine, University of Washington, Seattle, WA, USA; <sup>2</sup>Department of Dermatology, School of Medicine, Yale University, New Haven, CT, USA; <sup>3</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Catholic University of Santiago de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador; <sup>4</sup>Department of Epidemiology, School of Public Health, University of Washington, Seattle, WA, USA.

#### **P-177: ENRICHMENT OF HPV-INTEGRATED gDNA FROM FFPE TISSUE FOR NEXT-GENERATION SEQUENCING**

*Matthew A. Titmus<sup>1</sup>, Eli Hatchwell<sup>1</sup>, Kenneth R. Shroyer<sup>1</sup>*

Integration of the human papillomavirus episome into the host cellular genome is a key step in the progression from HPV infection to oncogenesis. In HPV-induced cancers this event has been correlated with constitutive expression of the HPV E6 and E7 oncoproteins. These oncoproteins negatively interfere with host p53 and pRb, respectively, resulting in an accelerated cell cycle and increased host genomic instability. It is widely assumed that this E6/E7 over-expression is due in the majority of cases to the simultaneous disruption of the E2 ORF, whose product acts to restrict E6/E7 expression in intact HPV. The process of integration occurs in an undirected fashion and doesn't appear to follow any consistent pattern with regard to integration sites in either the host or viral DNA. This fact, and the observation that integrated HPV DNA appears to have an increased rate of mutation, limits the usefulness of PCR-based approaches for analysis of integration events. As a result, what little is currently known about HPV integration has been stitched together from a variety of studies employing a variety of experimental approaches which, by necessity, have generally been both low-resolution and reliant on a small number of samples. The development of high-throughput sequencing has provided us with the means to overcome these long-standing limitations by not only making it possible to simultaneously produce thousands or millions of sequences, but to do so without a detailed knowledge of the target's flanking regions. To take advantage of this technology, our lab has developed a hybridization-based method to enriching genomic DNA recovered from archival formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissues for HPV-integrated sequences to a degree suitable for massively parallel sequencing. Using this approach, it is possible to sequence the regions surrounding the host:virus interfaces of a large number of HPV-integrated samples simultaneously.

<sup>1</sup>Department of Pathology, Stony Brook University, Stony Brook, NY, USA.

#### **P-179: PREVALENCE OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS TYPES AND VIRAL LOAD - PAP TEST CORRELATION IN ROMANIA**

*Ramona Gabriela Ursu<sup>1</sup>, Luminita Smaranda Iancu<sup>1</sup>*

**Objectives:** To estimate the HPV genotype prevalence in North East Romania, and to check the utility of HPV 16 viral load as a

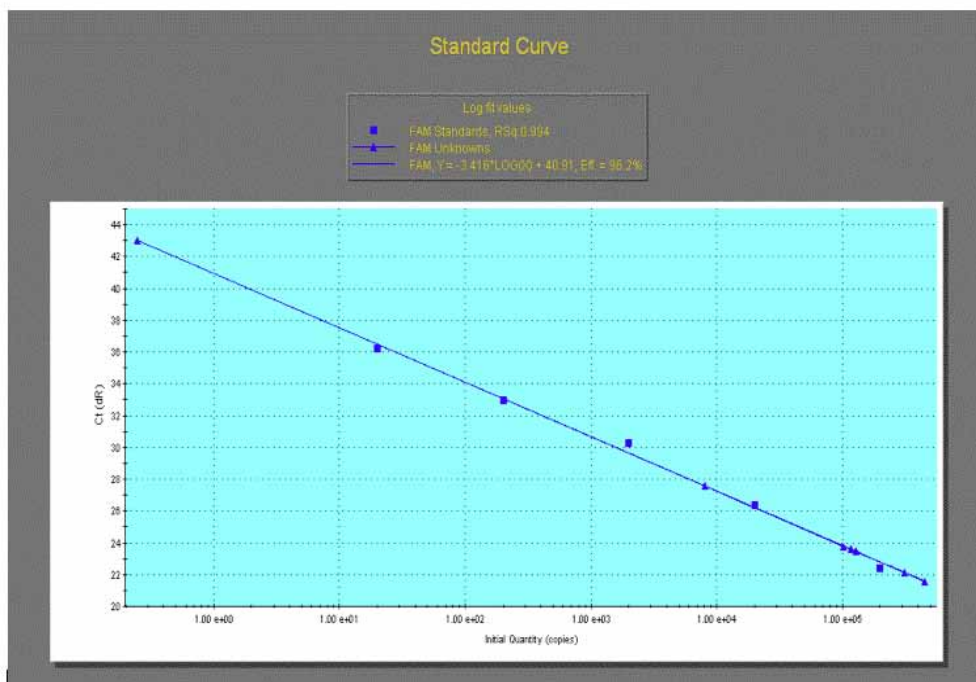
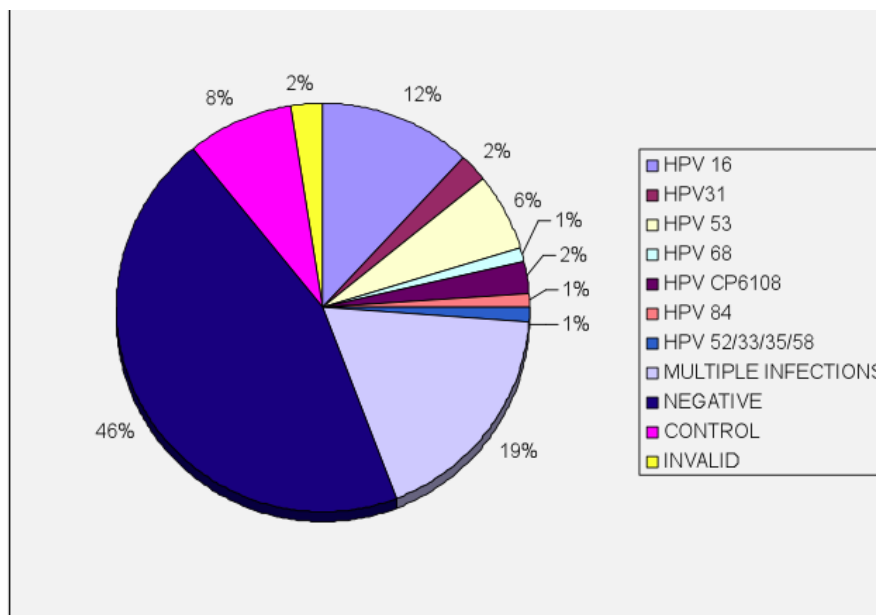
biomarker, for detecting women in early stages of HPV infection, before developing cervical cancer.

**Methods:** We tested cervical cell specimens collected from 84 women who signed the informed consent approved by the local Bioethical Committee. The age range of women tested for HPV was from 26 to 57 years, and the Pap test was performed according with Bethesda classification. HPV genotyping was performed with Linear Array HPV Genotyping (ROCHE DIAGNOSTICS®) and PCR reaction was realized with ABI 9700 Gold Plate System. The viral load of HPV 16 positive samples was quantified with Path-HPV16 Real-time PCR detection kit for Human Papillomavirus, MX3000P STRATAGENE instrument.

**Results:** Among the tested samples, 38 (46%) were negative for any HPV type, 15 (19%) patients presented multiple infections with oncogenic and non-oncogenic HPV types (16, 18, 26, 33,

35, 39, 42, 51, 54, 58, 52/33/35/58, 59, 61, CP6108, 62, 81), 10 (12%) were positive only with HPV 16, 5 (6%) for HPV 53, 2 (2%) were positive for HPV 31, 1 (1%) for HPV 52/33/35/58, 1 (1%) for HPV 68 and one (1%) for HPV 84 (fig. 1). Parameters of standard curve (efficiency, pipetting, reproducibility, slope) were between the accepted limits: Eff = 96,2%, slope = 3,416, Rsq = 0,994 (fig. 2) The viral load of tested HPV 16 positive samples was between 8,025e+003 - 4,549e+005 copies.

**Conclusions:** The epidemiological data provides information about distribution of HPV genotypes and may be important for determining the future impact of vaccines and potential changes in the country's epidemiological HPV profile. The prevalence of HPV 16 is similar to the results of others studies. High viral load of HPV 16 was associated with HSIL. We must continue our study on more cases, to have a broader image in our region.



<sup>1</sup>University of Medicine and Pharmacy Gr. T. Popa, Iasi, Romania.

### P-180: MYCOBACTERIUM ASSOCIATED IMMUNE RECONSTITUTION WITH HIGHLY ACTIVE ANTIRETROVIRAL THERAPY (HAART) INITIATION

*Nasuna Florence<sup>1</sup>*

**Issues:** The high prevalence of HIV/ HPV and TB co-infection is evident in sub-Saharan Africa. As antiretroviral use increases in this setting, it is imperative that we examine the impact of treatment initiation where HIV/HPV and TB co-infection exist.

**Description:** We describe the case of a 51 year-old Ugandan woman with HIV/HPV / TB co-infection and a T-cell count of 18. The patient was diagnosed with extrapulmonary TB following aspiration of a supraclavicular abscess that decreased in size after intensive phase TB therapy. She initiated HAART thereafter. Twenty-nine days after antiretroviral treatment began she experienced recrudescence of symptoms with marked inflammation, local pain, fever and a fluctuant nodule at the prior site of infection. Aspirate of this revealed 3+ acid-fast bacilli on smear without evidence for other organisms. Culture results are pending.

**Lessons learned:** HAART restores the immune response to mycobacterium disease.

**Recommendation:** In this era where access to antiretroviral therapy in Africa is becoming more widely available, clinicians should be alert to the manifestations of immune reconstitution syndromes. Particularly in settings where HIV/HPV/TB endemicity is high and where antiretroviral therapy is often initiated in advanced stages of HIV/HPV disease, providers ought to be vigilant for the development of acute mycobacterial symptoms and prepared to institute steroid therapy as warranted.

<sup>1</sup>Mulago Main Referral Hospital, Kampala, Uganda.

### P-181: COLPOSCOPY ASSESSMENT DOES NOT PREDICT THE FOLLOW-UP IN WOMEN WITH HR-HPV INFECTION AND MILD CYTOLOGICAL ABNORMALITIES

*Marta del Pino<sup>1</sup>, Immaculada Alonso<sup>1</sup>, Jaume Ordí<sup>2</sup>, Lluís Puig-Tintoré<sup>1</sup>, Pere Fusté<sup>1</sup>, Joan Balasch<sup>1</sup>, Aureli Torné<sup>1</sup>*

**Background:** Colposcopy examination of women with ASC-US or LSIL detects CIN2-3 in 5-20%; 10-15% of the rest of them develop CIN2-3 after 2 years follow-up. These facts justify that current protocols recommend colposcopy examination as an integral part of the follow-up of these women. Nevertheless, it is unknown whether colposcopy findings can provide any valuable information that might help to predict which patients will progress.

**Objective:** To compare the outcomes of women positive for HR-HPV with normal cytology, LSIL or ASC according to the colposcopy findings at initial evaluation.

**Patients and methods:** From January 2000 to July 2008, women referred to the Colposcopy Unit of the Hospital Clinic of Barcelona due to an abnormal cytology and/or HR-HPV infection who, after an exam including cytology, colposcopy (with colposcopically directed biopsy or endocervical curettage if indicated) and HPV detection, fulfilled following inclusion criteria were prospectively recruited: 1) positive HR-HPV testing, 2) negative, ASC or LSIL cytology. Follow-up controls were scheduled every 6 months. Colposcopy findings were recorded following the International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy (Barcelona 2002) criteria. Patients were grouped according to their follow-up outcome: regression, defined as negative Pap, and negative HR-HPV detection; persistence, established on the basis of LSIL/CIN1 diagnosis and/or persistent HR-HPV infection; progression, defined as histological diagnosis of CIN2/3.

**Results and conclusion:** 465 women were recruited (mean age  $33.6 \pm 10.4$  years). Diagnoses at enrolment were: normal cytology in 92 women (19.8%), ASC in 67 (14.4%) and LSIL/CIN1 in 306 (65.8%). Table 1 shows colposcopy findings according to the initial diagnoses. No significant differences were found between groups ( $p=0.491$ ). After a mean follow-up of 19.5 months (range 12.0-90.9), 161 (34.6%) women regressed, 261 (56.1%) showed a persistent lesion and 43 (9.3%) progressed. Table 2 shows the outcomes according to initial colposcopy findings ( $p=0.284$ ). 21/174 (12.1%) of the women with an abnormal transformation zone (ATZ) involving <50% of the cervical surface, 2/38 (5.3%) of women with ATZ involving >50% and 1/4 (25.0%) of those showing only endocervical lesion progressed ( $p=0.228$ ). In conclusion, in women with HR-HPV infection and minimal or no cytological abnormalities neither colposcopy characteristics nor lesion surface area were related to progression risk.

Colposcopy findings at enrolment		Initial cytological result			p
		NEG	ASC-US	L-SIL	
Normal (n= 249)	n (%)	55 (22.1%)	39 (15.7%)	155 (62.2%)	0.491
Minor changes (n= 199)	n (%)	34 (17.1%)	25 (12.6%)	140 (70.4%)	
Major changes (n= 17)	n (%)	3 (17.6%)	3 (17.6%)	11 (64.7%)	

Colposcopy findings at enrolment	Outcome after follow-up			p
	Regression	Persistence	Progression	
Normal	95 (38.2%) (32.3%-44.3%)	135 (54.2%) (48.0%-60.3%)	19 (7.6%) (4.9%- 11.6%)	0.284
Minor changes	59 (29.6%) (23.7%-36.3%)	117 (58.8%) (51.9%-65.4%)	23 (11.6%) (7.8%-16.7%)	
Major changes	7 (41.2%) (21.6%-64.0%)	9 (52.9%) (31.0%-73.8%)	1 (5.9%) (1.1%-27.0%)	

<sup>1</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, IDIBAPS-Hospital Clinic, University of Barcelona, Faculty of Medicine, Barcelona, Spain; <sup>2</sup>Department of Pathology, IDIBAPS-Hospital Clinic, University of Barcelona Faculty of Medicine, Barcelona, Spain.

### P-183: UPDATED DATA FROM THE PREGNANCY REGISTRY FOR GARDASIL® (HUMAN PAPILLOMAVIRUS TYPES 6/11/16/18 VACCINE)

*Adrian Dana<sup>1</sup>, Karyn Buchanan<sup>1</sup>, Mary Ann Goss<sup>1</sup>, Margaret Seminack<sup>1</sup>, Kristine Shields<sup>1</sup>, Scott Korn<sup>1</sup>, Richard Haupt<sup>1</sup>*

**Objectives:** The Pregnancy Registry for Gardasil (Merck) collects voluntary post-marketing reports of pregnancy exposures from health care providers or the public. This report covers the period from product licensure (June 2006) through May 31, 2009.

**Methods:** The registry is conducted in the US, Canada and France. Enrollment criteria include an identifiable health care provider and patient, with vaccine exposure occurring within 1 month prior to the date of onset of the last menstrual period (LMP) or during pregnancy. The primary outcomes of interest are birth defects, live births, fetal deaths, elective terminations, and spontaneous abortions. Outcomes from prospectively reported pregnancy exposures with estimated dates of delivery within the report period are used to calculate rates.

**Results:** 1897 women were enrolled in the registry with 1636 exposures reported prospectively (before the outcome of the pregnancy was known). Of the prospective reports with known outcome, there were 65 elective abortions, 64 spontaneous abortions, 2 ectopic pregnancies, 10 fetal deaths, and 968 live births, which included 6 sets of twins. Of 974 infants, 926 were normal infants with no defects, 21 had major and 26 had minor congenital anomalies. The overall rate of spontaneous abortion was 6.1 per 100 outcomes (95%CI: 4.7 to 8.0). The prevalence of congenital anomalies at birth was 2.4 cases per 100 live born infants (95%CI 1.5, 3.5). Of the 10 fetal deaths, 1 case included Turner's syndrome, 3 had attributable causes, and 3 had a history which might have contributed to the outcome.

**Conclusions:** Rates of spontaneous abortions and major birth defects were comparable to those reported in the literature (15% and 2.67%, respectively). Although the numbers of exposures are

not sufficient to rule out a low risk, data collected in the pregnancy registry to date do not support a relationship between vaccine exposure and adverse fetal outcomes.

<sup>1</sup>Merck Research Laboratories, West Point, PA, USA.

### P-184: DEFECTIVE NATURAL KILLER CELL (NK) FUNCTION IN PATIENTS WITH RECURRENT RESPIRATORY PAPILOMATOSIS (RRP)

*Vincent Bonagura<sup>1,2</sup>, Lynda Hatam<sup>1,2</sup>, James DeVoti<sup>1,2</sup>, David Rosenthal<sup>1,2</sup>, Allan Abramson<sup>1,3</sup>, Bettie Steinberg<sup>1,2,3</sup>*

**Introduction:** We recently showed an altered frequency of killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR) gene haplotypes in RRP. Specifically, KIR frequency haplotypes lacking 3 activating KIR genes, KIR3DS1, KIR2DS1, KIR2DS5, predicted disease severity. This suggested that these KIRs may be required to remove HPV-infected keratinocytes without HLA class I expression observed in papillomas. Reduced/absent HLA class I expression should prevent inhibitory KIR molecule-ligation on NK cells, and release NK inhibition of NK cytotoxicity, permitting activating KIR ligation by viral epitopes in/outside of the context of HLA class I molecules.

**Methods:** To determine if NK cells obtained from the blood of patients with RRP can cause cytotoxicity of target cells, we performed a CD107a mobilization assay using NK cells from 12 RRP patients and 13 controls. CD107a is a cell surface marker transiently expressed after cytotoxic granule release, and correlates with cytokine secretion and NK cytotoxicity. PBMC were cultured 4hrs in media alone or with the HLA class I deficient cell line K562, at an effector:target ratio (E:T) of 5:1 in the presence of FITC-conjugated anti-CD107a and monensin. Following incubation, cells were stained with the amine-reactive live/dead fixable violet dead cell stain kit and CD3 APC, CD56 PE, CD14 and CD19 PerCP. Samples were analyzed by flow cytometry.

**Results:** The percentage of CD107a expression on CD3-56+ NK cells after subtraction of the spontaneous activity showed a significant reduction of CD107a expression on NK cells in patients with RRP, vs controls (p=0.044).

**Conclusion:** There is defective NK cellular innate responses

in RRP, manifest as the failure of NK cells to be activated by target cells lacking HLA class I. Thus, papillomas containing keratinocytes lacking HLA class I are not likely to be cleared by NK cells in papillomas, thus adding cellular innate immune dysregulation to adaptive TH2-like/Treg polarization present in patients with RRP.

<sup>1</sup>Feinstein Inst. Medical Res. NS-LIJ Health System, New York, NY, USA;

<sup>2</sup>Elmezzi Graduate School for Molecular Medicine, Feinstein Inst. Medical Res., NS-LIJ Health System, New York, NY, USA; <sup>3</sup>Department of Otolaryngology, NS-LIJ Health System, New York, NY, USA.

### **P-187: FUTURE DIRECTIONS FOR SCREENING: MODELLING RESULTS FROM THE ARTISTIC TRIAL**

*Rosa Legood<sup>1</sup>, Milena Farco<sup>2</sup>, Chris Roberts<sup>2</sup>, Henry Kitchener<sup>2</sup>*

**Background:** Currently there are a range of future options for cervical cancer screening including primary HPV testing utilising hybrid capture II, cytology followed by HPV triage and further combinations based on type 16/18 testing. Future directions in research also need to consider the implications of strategies for the post-vaccination era. The objective of this modelling study was to utilise ARTISTIC trial data to assess the potential cost-effectiveness of alternative cervical cancer screening strategies to help identify likely optimal strategies going forward.

**Methods:** The setting of the ARTISTIC trial was Greater Manchester in the UK, and the study population were 24,000 women aged 20-64 who underwent primary cervical cancer screening. The trial cohort was randomised to combined screening with human papillomavirus (HPV) testing and liquid based cytology (LBC), or screening only with LBC (though HPV tests were performed and the results concealed). Genotyping data was also collected as part of the trial protocol. In this study, clinical data from the first round of the trial were re-analysed and split by age group to assess the within trial colposcopy outcomes of alternative management strategies and matched with data on initial HPV types. A mathematical model was developed incorporating both trial data and further evidence synthesis, to predict management outcomes utilising alternative potential management strategies for both an unvaccinated and vaccinated cohort. Cost data has already been collected alongside the trial and further indicative prices of novel testing strategies were then obtained from the companies. The comparative cost per case detected of alternative management strategies over one screening round were then assessed in a stochastic framework.

**Results:** Results from the study will be presented at the meeting on the cost-effectiveness of alternative management strategies. These data will be utilised to inform on likely potential cost-effective options for cervical cancer screening.

<sup>1</sup>Health Service Research Unit, London School of Hygiene and Tropical Medicine, London, UK; <sup>2</sup>University of Manchester, Manchester, UK.

### **P-188: CYTOLOGY AND GENOTYPING AS SECONDARY SCREENS AFTER PRIMARY HPV SCREENING**

*Hui Du<sup>1</sup>, Bin Yang<sup>2</sup>, Xinfeng Qu<sup>3</sup>, Suzanne Belinson<sup>4</sup>, Robert Pretorius<sup>5</sup>, Gao Yang<sup>6</sup>, Chun Wang<sup>1</sup>, Jingjing Li<sup>6</sup>, Ruifang Wu<sup>1</sup>, Jerome L. Belinson<sup>4</sup>*

**Objectives:** The Shenzhen Cervical Cancer Screening Trial II (SHENCCAST II) is a 10,000 woman study examining self-sampling, multiple HPV technologies, cytology with computer assisted detection, and genotyping. We report here an evaluation of cytology and genotyping as secondary screens after primary HPV testing.

**Methods:** Women from 3 sites in rural Guangdong Province and city sites in Shenzhen, China were eligible if non-pregnant, 25-59 yrs of age, no screening  $\geq 3$  years, no hysterectomy, and no pelvic radiation. 10,000 women will be screened with self and direct HPV testing as well as ThinPrep cytology with computer assisted detection. The entire study population will be genotyped for 14 high-risk HPV types both on their self and direct samples using the high-throughput mass spectrometry based system MALDI-TOF. Positivity by any HPV test and/or cytology led to colposcopy where all patients were colposcoped and biopsied using the POI biopsy protocol of directed and random biopsies (minimum 5/patient).

**Results and Conclusions:** 4965 women are included in this interim analysis (full 10,000 will be presented). Mean age 38.8 years,  $\geq$ ASCUS = 549/4965 (11.06%),  $\geq$ LGSIL = 185/4965 (3.73%),  $\geq$ HGSIL = 98/4965 (1.97%),  $\geq$ CIN II = 148/4965 (2.98%),  $\geq$ CIN III = 95/4965 (1.91%); HPV + rates for direct HC-II 725/4965 (14.60%), HPV + rates for self-sampling Maldi 791/4965 (15.93%). A clearly superior secondary screen is not identified. All options have strengths and major weaknesses depending on the clinical setting.

<sup>1</sup>Peking University Shenzhen Hospital Department of OB/Gyn, Shenzhen, PR China; <sup>2</sup>Cleveland Clinic Department of Pathology, Cleveland, OH, USA; <sup>3</sup>Royal Ladies Gynecology Clinic, Shenzhen, PR China; <sup>4</sup>Preventive Oncology International Inc., Cleveland Heights, OH, USA; <sup>5</sup>Kaiser Permanente, Fontana, CA, USA; <sup>6</sup>Beijing Genomics Institute, Shenzhen, PR China.

### **P-189: PRIMARY HPV SCREENING WITH SECONDARY VIA FOLLOWED BY CRYOTHERAPY**

*David Starks<sup>1</sup>, Lucybeth Nieves-Arriba<sup>1</sup>, Christine Enerson<sup>2</sup>, Suzanne Belinson<sup>3</sup>, Christine Booth<sup>4</sup>, Jennifer Brainard<sup>4</sup>, Andres Chiesa-Vottero<sup>4</sup>, Jerome L. Belinson<sup>3</sup>*

**Objective:** To determine the effectiveness of triage VIA after primary HPV screening, for prevention of undertreatment when performing cryotherapy prior to biopsy confirmation.

**Methods:** In the Mexican Cervical Cancer Screening Trial II (MECCS II) participants were women ages 30-50, non-pregnant, variable screening histories, and no prior hysterectomy or pelvic irradiation. All obtained a self-sample using the 4th generation POI/NIH brush. The sample was placed in PreservCyt for the high-risk HPV assays (HC-II and APTIMA). Then two direct cervical samples were obtained for cytology, HC-II, and APTIMA. Subjects positive on any test were recalled. At the 2nd visit, triage VIA was used to identify preinvasive disease too large for the cryo probe ( $>3$  quadrant disease) or cancer. All patients were



then colposcoped using the POI protocol of directed and random biopsies. All HC II positive subjects eligible by VIA triage were treated with cryotherapy. All patients treated with cryotherapy were requested to return in 6 months. At 6 months, a direct sample was obtained for cytology, HC-II, and APTIMA. All subjects who had abnormal biopsies prior to cryotherapy, or whose cervix appeared abnormal, were colposcoped and re-biopsied. **Results/Conclusions:** 2512 women were included in the study with a mean age of 39 years. 300 received cryotherapy (297 with complete data). 81% received follow-up, 231 at 6 months and 10 by referral MD. 229/231 have complete 6 month data. Prior to cryotherapy 30/297 women (10%) had  $\geq$ CIN 2 (15/30 ECC positive, 2/30  $>$ 3 quadrant disease). At follow up 5 women had  $\geq$ CIN 2 (2/5 on ECC) and there were no cases of  $\geq$  3 quadrant disease. Aptima detected all five high grade lesions, cytology and HC-II each missed a CIN2. VIA triage does not evaluate the endocervix effectively, at 6 months 9/11(82%) with prior positive ECCs tested negative after cryotherapy.

<sup>1</sup>Cleveland Clinic Department of Ob/Gyn, Cleveland, OH, USA; <sup>2</sup>Prueba para La vida A.C, Morelia, Mexico; <sup>3</sup>Preventive Oncology International Inc., Cleveland Heights, OH, USA; <sup>4</sup>Department of Anatomical Pathology, Cleveland, OH, USA.

#### P-190: PROSPECTIVE RANDOMIZED COMPARISON OF THE POI/NIH AND THE QIAGEN SELF-SAMPLING BRUSHES

*Jerome L. Belinson<sup>1</sup>, Hui Du<sup>2</sup>, Bin Yang<sup>3</sup>, Suzanne Belinson<sup>1</sup>, Xinfeng Qu<sup>4</sup>, Phillip Castle<sup>5</sup>, Robert Pretorius<sup>6</sup>, Chun Wang<sup>2</sup>, Gao Yang<sup>7</sup>, Ruifang Wu<sup>2</sup>*

**Objective:** Compare the sensitivity and specificity for detection of  $\geq$ CIN 2 of two vaginal self-collection devices (POI/NIH brush vs. Qiagen brush) using HR-HPV assays Cervista, Maldi-TOF, and HC2. **Methods:** 10,000 women age 25 to 59 years residing in Guangdong Province, China who were recruited for the Shenzhen Cervical Cancer Screening Trial II (SHENCCAST II). Women were randomly assigned to self-collect vaginal specimens with either the POI/NIH self-sampler or the Qiagen conical-shaped brush. All subjects had cervical specimens collected with the broom sampler by doctor directly and placed in PreservCyt for cytology and HPV testing. Cervical cytology specimens were prepared by the ThinPrep method. Vaginal self-collected specimens were tested for HR-HPV by Cervista and Maldi-TOF. The direct cervical specimens were tested for HR-HPV by HC2, Cervista, and Maldi-TOF assays. Women with HR-HPV in direct cervical or vaginal self-collected specimens or with cervical cytology of ASC-US or greater underwent colposcopy with our 5-biopsy protocol. **Results:** This interim analysis includes the first 4,965 participating women. Their mean age was 38.8 years. 3% (148/4965) were diagnosed with  $\geq$ CIN 2. For direct cervical specimens HC 2 (sensitivity 94.6%), Cervista (90.5%) and MALDI-TOF (92.6%) were on similar ROC curves. Using Cervista for detection of HR-HPV, the sensitivity for  $\geq$ CIN 2 of the POI/NIH sampler (76.4%) was similar to that of the Qiagen brush (71.1%)  $p=0.58$ . Using Maldi-TOF for detection of HR-HPV, the sensitivity for  $\geq$ CIN 2 of the POI/NIH sampler (95.8%) was similar to that of the Qiagen brush (88.2%)  $p=0.16$  and

similar to that of direct cervical Maldi-TOF (92.6%)  $p>0.05$ . **Conclusion:** For direct cervical specimens, areas under the ROC curves for Maldi-TOF, Cervista, and HC2 are similar; for vaginal self-collected specimens, the sensitivity and specificity for  $\geq$ CIN 2 of the POI/NIH sampler tested with Maldi-TOF is similar to that of the direct cervical specimens.

<sup>1</sup>Preventive Oncology International Inc., Cleveland Heights, OH, USA; <sup>2</sup>Peking University Shenzhen Hospital Department of OB/Gyn, Shenzhen, PR China; <sup>3</sup>Cleveland Clinic Department of Pathology, Cleveland, OH, USA; <sup>4</sup>Royal Ladies Gynecology Clinic, Shenzhen, PR China; <sup>5</sup>National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA; <sup>6</sup>Kaiser Permanente, Fontana, CA, USA; <sup>7</sup>Beijing Genomics institute, Beijing, China.

#### P-191: THE SHENZHEN CERVICAL CANCER SCREENING TRIAL II (SHENCCAST II)

*Ruifang Wu<sup>1</sup>, Hui Du<sup>1</sup>, Suzanne Belinson<sup>2</sup>, Bin Yang<sup>3</sup>, Xinfeng Qu<sup>4</sup>, Chun Wang<sup>2</sup>, Ruosong Wu<sup>4</sup>, Guoping Wang<sup>1</sup>, Gao Yang<sup>5</sup>, Jerome L. Belinson<sup>2</sup>*

**Objectives:** To test a new self sampling device, 2 new HPV platforms and a new computer assisted detection system in a population based screening trial.

**Methods:** 10,000 women were screened in Guangdong Province, China, if non-pregnant, 25-59 yrs of age, no screening  $<$  3 years, no hysterectomy, and no pelvic radiation. Self-sampling was block randomized between the Qiagen brush and the new POI/NIH brush and tested with Cervista and MALDI-TOF for HR-HPV. Direct cervical sampling was placed in PreservCyt, from which Cytology, HC-II, Cervista, and MALDI-TOF were processed. All women with  $\geq$ ASCUS, and/or positive self or direct HR-HPV were asked to return for colposcopy and biopsies using the POI directed and random biopsy protocol.

**Results:** 4965 women are included at this time in this interim analysis, Mean age 38.8 years,  $\geq$ ASCUS = 549/4965 (11.06%),  $\geq$  HSIL = 98/4965 (1.97%);  $\geq$  CIN II = 148/4965 (2.98%),  $\geq$  CIN III = 95/4965 (1.91%); HPV + rates for direct tests HC-II 725/4965 (14.60%), Cervista 607/4965 (12.23%), Maldi 693/4965 (13.96%). HPV + rates for self-sampling: Cervista 901/4965 (18.15%), Maldi 791/4965 (15.93%). Cytology using the I2 imager had a sensitivity and specificity ( $\geq$ ASCUS ) for  $\geq$  CIN II of 89.9% and 91.4% respectively. The areas under the ROC curves for the direct HC-II, Cervista, and the Maldi were similar  $p=0.088$ . Using Cervista the sensitivity for  $\geq$  CIN II of the POI/NIH self-sampler was similar to the self-sampling Qiagen brush (76.4% vs.71.1% respectively,  $p=0.58$ ). Using Maldi-TOF for detection of HR-HPV, the sensitivity for  $\geq$  CIN II of POI/NIH self-sampler was similar to self-sampling Qiagen brush (95.8% vs. 88.2% respectively,  $p=0.16$ ) and similar to that of direct Maldi-TOF (92.6%)  $p>0.05$ .

**Conclusions:** The I2 imager functions as an excellent "cytotech" surrogate. All the HPV assays worked similarly well as direct tests, and the POI/NIH self-sampler with a PCR based assay equals their performance.

<sup>1</sup>Peking University Shenzhen Hospital Department of OB/Gyn, Shenzhen, PR China; <sup>2</sup>Preventive Oncology International Inc., Cleveland Heights, OH, USA;



<sup>3</sup>Cleveland Clinic Department of Pathology, Cleveland, OH, USA; <sup>4</sup>Royal Ladies Gynecology Clinic, Shenzhen, PR China; <sup>5</sup>Beijing Genomics Institute, Beijing, China.

**P-192: EFFECTS OF PURIFICATION METHOD IN ANTIGENICITY AND IMMUNOGENICITY OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS TYPE 16 VIRUS-LIKE PARTICLE FROM SACCHAROMYCES CEREVISIAE**

*Su Jeung Lim<sup>1</sup>, Hyoung Jin Kim<sup>1</sup>, Hong-Jin Kim<sup>1</sup>*

In the virus-like particle (VLP) of human papillomavirus (HPV), conformational epitopes are an important factor affecting induction of neutralizing antibodies in the use of prophylactic vaccine. The structure of conformational epitope can be altered by binding with ligand. However, there has been no research investigating the effects of purification method in antigenicity and immunogenicity of VLP although the interaction between VLP and ligand on column resin is a potential factor affecting the structure of conformational epitope. Recently, we developed two one-step chromatographic methods for purifying the HPV VLP from *Saccharomyces cerevisiae*. One method uses heparin chromatography and the other, cation-exchange chromatography. In this study, we compared assembly characteristics and immune responses in mouse model between VLPs purified by the two methods above. As a result, it was confirmed that the VLPs purified by heparin chromatography (hHPV16 VLP) contained more unstable VLP than the VLP purified by cation-exchange chromatography (cHPV16 VLP). In addition, hHPV16 VLPs more strongly react with monoclonal antibody (Camvir-1) that reacts with linear epitope of HPV16 L1 than cHPV16 VLPs do. Therefore, two kinds of VLPs showed different assembly characteristics. In the study of mouse immunization, the hHPV16 VLP induced weak or no spleenocyte proliferation while the cHPV16 VLP effectively induced spleenocyte proliferation. In the humoral immune responses, the neutralizing antibody titer induced by cHPV16 VLP was three times higher than that induced by hHPV16 VLP while the total antibody titers against HPV16 VLP induced by two kinds of VLPs were similar. These immune response results indicate that the conformational change on the VLP by interaction between VLP and heparin on column resin results in alteration of immune responses. Therefore, we suggest that the selection of ligand in purification of HPV16 VLP is an important factor for determining the quality of VLP as a prophylactic vaccine.

<sup>1</sup>College of Pharmacy, Chung-Ang University, Seoul, Korea.

**P-404: THE DETECTION OF HPV GENOTYPES IN ANAL CANCER BIOPSY SPECIMENS FROM SYDNEY, AUSTRALIA**

*Richard Hillman<sup>1</sup>, Jones Rachel<sup>1</sup>, Kumaradevan Nirmala<sup>3</sup>, Goldstein David<sup>4</sup>, Tabrizi Sepehr<sup>2</sup>, Matthew Steven<sup>5</sup>, Suzanne Garland<sup>6</sup>, Charlotte Lemech<sup>7</sup>, Robyn Ward<sup>8</sup>, Alan Meagher<sup>9</sup>*

**Background:** HPV type 16 is the commonest worldwide genotype associated with anal cancer. We describe the distribution of HPV genotypes found in anal cancer specimens from Sydney, Australia. **Methods:** Cases of anal cancer were identified from databases of participating hospitals. Paraffin blocks were retrieved from

storage and slices obtained. Histological confirmation of the diagnosis was made from adjacent slices and the central slice analysed for the presence of HPV. Amplification of HPV was performed using L1 consensus primers PGMY09-PGMY11. Genotyping of 27 human papillomavirus types was performed by a single-hybridization, reverse line blot detection method.

**Results:** 114 biopsy specimens were tested. 18 different genotypes were detected, 3 specimens had no HPV detected and one had an unknown type. 69 (60.5%) had HPV16 alone, with a further 15 (13%) contained HPV16 and at least one other genotype. Type 18 was found in only 4 cases, two of which also contained type 16. HPV6 was the next most common, occurring alone in 7 (6%) and with other HPV types in 3 cases.

**Conclusions:** A wide variety of HPV genotypes was detected. 96 (84%) contained at least types 16 or 18. However, a significant minority (16%) contained only HPV types not covered by currently available prophylactic vaccines. This may have implications for future vaccine developments.

<sup>1</sup>Sexually Transmitted Infections Research Centre, University of Sydney, Westmead, NSW, Australia; <sup>2</sup>Department of Microbiology and Infectious Diseases, The Royal Women's Hospital, Melbourne, Australia; <sup>3</sup>Anatomical Pathology St Vincent's Hospital, Sydney, Australia; <sup>4</sup>Oncology Department, Prince of Wales Hospital, Sydney, Australia; <sup>5</sup>Molecular Microbiology Laboratory, The Royal Women's Hospital, Melbourne, Australia; <sup>6</sup>Faculty of Medicine, Dentistry and Health, Australia; <sup>7</sup>Medical Oncology, St George Hospital, Kogarah, NSW, Australia; <sup>8</sup>Faculty of Medicine, University of NSW, Australia.

Additional Author(s) and Affiliation(s): Alan Meagher. Colorectal Surgery, St Vincent's Hospital, Sydney.

**P-407: OUTCOME OF CONSERVATIVE SURGICAL MANAGEMENT OF SUPERFICIALLY INVASIVE SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF THE ANUS**

*J. Michael Berry<sup>1</sup>, Naomi Jay<sup>1</sup>, Mary Rubin<sup>3</sup>, Teresa M. Darragh<sup>2</sup>, Joel M. Palefsky<sup>1</sup>*

**Objective:** Combined modality therapy (CMT) is the standard of care for anal cancer, effectively treating early-stage cancer, but with significant morbidity. As high-risk patients are increasingly being screened and followed, an increasing number of patients with asymptomatic, superficially invasive squamous cell carcinomas of the anus (SISCCA) are being identified. The goal of this study was to determine the outcome of morbidity-sparing local excision of SISCCA.

**Methods:** SISCCA was defined as superficially or "microinvasive" or not specified, but without invasion of the muscularis. Clinically suspicious areas were excised and high-grade anal intraepithelial neoplasia (HGAIN) was ablated. Lesions were re-excised, if indicated. Those with margins positive for carcinoma were referred for CMT. High-resolution anoscopy (HRA) was performed every 4 months and recurrent HGAIN or cancer aggressively treated locally. Patients were referred for CMT if recurrent cancer was unresectable.

**Results:** 43 patients were diagnosed with SISCCA (9 intra-anal, 34 peri-anal): 34 HIV-positive (33 men, 1 woman) and 9 HIV-negative (5 men, 4 women), median age 49 years (range: 33-75). No patients died of anal cancer or required a colostomy after a median follow-

up of 43 months. 30 of 43 (70%) developed HGAIN post-excision. 24 of 43 (56%) required multiple excisions. 21 were treated in-office for recurrent HGAIN with infrared coagulation including 5 with >3 procedures. 10 (23%) developed recurrent cancer. 6 (12%) were re-excised and only 4 of 43 (9%) required CMT. All achieved a complete response. At last follow-up, 3 died of unrelated causes, 27 (63%) had no evidence of HGAIN or anal cancer, 8 (19%) had HGAIN, and 5 (12%) were recently treated for HGAIN. **Conclusions:** Surgical excision of SISCCA combined with close follow-up using HRA and ablation of recurrent HGAIN or SISCCA produces an excellent outcome, sparing most patients the morbidity of CMT.

<sup>1</sup>Department of Medicine, University of California, San Francisco, CA, USA;

<sup>2</sup>Department of Pathology, University of California, San Francisco, CA, USA;

<sup>3</sup>School of Nursing, University of California, San Francisco, CA, USA.

#### P-410: EPISOMAL AND INTEGRATED HPV-16 LOADS IN ANAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA IN HIV-SEROPOSITIVE MEN

*Jennifer Alvarez<sup>1</sup>, Alexandra de Pokomandy<sup>2,3,4</sup>, Danielle Rouleau<sup>2,4</sup>, George Ghattas<sup>2,4,5,6</sup>, Helen Trottier<sup>3,7</sup>, Eduardo L. Franco<sup>3</sup>, The HIPVIRG Study Group<sup>8</sup>, François Coulée<sup>2,3,4</sup>*

**Background:** The natural history of episomal and integrated viral loads in the course of anal HPV-16 infection has not been reported in HIV-positive men having sex with men (MSM). The aim of this study was to investigate the association between these biomarkers and progression of HPV-16 infection to anal intraepithelial neoplasia (AIN).

**Methods:** Of the 247 HIV-positive MSM followed prospectively for 3 years in the Human Immunodeficiency and Papilloma Virus Research Group (HIPVIRG) cohort, 135 (54.7%) provided 665 HPV-16-positive anal samples. AIN grade was assessed on biopsies during periodical high-resolution anoscopies. Episomal and integrated HPV-16 loads were measured with quantitative real-time PCR assays. HPV-16 integration was confirmed with DIPS-PCR to demonstrate the presence of viral-cellular junctions.

**Results:** HPV-16 DNA in anal samples was exclusively episomal in 627 samples (94.3%), exclusively integrated in 9 samples (1.4%), and of mixed physical state in 22 samples (3.3%). The average HPV-16 load was 892 copies/cell (median: 24, range: 0-31,289). Episomal load [odds ratio (OR)=1.5, 95% confidence interval (CI)=1.1-2.1], number of HPV types [OR=1.4, 95% CI=1.1-1.8] and current smoking [OR=4.8, 95% CI=1.3-18.6] were associated with high-grade AIN (AIN-2,3) after adjusting for age and CD4 counts. Integrated load was not associated with AIN-2,3 [OR=1.1, 95%

CI=0.4-1.1]. Samples with higher episomal load were less likely to contain integrated HPV-16 forms [OR=0.5, 95% CI=0.3-0.8]. Integration was detected equally in the absence of AIN, in AIN-1 and in AIN-2,3, suggesting that it occurs in the course of infection independently of AIN. Integration was confirmed in 19 (61.3%) of 31 specimens by DIPS-PCR. The analysis of viral-cellular junctions showed that integration sites within host genome were fortuitous. **Conclusions:** High episomal HPV-16 load is predictive of AIN-2,3 while integration does not seem to be a factor involved in the progression to pre-cancerous lesions.

<sup>1</sup>Laboratoire de Virologie Moléculaire du Centre de Recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal, Montréal, QC, Canada;

<sup>2</sup>Départements de Microbiologie et Infectiologie, Médecine Familiale, Médecine et Pathologie du Centre de Recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal, Montréal, QC, Canada;

<sup>3</sup>Division of Cancer Epidemiology, McGill University, Montréal, QC, Canada; <sup>4</sup>Départements de Médecine Familiale, Microbiologie et Immunologie, Pathologie et Médecine, Faculté de médecine, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada;

<sup>5</sup>Department of Medecine, McGill University, Montréal, QC, Canada;

<sup>6</sup>Department of Medecine and Immunodeficiency Clinic, McGill University Health Center, Montréal, QC, Canada;

<sup>7</sup>Departments of Pathology, Microbiology and Immunology, McGill University, Montréal, QC, Canada;

<sup>8</sup>Université de Montréal, McGill University, Montréal, Québec, Canada.

#### P-411: RECURRENCE OF HIGH GRADE ANAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA AND CANCER IN PATIENTS TREATED WITH COMBINED MODALITY THERAPY FOR ANAL CANCER

*Naomi Jay<sup>1</sup>, J. Michael Berry<sup>2</sup>, Teresa Darragh<sup>3</sup>, Joel Palefsky<sup>1</sup>*

**Objectives:** Combined modality therapy (CMT) consisting of chemotherapy and radiation is the standard of care for anal cancer treatment, with recurrence rates reported to be > 16%. Identification of high-grade anal intraepithelial neoplasia (HGAIN) precursor lesions through high resolution anoscopy (HRA)-guided biopsy followed by ablation may prevent recurrent anal cancer in CMT-treated patients and early-stage recurrent cancer may possibly be treated with local excision. Follow-up of patients' post-CMT may therefore be important. This study sought to determine prevalence of HGAIN and cancer following completion of CMT for anal cancer.

**Methods:** Retrospective chart review of anal cancer patients diagnosed since 1999 and treated with CMT, referred to the University of California San Francisco for post-CMT follow-up.

**Results:** 52 men and 14 women completed CMT for anal cancer and were evaluated with HRA post-treatment. The average age at cancer diagnosis was 53.2 years (range 37-66). Nineteen (29%) patients returned for one visit and 47 (71%) returned for on-

	N	Post-CMT HGAIN N (%)	Post-CMT Cancer N (%)
HIV-positive men	39	8 (21%)	7 (18%)
HIV-negative men	12	5 (42%)	2 (17%)
HIV status unknown, male	1	0	0
HIV-positive women	0	0	0
HIV-negative women	14	1 (7%)	0
Total	66	14 (21%)	9 (14%)

going HRA every 4-6 months (Figure). HGAIN was diagnosed in 14 (21%) patients (average 29 months post-CMT) and cancer in 9 (14%) patients (average 28 months post-CMT). 54% of HGAIN and 78% of cancers were diagnosed at the first post-CMT evaluation (range 7-47 months). Twelve of 14 HGAIN were treated; 5 of the 12 treated lesions progressed to cancer despite treatment. Seven of 9 patients with recurrent cancers were treated surgically, half with colostomy-sparing local resection; one was lost to follow-up and one died with the cause of death unknown.

**Conclusions:** One-third of patients had HGAIN or cancer post-CMT treatment. These were more common in men suggesting they be targeted for post-CMT HRA evaluation. It is unclear if detection and treatment of HGAIN will prevent cancer recurrence. Early follow-up and intervention may lead to better outcomes, including the possibility of curative local colostomy-sparing resection.

<sup>1</sup>Department of Medicine, University of California San Francisco, San Francisco, CA, USA; <sup>2</sup>Department of Hematology Oncology, University of California San Francisco, San Francisco, CA, USA; <sup>3</sup>Department of Pathology, University of California San Francisco, San Francisco, CA, USA.

#### **P-412: PREVALENCE AND ASSOCIATIONS OF ANAL HUMAN PAPILLOMAVIRUS (HPV) INFECTION IN AFRICAN-CARIBBEAN (AC) WOMEN IN TORONTO, CANADA**

*Anuradha Rebbapragada*<sup>1,2</sup>, *Robert Remis*<sup>3</sup>, *Lisungu Chieza*<sup>4</sup>, *Stephen Perusini*<sup>1</sup>, *Juan Liu*<sup>3</sup>, *Mona Loutfy*<sup>3,6</sup>, *Scott Boerner*<sup>7</sup>, *Megan Saunders*<sup>4</sup>, *Wangari Tharao*<sup>4</sup>, *Rupert Kaul*<sup>5,8</sup>

**Objectives:** The association of anal cancer with HPV infection is well established; however, little is known about the epidemiology of anal HPV infection in women and its associations with cervico-vaginal HPV, host immune status and demographic factors. We examined anal HPV type distribution in HIV-infected and HIV-uninfected women.

**Methods:** An ongoing cross-sectional study at the Women's Health in Women's Hands Community Health Centre is recruiting HIV-infected and HIV-uninfected AC women residing in Toronto. At a single study visit, women completed a detailed ACASIO based socio-behavioural questionnaire, provided blood for serology (HSV1/2, CMV, Hepatitis, syphilis and HIV) and urine for gonorrhea and chlamydia testing. Self-administered vaginal and anal swabs were collected for Gram stain, HPV testing (Hybrid Capture2 and Linear Array on all) and anal PAP.

**Results:** The analysis to date includes 230 HIV-uninfected and 94 HIV-infected women. Anal HPV was detected in 58.7% of HIV-infected and 24.2% of HIV-uninfected women. Anal high risk HPV (HR HPV) infection was detected in 43.5% of HIV-infected and 10.3% of HIV-uninfected women. HPV68 was the most common anal HR HPV type in both groups (10.9% in HIV-infected and 3.1% in HIV-uninfected). In vaginal samples, HPV 58 was most common in HIV-infected women (12.9%) and types 16/18/51 were most common in HIV-uninfected women (4.9% for each). Anal infection with any HPV type, any HR HPV type, multiple (>3) HR HPV types and co-infection with HSV2 were all associated with HIV infection ( $p < 0.0001$  for all). High and low grade squamous intra-epithelial lesions (HSIL and LSIL) were found in 5.5% and 7.7% of HIV-infected and in 0.0% and 0.9% of HIV-uninfected women.

**Conclusions:** These findings highlight the urgent need to better characterize anal HPV infection in women and, in particular, the determinants HPV dissemination across ano-genital sites and the development of anal malignancies.

<sup>1</sup>Ontario Agency for Health Protection and Promotion, Toronto, ON, Canada; <sup>2</sup>Department of Laboratory Medicine and Pathobiology, University of Toronto, ON, Canada; <sup>3</sup>Dalla Lana School of Public Health, University of Toronto, ON, Canada; <sup>4</sup>Women's Health in Women's Hands Community Health Centre, Toronto, ON, Canada; <sup>5</sup>Department of Medicine, University of Toronto, ON, Canada; <sup>6</sup>Department of Medicine, Women's College Hospital, Toronto, ON, Canada; <sup>7</sup>Department of Cytopathology, University Health Network, Toronto, ON, Canada; <sup>8</sup>Department of Medicine, University Health Network, Toronto, ON, Canada.

#### **P-413: PREVALENCE AND ASSOCIATIONS OF VAGINAL HUMAN PAPILLOMAVIRUS (HPV) INFECTION IN AFRICAN-CARIBBEAN (AC) WOMEN IN TORONTO**

*Anuradha Rebbapragada*<sup>1,2</sup>, *Robert Remis*<sup>3</sup>, *Lisungu Chieza*<sup>4</sup>, *Stephen Perusini*<sup>1</sup>, *Juan Liu*<sup>3</sup>, *Sanja Huibner*<sup>5</sup>, *Megan Saunders*<sup>4</sup>, *Mona Loutfy*<sup>3,6</sup>, *Wangari Tharao*<sup>4</sup>, *Rupert Kaul*<sup>5,7</sup>

**Introduction:** Variations in HPV types across different regions and sub-populations may not reflect the pooled national estimate for HPV prevalence. Epidemiologic studies are needed to elucidate the associations between HPV type distribution, cervical cancer, ethnicity, sexual behaviour and host biological determinants in specific populations. We sought to examine these associations in immigrant women from AC countries residing in Toronto, Canada.

**Methods:** A cross-sectional study at the Women's Health in Women's Hands Community Health Centre is recruiting HIV-infected and HIV-uninfected AC women. At a single study visit, women completed a detailed ACASIO based socio-behavioural questionnaire, provided blood for serology (HSV1/2, CMV, Hepatitis, syphilis and HIV) and urine for gonorrhea and chlamydia testing. Self-administered vaginal and anal swabs were collected for Gram stain, HPV testing (Hybrid Capture2 and Linear Array on all) and anal PAP.

**Results:** The analysis to date includes 230 HIV-uninfected and 94 HIV-infected women. HPV and high risk (HR) HPV infection was detected in 81.7% and 59.1% of HIV-infected and 40.8% and 24.2% of HIV-uninfected women, respectively. HPV 58 was most common in HIV-infected women (12.9%). HPV 16, 18 and 51 were most common in HIV-uninfected women (4.9% for each). Infection with any HPV type, any HR HPV type, multiple HR HPV types (>3) and co-infection with HSV2 were associated with HIV infection ( $p < 0.0001$  for all). In HIV-uninfected women, HPV prevalence was associated with younger age (33.9% in 15-24 years versus 21.1% in women >55 years,  $p = 0.012$ ), number of sex partners (16.5% with none versus 46.7% with >2,  $p = 0.026$ ) and smoking (18.5% never versus 54.8% with any smoking history,  $p < 0.0001$ ).

**Conclusions:** The high rates of HPV infection and distinct pattern of type distribution emphasize the need to assess the type-specific risk for cervical cancer and the proportional impact of HPV vaccines in this population.

<sup>1</sup>Ontario Agency for Health Protection and Promotion, Toronto, ON, Canada; <sup>2</sup>Department of Laboratory Medicine and Pathobiology, University of Toronto, Toronto, ON, Canada; <sup>3</sup>Dalla Lana School of Public Health, University

of Toronto, Toronto, ON, Canada; <sup>4</sup>Women's Health in Women's Hands Community Health Centre, Toronto, ON, Canada; <sup>5</sup>Department of Medicine, University of Toronto, Toronto, ON, Canada; <sup>6</sup>Department of Medicine, Women's College Hospital, Toronto, ON, Canada; <sup>7</sup>Department of Medicine, University Health Network, Toronto, ON, Canada.

#### P-414: PERFORMANCE OF HPV TESTING AND ANAL CYTOLOGY TO DETECT HIGH-GRADE ANAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA IN MEN WHO HAVE SEX WITH MEN

*Ina Park<sup>1</sup>, James Eford<sup>2</sup>, Naomi Jay<sup>3</sup>, J. Michael Berry<sup>4</sup>, Teresa Darragh<sup>5</sup>, Elizabeth Holly<sup>6</sup>, Joel Palefsky<sup>7</sup>*

**Objectives:** Anal cytology is used in clinical settings to screen for human papillomavirus (HPV)-related anal intraepithelial neoplasia (AIN) and cancer in high-risk populations. Because of inherent test performance limitations with cytology, anal HPV testing may potentially be used to screen for high-

grade AIN (HGAIN-AIN 2/3). We compared performance of cytology and HPV testing to detect HGAIN in HIV-positive and HIV-negative men who have sex with men (MSM). **Methods:** Baseline cross-sectional analysis of 302 HIV-positive and 176 HIV-negative MSM in a prospective cohort study of AIN. Participants underwent testing for HPV DNA with L1 consensus PCR, conventional cytology, and high-resolution anoscopy (HRA)-guided biopsy if indicated. Abnormal cytology and histology definitions were: atypical squamous cells of undetermined significance (ASC-US), low-grade squamous intraepithelial lesions (LSIL), high-grade squamous intraepithelial lesions (HSIL) and HGAIN, respectively. The gold standard was based on histology and HRA findings. Sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) were calculated for anal cytology and HPV testing categories: oncogenic HPV infection (positive versus negative), HPV-16 (positive versus

Table 1: Performance of HPV testing and cytology to detect AIN 2/3, HIV-positive MSM (n=302)

	% Sensitivity (95% CI)	% Specificity (95% CI)	% PPV (95% CI)	% NPV (95% CI)
HPV testing alone				
Oncogenic HPV+	79 (71-84)	37 (29-46)	61 (54-68)	58 (47-69)
≥3 HPV types	73 (65-79)	43 (35-52)	62 (54-68)	56 (46-65)
HPV-16+	50 (42-58)	77 (68-84)	73 (64-81)	55 (48-63)
Cytology ≥ ASC-US	87 (81-91)	42 (33-51)	65 (59-71)	72 (60-81)
Cytology ≥ ASC-US and Oncogenic HPV+	84 (77-88)	47 (38-56)	67 (60-73)	70 (59-79)
Cytology ≥ ASC-US and ≥3 HPV types	83 (77-88)	46 (38-55)	66 (59-72)	69 (58-78)
Cytology ≥ ASC-US and HPV-16	83 (76-88)	51 (43-60)	68 (61-74)	70 (60-79)
Cytology ≥ LSIL	77 (70-83)	53 (44-62)	67 (60-73)	65 (55-74)
Cytology ≥ LSIL and Oncogenic HPV+	72 (64-79)	63 (54-71)	71 (63-77)	64 (55-72)
Cytology ≥ LSIL and ≥3 HPV types	71 (64-78)	62 (53-70)	70 (63-77)	63 (54-71)
Cytology ≥ LSIL and HPV-16	61 (53-69)	80 (72-86)	79 (71-86)	62 (54-69)
Cytology = HSIL	46 (39-54)	93 (87-97)	89 (80-95)	58 (51-65)

Table 2: Performance of HPV testing and cytology to detect AIN 2/3, HIV-negative MSM (n=176)

	% Sensitivity (95% CI)	% Specificity (95% CI)	% PPV (95% CI)	% NPV (95% CI)
HPV testing alone				
Oncogenic HPV+	54 (34-73)	70 (62-77)	24 (14-37)	90 (82-94)
≥3 HPV types	38 (21-59)	79 (71-85)	24 (13-40)	88 (81-93)
HPV-16+	31 (15-52)	88 (81-92)	31 (15-52)	88 (81-92)
Cytology ≥ ASC-US	65 (44-82)	81 (74-87)	38 (24-53)	93 (87-97)
Cytology ≥ ASC-US and Oncogenic HPV+	58 (37-76)	84 (77-89)	38 (24-55)	92 (86-96)
Cytology ≥ ASC-US and ≥3 HPV types	58 (38-76)	85 (78-90)	39 (24-57)	92 (86-96)
Cytology ≥ ASC-US and HPV-16	58 (38-76)	85 (78-90)	39 (24-57)	92 (86-96)
Cytology ≥ LSIL	50 (30-70)	85 (78-90)	37 (22-55)	91 (84-95)
Cytology ≥ LSIL and Oncogenic HPV+	42 (24-63)	90 (84-94)	42 (24-63)	90 (84-94)
Cytology ≥ LSIL and ≥3 HPV types	42 (24-63)	90 (84-94)	42 (24-63)	90 (84-94)
Cytology ≥ LSIL and HPV-16	35 (18-56)	95 (90-98)	56 (31-79)	89 (83-94)
Cytology = HSIL	27 (12-48)	98 (93-99)	70 (35-91)	89 (82-93)



negative), infection with  $\geq 3$  HPV types versus 1-2 types.

**Results:** Among HIV-positive MSM, 71% had oncogenic HPV infection, 56% had HGAIN. Among HIV-negative MSM, 34% had oncogenic HPV infection, 15% had HGAIN. Among HIV-positive MSM (**Table 1**), cytology ( $\geq$ ASC-US) was most sensitive for HGAIN; however oncogenic HPV testing alone demonstrated comparable sensitivity and specificity. HPV-16 testing alone or as an adjunct to cytology (LSIL or worse) was highly specific for HGAIN, but sensitivity was reduced. In HIV-negative MSM (**Table 2**), cytology ( $\geq$ ASC-US) was more sensitive for HGAIN compared to HPV testing. HPV testing as an adjunct to cytology did not significantly improve test performance in this population.

**Conclusions:** Cytology remains the preferred screening method for HGAIN. In settings where HPV testing is employed, HPV-16 status may be useful to triage high-risk individuals for HRA.

<sup>1</sup>Department of Family and Community Medicine, University of California-San Francisco, San Francisco, CA, USA; <sup>2</sup>Center for the Health of Vulnerable Populations, University of North Carolina-Greensboro, Greensboro, NC, USA; <sup>3</sup>Division of Infectious Diseases, Department of Medicine, University of California-San Francisco, San Francisco, CA, USA; <sup>4</sup>Division of Hematology-Oncology, Department of Medicine, University of California-San Francisco, San Francisco, CA, USA; <sup>5</sup>Department of Pathology, University of California-San Francisco, San Francisco, CA, USA; <sup>6</sup>Department of Epidemiology and Biostatistics, University of California-San Francisco, San Francisco, CA, USA.

#### P-415: DNA METHYLATION PROFILING ACROSS THE SPECTRUM OF HPV-ASSOCIATED ANAL SQUAMOUS NEOPLASIA

*Jonathan Hernandez<sup>1</sup>, Erin Siegel<sup>2</sup>, William Grady<sup>3</sup>, Steven Eschrich<sup>4</sup>, Domenico Coppola<sup>5</sup>, Abul Elahi<sup>1</sup>, Bridget Riggs<sup>2</sup>, Anna Giuliano<sup>2</sup>, David Shibata<sup>1</sup>*

**Introduction:** There is growing evidence to suggest that changes in host genome DNA methylation patterns are among the critical molecular alterations associated with HPV-related carcinogenesis

in squamous cell cancers (SCC) of the cervix and oropharynx. However, there is very little known about the epigenetic changes associated with the development of anal SCC. We sought to characterize HPV genotype and broad methylation profiles across the spectrum of anal squamous neoplasia.

**Methods:** Thirty-one formalin-fixed paraffin embedded samples from 25 patients were evaluated and included normal anal mucosa (NM; n=4), SCC-in situ (SCC-IS n=11) and invasive SCC (n=16). SFP10 LiPA HPV-typing system was used to determine the HPV status. Bisulfite-modified DNA was interrogated for methylation at 1,505 CpG loci representing 807 genes using the Illumina GoldenGate Methylation Assay.

**Results:** Our population was comprised of 13 women and 12 men with a median age of 48 years (range 26-81). Five patients were immunocompromised either by HIV or chemotherapy. All patients demonstrated infection with at least one high-risk HPV subtype, with HPV 16 noted in 15/16 patients with SCC. There was a trend towards increasing percentages of total CpG loci methylated with histologic progression;  $56 \pm 4\%$  for NM,  $61 \pm 4\%$  for SCC-IS and  $63 \pm 1\%$  for SCC (p=NS). Fourteen gene loci were found to be significantly and differentially methylated (Kruskal-Wallis p<0.01) across the 3 groups, with nine genes associated with disease progression (**Figure 1**).

**Conclusion:** In HPV-associated anal neoplasms, we have identified a panel of methylated genes associated with the progression from anal NM to SCC. To our knowledge, this is the first reported application of broad high-throughput methylation analysis to anal neoplasia. Our findings have future implications for advances in the understanding of HPV-associated carcinogenesis as well as for anal SCC screening, diagnosis and treatment.

<sup>1</sup>Section of Colorectal Oncology, Gastrointestinal Oncology Program, H. Lee Moffitt Cancer Center & Research Institute, Tampa, FL, USA; <sup>2</sup>Risk Assessment, Detection and Intervention Program, H. Lee Moffitt Cancer Center & Research Institute, Tampa, FL, USA; <sup>3</sup>Department of Medicine, University of Washington, Seattle, WA, USA; <sup>4</sup>Department of Bioinformatics, H. Lee Moffitt Cancer Center & Research Institute, Tampa, FL, USA; <sup>5</sup>Department of Pathology, H. Lee Moffitt Cancer Center & Research Institute, Tampa, FL, USA.

GENE	FUNCTION	p-Value
FRK	Growth regulation at the G1/S transition; Stabilizes PTEN	0.0026
HOXA5	Growth regulation; Upregulates p53 expression	0.0062
KRT1	Epidermal differentiation (Known HPV target)	0.0038
PADI4	Cell cycle control through upregulation of p53; Apoptosis inducer	0.0071
S100A2	Tumor suppressor required for proper keratinocyte differentiation	0.0050
TGFβ3	Tumor suppressor in epithelial cancers; silenced in Bowen's disease	0.0021
TNFRSF10B	Transduces an apoptosis signal in response to TNF and FADD	0.0061
DIO3	Degradation of thyroid hormones	0.0064
FLT1	Mediator of VEGF signaling	0.0079

### P-435: AN HPV GENOTYPING ASSAY THAT UTILIZES QIAGEN HYBRID CAPTURE TECHNOLOGY

*Ha Thai<sup>1</sup>, Wen Chen<sup>1</sup>, Tanya Gay<sup>1</sup>, Sarah McLeod<sup>1</sup>, Dana Pfister<sup>1</sup>, Irina Nazarenko<sup>1</sup>*

**Background:** The digene HPV Genotyping PS Test (PS)(TM) was developed for the specific detection of HPV 16, 18, and 45.

**Objectives:** To assess the initial performance of the digene HPV Genotyping PS Test using both plasmids and clinical specimens using different specimen collection media types.

**Methods:** The PS Test is a non target amplification assay based on Hybrid Capture® technology. The test utilizes QIAGEN's proprietary hybrid-specific antibodies for the detection of HPV DNA targets. Analytical specificity of the PS Test HPV 16, 18, and 45 probes was evaluated using a panel of both high-risk and low-risk HPV plasmids. Performance of the PS Test was compared to type specific quantitative-PCR (qPCR) to evaluate concordance. Concordance to qPCR was demonstrated using both cervical brush samples in Specimen Transport Media, (STM) and liquid based cytology samples.

**Results and Conclusions:** The digene HPV Genotyping PS Test specifically detects HPV 16, 18, and 45 with at least 5000 copies sensitivity. The assay is highly specific and has been shown to have no cross-reactivity with a panel of other high-risk or low-risk HPV types present at up to 108 copies per reaction. Initial performance on clinical specimens was demonstrated on STM, PreservCyt, and SurePath® cervical specimens that were initially screened by the HC2 assay. Performance capability and accuracy of the test was compared to sequence specific qPCR for HPV 16, 18, and 45 with overall concordance between the two detection methods shown to be greater than 95%. In addition, the compatibility of the PS Test with STM, PreservCyt and SurePath specimens was demonstrated. The applications presented here are for research use only. Not for use in diagnostic procedures.

<sup>1</sup>QIAGEN Gaithersburg Inc., Gaithersburg, USA.

### P-436: MULTICENTER EVALUATION OF THE COBAS 4800 HPV TEST: DETECTION OF CIN2+ LESIONS COMPARED TO HC2

*M.T. Sandri<sup>1</sup>, D. Riggio<sup>1</sup>, M. Sideri<sup>1</sup>, M.J. Rodriguez Dominguez<sup>2</sup>, J. Chacón De Antonio<sup>2</sup>, M.L. Mateos Lindemann<sup>2</sup>, H. Khiri<sup>3</sup>, S. Ravel<sup>3</sup>, P. Halfon<sup>3</sup>*

**Background:** Many studies have demonstrated that high risk (HR)-HPV testing is more sensitive than cytology in the detection of CIN2+ lesions. Many methods have been proposed to detect the presence of HR-HPV in cervical samples, with the Hybrid Capture 2 (HC2) system (Qiagen) being the most widely used. In this multicenter study we have evaluated the prototype cobas 4800 HPV test, for the detection of CIN2+ lesions. The prototype cobas® 4800 is a highly automated system that performs sample preparation, real-time HR-HPV amplification and simultaneous detection of 12 HR-HPV genotypes in a single pool, with separate detection of HPV16, HPV18, as well as the human beta globin gene, in a single tube.

DST - J bras Doenças Sex Transm 2010; 22(4): 233-267

**Methods:** From May till October 2008, aliquots of specimens from 1340 consecutive patients from three clinical centers for whom a HC2 test was requested were stored for further analysis with the prototype cobas 4800 HPV test. HC2, cobas 4800 HPV, and histology/biopsy results were available for 408 patients. Samples with discrepant HPV test results were analyzed with the Linear Array HPV Test (LA). Clinical disease (CIN2+ and CIN3+) was determined as the highest categorization of pathology observed from histology results.

**Results:** Among the 408 patients undergoing colposcopy with a biopsy, 160 were found to have a CIN2 lesion or greater; 94 with a CIN3 lesion or greater. Among the CIN2+ samples, 140 samples were concordant positive and 11 concordant negative. We observed 9 hc2 positive/cobas4800 negative CIN2+ samples: 6 samples were HR-HPV positive by LA analysis, whereas 3 samples were LA low-risk HPV positive.

**Conclusion:** This multicenter evaluation of the prototype cobas 4800 HPV test in comparison with hc2 showed 94% concordant results in samples from patients with CIN2+ lesions. Few samples gave discordant results and further analysis is ongoing.

<sup>1</sup>European Institute of Oncology, Milan, Italy ; <sup>2</sup>Hospital Ramon y Cajal, Madrid, Spain; <sup>3</sup>Alphabio Laboratory, Marseille, France.

### P-437: CAN HPV DNA/MRNA AND/OR p16 STATUS REDUCE THE NEED FOR BIOPSIES IN PREGNANT WOMEN WITH ATYPICAL CYTOLOGY?

*Cecilia Kärrberg<sup>1</sup>, Elin Andersson<sup>2</sup>, Walter Ryd<sup>3</sup>, Monika Dohse<sup>3</sup>, Mats Brännström<sup>1</sup>, Thomas Rådberg<sup>1</sup>*

**Background:** Atypical cervical cytology is common in pregnant women. Cancer is uncommon but must be excluded. Colposcopy is difficult and punch biopsies may fail to detect microinvasive cancer. Conisation can be hazardous.

**Objective:** To evaluate if HPV genotyping, HPV mRNA analysis and/or p16 analysis can facilitate detection of microinvasive cancer in pregnant women with atypical cytology.

**Methods:** We investigated 132 women: 25 non pregnant, 26 pregnant with normal cytology, 30 non pregnant, 26 pregnant women with atypical cytology and 25 women with invasive cancer. Samples were taken for analysis of HPV DNA genotype (in house real-time PCR and Linear array, Roche), HPV E6/E7 mRNA (in house real-time PCR and PreTect HPV proofer, NorChip), p16 immunocytochemistry (mtm laboratories). In house genotyping assays for HPV DNA and HPV mRNA were performed with TaqMan real-time PCR targeting E6/E7 of HPV 6, 11, and 12 highrisk-types including 16,18.

**Results:** Among women with normal cytology, 10 (40%) of non-pregnant women were p16 positive and 11(44%) were HPV DNA positive but only 2 (8%) mRNA positive; 4 (15%) of pregnant women were p16 positive, 11 (42%) HPV DNA positive and 3 (12%) mRNA positive. Among women with atypical cytology 25 (83%) of the non pregnant women were p16 positive, 28 (93%) HPV DNA positive, 23 (77%) mRNA positive; and 21 (81%) of the pregnant women were p16 positive, 25 (96%) HPV DNA positive and 19 (73%) mRNA positive. Pregnant women with verified CIN3 +, including one case of



microinvasive cancer were all identified by both p16 and E6/E7 mRNA in house real-time PCR and non pregnant CIN3 with either p16 or E6/E7 mRNA. Only 2 women with cancer were negative for DNA, additionally 1 negative for mRNA but all were p16 positive.

**Conclusion:** Pregnancy does not increase p16 positivity. A combination of p16 analysis and HPV E6/E7 mRNA in house real-time PCR may be a useful, non invasive tool to identify pregnant women with atypical cytology at risk of having an invasive cancer, thus reducing the number of biopsies needed. Confirmative studies are needed.

<sup>1</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, The Sahlgrenska Academy, University of Gothenburg, Gothenburg, Sweden; <sup>2</sup>Department of Clinical Virology, The Sahlgrenska Academy, University of Gothenburg, Gothenburg, Sweden; <sup>3</sup>Department of Clinical Pathology and Clinical Cytology, The Sahlgrenska Academy, University of Gothenburg, Gothenburg, Sweden.

#### **P-438: EXPRESSION OF RAP1 AND P16INK4A IN CERVICAL PRENEOPLASTIC AND NEOPLASTIC LESIONS ASSOCIATED WITH HIGH RISK HUMAN PAPILLOMAVIRUS INFECTION**

*Marcelo Pascoal-Xavier<sup>1,2</sup>, Anna Carolina Figueiredo<sup>1</sup>, Monica Demas<sup>3</sup>, João dos Santos<sup>2</sup>, Erna Kroon<sup>2</sup>, Paulo Ferreira<sup>2</sup>, Jaqueline Oliveira<sup>1,2</sup>*

**Background:** High risk human papillomavirus (HPV) plays a central role in the development and progression of cervical cancer. The neoplastic progression occurs through the action of E6 and E7 viral oncoproteins which cause dysregulation of cell cycle proteins such as pRB, p53 and p16INK4A and other cell cycle regulatory proteins. The search for cervical cancer biomarkers is still crucial to enhance diagnostic consistency and reproducibility of cervical cancer. Rap1 is a member of the Ras family of small GTPases that is activated by diverse extracellular stimuli in many cell types. Either a defective or an excess in Rap1 activation has been reported to contribute to malignancy via distinct biological effects in different cell types.

**Objectives:** To analyze and compare expression patterns of Rap 1, a potential biomarker for cervical cancer, to the p16 INK4A by means of immunohistochemical analysis.

**Methods:** Immunocytochemical analysis of p16INK4A and Rap 1 was performed on 57 cervical biopsies classified as follows: 9 normal, 22 LGSIL, 13 HGSIL and 13 cervical carcinoma (CC). Staining intensity was assessed using a 0-3 scoring system. HPV was detected by PCR and specific HPV typing was done. The Wilcoxon and Fisher exact tests were employed for the statistical analysis.

**Results:** Unlike p16INK4A, Rap1 expression was upregulated in the LGSIL group associated with high risk HPV infection. Both markers, Rap1 and p16INK4a, were found overexpressed in the HGSIL and CC lesions.

**Conclusions:** Rap1 GTPase may be a biomarker for predicting the progression of HPV-related squamous intraepithelial lesions and a combination of Rap1 GTPase/p16INK4a expression seemed to be useful to those identified as high grade and invasive lesions. Our data suggests that Rap1 is a good marker for predicting cervical cancer progression.

<sup>1</sup>Laboratório de Imunologia Celular e Molecular Centro de Pesquisas René Rachou, Fiocruz, Minas Gerais, Brazil; <sup>2</sup>Laboratório de Vírus, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil; <sup>3</sup>Departamento de Anatomia Patológica, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil.

#### **P-439: BIOLOGICAL ACTIVITY OF RARE HR-HPV IN CERVICAL CANCER**

*Gordana Halec<sup>1,2</sup>, Markus Schmitt<sup>1</sup>, Bolormaa Dondog<sup>1</sup>, Franz X. Bosch<sup>2</sup>, Michael Pawlita<sup>1</sup>*

**Background:** Evidence for active involvement of HPV-16 and other frequent HR-HPV in cervical squamous cell carcinoma (C-SCC) has been provided in many studies. However, evidence for biological activity of rare (prevalence <1.5%) HR-HPV in C-SCC and putative (p)HR-HPV is limited.

**Methods:** We analyzed 68 formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) C-SCC tissues for HPV DNA and RNA expression. HPV DNA was detected by a semi-quantitative multiplex genotyping (MPG) assay enabling detection of 54 mucosal HPV types. HR-HPV DNA positive samples were analyzed for the expression of E6\*I transcripts by a sensitive, short (65bp) amplicon RT-PCR assay developed for 13 HR- and 1 pHR-HPV. Expression of cellular proteins p53, pRb and p16INK4a as surrogate markers for active HPV transformation was investigated by immunohistochemistry (IHC) in 29 C-SCC.

**Results:** All 68 biopsies yielded analyzable DNA and RNA. Sixty-seven (99%) contained HPV sequences of which 54 (81%) were single and 13 (19%) multiple infections. Type-specific prevalences were: HPV-16 (67%), -31 (9%), -18 (7%), -33, -35, -45 (6%), -82 (4%), -52 (3%), -39, -51, -56, -58, -59 and pHR-HPV-26, -66 (1%). E6\*I-RNA was present in 32/34 (94%) HPV-16 single, all other HR-HPV single infections and one single pHR HPV-66 case. In all multiple infections RNA of at least 1 type was present. IHC pattern typical for HPV-induced transformation with up-regulated p16 and down-regulated pRb was found in 27/29 (93%) cases while p53 was down-regulated in 23 of these 27 (85%).

**Conclusions:** This pilot study shows that rare HR-HPV types 35, 56, 51, 39 and pHR HPV66 are actively contributing to the transformed phenotype of individual C-SCC. The E6\*I-RNA assay is suitable for FFPE material and is a valuable tool to understand the role of rare HR-HPV in C-SCC.

<sup>1</sup>Division of Genome Modifications and Carcinogenesis, German Cancer Research Center (DKFZ), Heidelberg, Germany; <sup>2</sup>Molecular Biology Laboratory, Department of Otolaryngology, Head and Neck Surgery, Heidelberg University, Heidelberg, Germany.

#### **P-450: RANDOMIZED CONTROLLED TRIAL OF PRIMARY HPV TTESTING IN A CANADIAN ORGANIZED SCREENING PROGRAM**

*Gina Ogilvie<sup>1,4</sup>, Dirk van Niekerk<sup>1,3</sup>, Mel Krajden<sup>1,4</sup>, Thomas Ehlen<sup>1,3</sup>, Ruth Martin<sup>1</sup>, Stuart Peacock<sup>1,3</sup>, Laurie Smith<sup>3</sup>, Gavin Stuart<sup>1</sup>, Eduardo Franco<sup>2</sup>, Andrew Coldman<sup>1,3</sup>*

**Objectives:** The HPV FOCAL trial is the first North American randomized controlled trial examining the efficacy of hr-HPV

DNA testing as a stand-alone screening test followed by liquid based cytology (LBC) triage of hr-HPV-positive women compared with LBC followed by hr-HPV triage with  $\geq$ CIN3 as the outcome.

**Methods:** This randomized controlled trial will recruit 33,000 women aged 25 to 65 who are assigned to 1 of 3 study arms- Control: LBC testing. Negatives screen again at 2 and 4 years. Colposcopy referral at  $>$ LSIL or ASCUS+HPV-positive. Safety-Check: HR-HPV testing. Exit screen at 2 years with LBC. HPV-positives undergo reflex cytology testing and managed same as intervention arm. Intervention: HR-HPV testing. Negatives exit screen at 4 years. HPV-positives undergo reflex cytology testing. Exit colposcopy referral at ASC-US threshold or HPV-positive. Outcome measures: Confirmed  $\geq$ CIN3 detected at exit screen in control and intervention arms; confirmed  $>$ CIN2 in control arm at 2 years, safety arm at exit; clearance of HPV infection in HPV-positives at recruitment.

**Results:** By March 1, 2010, results were available for 11,729 women. Demographics equally distributed in the 3 arms indicating successful randomization. Control: 94.4% LBC negative; 0.9% had high grade squamous intraepithelial lesions (HSIL) on LBC, and highest HSIL rates in those 25-29 yrs (2.9%). Safety and Intervention: 91.9% and 92.1% hr-HPV negative respectively. Highest hr-HPV positivity rate in those 25-29 yrs (23.8% and 25.2%) and lowest in those 60-65 yrs (3.0% and 3.0%). Preliminary colposcopy and pathology rates are presented (Figure 1).

**Discussion:** The HPV Focal trial is the first randomized controlled trial to compare liquid based cytology with HPV triage vs HPV with LBC triage as the primary screen for cervical cancer. Over 11,000 women have been recruited and preliminary results show successful randomization.

<sup>1</sup>University of British Columbia, Vancouver, BC, Canada; <sup>2</sup>McGill University, Montreal, QC, Canada; <sup>3</sup>British Columbia Cancer Agency, Surrey, BC, Canada; <sup>4</sup>British Columbia Centre for Disease Control, Vancouver, BC, Canada.

	Screen Negative (%)	Colposcopy Referral Rate	Pathology Results		
			CIN2	CIN3	CIN2/3
Control (LBC)	3687/3907 (94.4)	3.4%	19/112 (17.0)	11/112 (9.8)	30/112 (26.8)
Safety Arm	3626/3947 (91.9)	3.0%	19/100 (19.0)	16/100 (16.0)	35/100 (35.0)
Intervention Arm	3579/3875 (92.4)	3.0%	22/104 (21.2)	18/104 (17.3)	40/104 (38.5)

#### P-461: DIGITAL ANALYSIS OF IHC IMAGES FOR DETECTING HPV E6/E7 ONCOPROTEINS IN CIN2/3 AND CERVICAL CANCER TISSUES

Yi-Shan Yang<sup>1</sup>, Biskash Sabata<sup>2</sup>, Rob Monroe<sup>2</sup>, Ting-Chang Chang<sup>3</sup>, Ling-Ping Hsiao<sup>3</sup>, Shih-Ming Jung<sup>4</sup>, Shuling Cheng<sup>1</sup>

**Background:** Overexpression of E6/E7 in CIN2/3 results in malignant transformation of cervical epithelium. Scarce reports show direct detection of E6/E7 oncoproteins in cervical tissues due to limited anti-E6 or E7 antibody.

**Objectives:** 1) To demonstrate the overexpression and localization of E6/E7 proteins in CIN2/3, SCC, and cervical adenocarcinoma by IHC using our novel anti-E6 or E7 antibodies. 2) To digitize the IHC slides and to use automated image analysis software to quantitate stains based on color, intensity, and staining pattern. 3) To compare and correlate the automated image analysis results to those obtained from standard microscopic scoring.

**Methods:** Two monoclonal anti-E6 and two monoclonal anti-E7 antibodies were used to perform IHC on a total of 12 tissue microarrays that contain previously-identified paraffin-embedded tissue cores including 120 CIN2, 120 CIN3, 48 SCC, 48 adenocarcinoma and their normal epithelial counterparts. IHC staining for each core on the tissue microarrays was scored by a gynecologic pathologist as percentage of cells with nuclear and cytoplasmic staining. Staining of adjacent dysplastic and normal epithelia was determined for each core for comparative purposes. Image analysis was performed with a combined nuclear+cytoplasmic algorithm on selected regions of interest

from each core on the same IHC stained tissue microarrays following digitization on BioImagene's iScan digital slide scanner (Sunnyvale, CA). Correlation of image analysis results to manual microscopic scores was established.

**Preliminary Results:** Dysplasia and cancer show distinguishable staining compared to normal adjacent epithelium. Both cytoplasmic and nuclear staining were found in the dysplastic cells, with increasing staining percent positivity seen for CIN2, CIN3, and cervical cancers respectively. Image analysis can provide more quantitative information on staining intensity and percent positivity relative to manual microscopic scoring. Determination of specific thresholds for intensity and positivity for E6/E7 may provide an aid to the pathologist in the evaluation and grading of dysplasia.

<sup>1</sup>OncoHealth Corp., Fremont, CA, USA; <sup>2</sup>BioImagene, Sunnyvale, CA, USA; <sup>3</sup>Obstetrics and Gynecology, Chang-Gung Memorial Hospital Linkou Medical Center, Taoyuan, Taiwan; <sup>4</sup>Department of Anatomic Pathology, Chang-Gung Memorial Hospital Linkou Medical Center, Taoyuan, Taiwan.

#### P-463: COMPARISON OF THE ROCHE COBAS 4800 VS. QIAGEN HC2 TESTS FOR DETECTION OF HIGH-RISK HPV DNA

Kathy Ceballos<sup>1,2</sup>, Gina Ogilvie<sup>2,3</sup>, Dirk Van Niekerk<sup>1,2</sup>, Wendy Mei<sup>3</sup>, Darrel Cook<sup>3</sup>, Laurie Smith<sup>1</sup>, Eduardo Franco<sup>4</sup>, Andy Coldman<sup>1,2</sup>, Mel Krajden<sup>2,3</sup>

**Objective:** To compare the performance of the Roche cobas 4800 vs. Qiagen hc2 tests for detection of high-risk (HR) HPV DNA.

**Methods:** ThinPrep cervical specimens from females enrolled in

the HPV FOCAL Trial (ISRCTN79347302) were tested for HR HPV by Qiagen hc2 High Risk HPV DNA Test (hc2) and Roche cobas 4800 HPV (cobas 4800). All specimens were also tested by Roche Linear Array HPV Genotyping Test (LA).

**Results:** For 806 specimens, overall agreement between hc2 and cobas 4800 was 96.4% ( $\kappa=0.77$ ; 95% CI 0.68-0.85). hc2 and cobas 4800 were both positive for 53 specimens (**Table 1**); by LA, 52 were HR HPV positive and 1 was low risk (LR) HPV (CP6108). Of the 724 hc2/cobas 4800 negative specimens, by LA, 714 were negative or had only LR HPV; however, 3 were HPV 16, 1 was HPV 18 and

Table 1	Qiagen hc2		
		+	-
Roche cobas 4800	+	53	14
	-	15	724

6 were other HR HPV (non-HPV 16 or 18). Overall, 15 specimens were hc2 positive/cobas 4800 negative and 14 were hc2 negative/cobas 4800 positive; LA results for these discordant specimens are shown in **Table 2**. The majority of the discordant specimens displayed signals close to their respective assay detection threshold. Of the HR HPV genotypes detected by LA, cobas 4800 was positive for 17/20 (85.0%) HPV 16; 6/7 (85.7%) HPV 18; and 41/49 (83.7%) other HR HPV; overall genotype agreement between LA and cobas 4800 was 84.2%. An additional 2,000 specimens will be tested over the next month.

**Conclusions:** Agreement between the hc2 and cobas 4800 results was high. Based on LA as a reference standard, the hc2 test had more false positive HR HPV detections than cobas 4800, and cobas 4800 detected more HR HPV than hc2.

<sup>1</sup>BC Cancer Agency, Vancouver, BC, Canada; <sup>2</sup>Faculty of Medicine, University of British Columbia, Vancouver, BC, Canada; <sup>3</sup>BC Centre for Disease Control, Vancouver, BC, Canada; <sup>4</sup>Division of Cancer Epidemiology, McGill University, Montreal, QC, Canada.

Table 2 Linear Array Results for Discordant hc2/cobas 4800 Specimens		
	N	Linear Array
hc2 + /cobas 4800 -	15	7 HPV negative; 6 LR HPV; 2 HR HPV (non-HPV 16 or 18)
hc2 - /cobas 4800 +	14	5 HPV 16; 1 HPV 18; 1 HPV 16 and 51; 7 HR HPV (non-HPV 16 or 18)

# 18 a 21 de Maio de 2011, Congresso Brasileiro de DST-AIDS em Curitiba

## Caros Colegas,

É com imenso prazer que damos as boas vindas à cidade de Curitiba e convidamo-los para que, no período de 18 a 21 de maio, durante a realização do VIII Congresso da Sociedade Brasileira de DST e do IV Congresso Brasileiro de AIDS, agendem-se para estarem conosco.

Nesta edição, destes já tradicionais congressos, uma excelente notícia se apresenta: com o intuito de aumentar a participação na América Latina, a IUSTI (*International Union against Sexually Transmitted Infections* – União Internacional contra as Infecções de Transmissão Sexual), entidade mundialmente reconhecida na batalha contra estas infecções, será nossa parceira, realizando juntamente o I Congresso da Associação Latino-Americana e Caribenha para o Controle das DST (ALAC) e IUSTI Latino-Americana. Desta forma, teremos, além dos especialistas brasileiros, colegas da América Latina e de outros locais do mundo. Já temos o compromisso de que os principais professores e membros da diretoria da IUSTI estarão conosco. Além disto, nossa parceria com o Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais tem-se tornado cada vez mais estreita, e com isto inúmeras discussões e rotinas de atendimento poderão ser implementadas pelos órgãos governamentais.

Curitiba é considerada uma cidade com excelente qualidade de vida, melhores níveis de segurança e durante o mês de maio apresenta agradáveis condições climáticas. E ainda tem-se tornado uma das cidades de melhor potencial turístico e mais visitadas do nosso País. Seus inúmeros parques e apelo ecológico fazem dela uma “cidade verde” e particularmente interessante para se visitar nesta época do ano.

Nossos congressos estão sendo preparados cuidadosamente, com programação prática, além de esmerado cunho

científico. Como tema central e em acordo com o que vem ocorrendo mundialmente, elegemos: “O IMPACTO DAS DST NA MULHER”. Tal fato se justifica não apenas pela frequência destas infecções no organismo feminino, como também pelo aspecto oncogênico, por repercussões sobre a fertilidade, além de inúmeras consequências, quando associadas à gestação. O sonho da eliminação da sífilis congênita é uma prova desta situação.

Em nosso programa serão sugeridas algumas ações no sentido de implementar a luta contra estas afecções, e entre elas, citamos:

- tornar uma experiência de aprendizado mais acessível, com discussão de rotinas de diagnóstico e terapêutica;
- fomentar a pesquisa de forma integrada das áreas clínica e de ciência básica;
- reforçar as ações de Saúde Pública, sugerindo condutas para rastreamento e tratamento das principais infecções;
- propiciar ideias e incentivo a jovens investigadores, para que se interessem por esta causa.

Nesta premissa, as áreas de laboratório e testes diagnósticos, rastreamento, epidemiologia, clínica e terapêutica serão contempladas. Igualmente, as áreas de pesquisa e desenvolvimento, que promovem, dentre muitos avanços, o desenvolvimento de vacinas, como a contra a infecção pelo HPV e as pesquisas relativas às vacinas contra o HIV, deverão ser exploradas. Certamente, as atividades científicas deverão se associar a troca de experiências e momentos de descontração, que serão contemplados nas atividades sociais que estão sendo elaboradas.

Enfim, por tudo que estamos preparando, suas presenças certamente serão retribuídas com aprendizado e amizade. Curitiba e os curitibanos sentir-se-ão honrados em recebê-los e aguardamo-los em maio de 2011. Até lá!

*Newton Carvalho e Comissão Organizadora*

**Acesse: [www.dstaids2011.com.br](http://www.dstaids2011.com.br)**



**DST8 AIDS4**

VIII CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE DST  
IV CONGRESSO BRASILEIRO DE AIDS  
I CONGRESSO DA ALAC-DST / IUSTI LATINO-AMERICA

**CURITIBA PR - 18 A 21 DE MAIO DE 2011**

**"O impacto das DST na mulher"**



## 19<sup>th</sup> ISSTD 2011: The Québec City *Rendez-vous*

From July 10 to 13, 2011, Québec City will host the 19<sup>th</sup> Biennial meeting of the International Society for Sexually Transmitted Diseases Research on the theme of From research to intervention: successes and challenges.

The Conference will take place in the Québec City Convention Centre located in the heart of the city across from the Parliament Building, and just a few steps from tourist attractions. The facilities are comfortable and modern, and the Centre boasts leading-edge equipment, spacious exhibit halls and impeccable service.

The Conference is being held during the Québec City Summer Festival. Over the past 40 years, the Québec City Summer Festival has put on hundreds of exciting and varied shows and concerts, making it Canada's biggest outdoor artistic event. With more than 300 shows in 11 days, the excitement that builds in the heart of Québec City is contagious. It's a must!

### ABOUT THE CONFERENCE

Opinion leaders, researchers and clinicians from around the world provide leadership in STI/HIV prevention, diagnosis and treatment. The ISSTD Québec 2011 will bring them together to share their latest research results, innovation, good practice and expertise.

As the theme of the conference is "From research to intervention: successes and challenges", many sessions

at the conference will focus on the use of research results to inform the implementation of better and more efficient clinical and public health practices. The meeting will also focus on rigorous scientific evaluation of clinical and preventive interventions and will emphasize what work best in these fields.

Five main tracks will guide the preparation of the scientific program.

1. Epidemiology track
2. Social and behavioral aspects of prevention track
3. Clinical sciences track
4. Basic sciences track
5. Health services and policy track

### KEY DATES

- Early Bird registration:  
From December 1, 2010 to April 22, 2011
- Call for abstracts:  
From December 1, 2010
- Deadline to submit an abstract:  
February 21, 2011
- Notice of acceptance or rejection of abstracts:  
April 13, 2011
- Standard registration:  
From April 23 to June 9, 2011



# NORMAS DE PUBLICAÇÃO – INSTRUÇÕES AOS AUTORES

O Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis (DST - J bras Doenças Sex Transm ISSN 0103-4065), publicação trimestral de Divulgação Científica da Sociedade Brasileira de Doenças Sexualmente Transmissíveis, da Associação Latino-Americana e Caribenha para o Controle das DST, da União Internacional Contra Infecções de Transmissão Sexual (para a América Latina) e do Setor de Doenças Sexualmente Transmissíveis da Universidade Federal Fluminense, é dirigida a profissionais que atuam na área de DST/aids: infectologistas, dermatologistas, urologistas, obstetras, ginecologistas e profissionais de áreas afins, com o propósito de publicar contribuições originais submetidas à análise e que versem sobre temas relevantes no campo das DST/HIV-aids e áreas correlatas. É aberta a contribuições nacionais e internacionais. Na seleção dos manuscritos para publicação, avaliam-se a originalidade, a relevância do tema e a qualidade da metodologia científica utilizada, além da adequação às normas editoriais adotadas pela revista. Todos os manuscritos submetidos à revista serão revisados por dois ou mais pareceristas anônimos e o sigilo é garantido em todo o processo de revisão. **O material referente a Artigos recusados não será devolvido.**

O conteúdo do material enviado para publicação não poderá ter sido publicado anteriormente, nem submetido para publicação em outras revistas. Para serem publicados em outras revistas, ainda que parcialmente, necessitarão de aprovação por escrito dos Editores. Cópias dos pareceres dos revisores serão enviadas aos autores. Os manuscritos aceitos e os aceitos condicionalmente serão enviados para os autores para que sejam efetuadas as modificações e para que os mesmos tomem conhecimento das alterações a serem introduzidas no processo de edição. Os autores deverão retornar o texto com as modificações solicitadas, devendo justificar na carta de encaminhamento, se for o caso, o motivo do não atendimento de sugestões. Não havendo retorno do trabalho após 6 meses, considerar-se-á que os autores não têm mais interesse na publicação.

Os conceitos e declarações contidos nos trabalhos são de total responsabilidade dos autores. O manuscrito enviado para publicação deve ser redigido em português, inglês ou espanhol, e deve se enquadrar em uma das diferentes categorias de artigos da revista.

## Instruções para autores

As normas que se seguem foram baseadas no formato proposto pelo *International Committee of Medical Journal Editors* e publicado no artigo: *Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*, que foi atualizado em outubro de 2004 e está disponível no endereço eletrônico <http://www.icmje.org/>.

### Seções da revista

1. *Artigos originais*: completos prospectivos, experimentais ou retrospectivos. Manuscritos contendo resultados de pesquisa clínica ou experimental original terão prioridade para publicação.
2. *Notas prévias*: de trabalhos em fase final de coleta de dados, mas cujos resultados sejam relevantes e justifiquem sua publicação.
3. *Relatos de casos*: de grande interesse e bem documentados do ponto de vista clínico e laboratorial.
4. *Novas técnicas*: apresentação de inovações em diagnóstico, técnicas cirúrgicas e tratamentos, desde que não sejam, clara ou veiadamente, propaganda de drogas ou outros produtos.
5. *Artigos de revisão e atualização*, incluindo avaliação crítica e sistematizada da literatura, devendo descrever os procedimentos

- adotados, a delimitação e os limites do tema, apresentar conclusões e referências, podendo incluir metanálises. Devem ser atualizados.
6. *Comentários editoriais*, quando solicitados a membros do Conselho Editorial.
7. *Resumos de teses* apresentadas e aprovadas nos últimos 12 meses, contados da data do envio do Resumo (ver instruções para resumo de teses em “Preparo do Manuscrito”). Deverão conter aproximadamente 250 palavras e seguir as normas habituais quanto à forma e ao conteúdo, incluindo no mínimo três palavras ou expressões-chave. O resumo deve ser enviado em CD com uma cópia impressa. Em arquivo separado, apresentar: nome completo do autor e do orientador; membros da banca; data de apresentação e a identificação do Serviço ou Departamento onde a Tese foi desenvolvida e apresentada.
8. *Cartas ao editor*, versando sobre matéria editorial ou não. As cartas poderão ser resumidas pela editoria, mas com manutenção dos pontos principais. No caso de críticas a trabalhos publicados, a carta será enviada aos autores para que sua resposta possa ser publicada simultaneamente.
9. *Informes técnicos* de órgãos do serviço público que discorram sobre assuntos de grande interesse em saúde pública e ligados às questões de DST/HIV-aids.

## Informações gerais

1. Os trabalhos devem ser digitados em espaço 2 em todas as seções, da página de rosto às referências, tabelas e legendas. Cada página deve conter aproximadamente 25 linhas em uma coluna. Usar preferencialmente o processador de texto Microsoft Word® e a fonte Times New Roman 12. Não dar destaque a trechos do texto: não sublinhar e não usar negrito. Numerar todas as páginas, iniciando pela página de rosto.
2. Não usar maiúsculas nos nomes próprios (a não ser a primeira letra) no texto ou nas referências bibliográficas. Não utilizar pontos nas siglas (OMS em vez de O.M.S.). Quando usar siglas, explicá-las na primeira vez que surgirem.
3. Para impressão, utilize folhas de papel branco, deixando espaço mínimo de 2,5 cm em cada margem. Inicie cada uma das seções em uma nova página: página de rosto; resumo e palavras ou palavras-chave; *abstract e keywords*; texto; agradecimentos; referências bibliográficas; tabelas individuais e legendas das figuras não digitadas.
4. A revista não aceitará material editorial com objetivos comerciais.
5. O autor será informado, por carta ou por correio eletrônico, do recebimento dos trabalhos e o seu número de protocolo na Revista. Os trabalhos que estiverem de acordo com as Normas de Publicação - Instruções para Autores e enquadrarem-se na política editorial da Revista serão enviados para análise por dois revisores indicados pelo Editor.
6. O número de autores de cada manuscrito fica limitado a nove. Trabalhos de autoria coletiva (institucionais) deverão ter os responsáveis especificados. Trabalhos do tipo colaborativo e estudos multicêntricos deverão ter como autores os investigadores responsáveis pelos protocolos aplicados (no máximo sete). Os demais colaboradores poderão ser citados na seção de agradecimentos ou como “Informações Adicionais sobre Autoria”, no fim do artigo. O conceito de coautoria é baseado na contribuição substancial de cada um, seja para a concepção e o planejamento do trabalho, a análise e interpretação dos dados, ou para a redação ou revisão crítica do texto. A inclusão de nomes cuja contribuição



não se enquadre nos critérios citados não DST – J bras Doenças Sex Transm 2008; 20(1): 66-68 NORMAS DE PUBLICAÇÃO – INSTRUÇÕES AOS AUTORES justificável. Todos os autores deverão aprovar a versão final a ser publicada.

7. Conflito de interesses: devem ser mencionadas as situações que poderiam influenciar de forma inadequada o desenvolvimento ou as conclusões do trabalho. Entre estas situações estão a participação societária nas empresas produtoras de drogas ou equipamentos citadas ou empregadas no trabalho, assim como em concorrentes. São também consideradas fontes de conflito os auxílios recebidos, as relações de subordinação no trabalho, consultorias etc.
8. Deverá ser enviada a cópia do termo de aprovação do Comitê de Ética da Instituição onde foi realizado o trabalho, quando referente a pesquisas em seres humanos.
9. Para manuscritos originais, não ultrapassar 25 páginas de texto digitado. Limitar o número de Tabelas e Figuras ao necessário para apresentação dos resultados que serão discutidos (como norma geral, limitar a cinco). Para manuscritos do tipo Relato de Caso e Equipamentos e Técnicas, não ultrapassar 15 páginas, reduzindo também o número de figuras e/ou tabelas. As Notas Prévias deverão ser textos curtos com até 800 palavras, cinco referências e duas ilustrações (ver preparo do manuscrito – resultados).
10. Os originais em desacordo com essas instruções serão devolvidos aos autores para as adaptações necessárias, antes da avaliação pelo Conselho Editorial.
11. As cópias dos manuscritos devem vir acompanhadas de carta de encaminhamento assinada por todos os autores. Nesta, deve ficar explícita a concordância com as normas editoriais, com o processo de revisão e com a transferência de *copyright* para a Revista. O material publicado passa a ser propriedade do Jornal Brasileiro de DST, só podendo ser reproduzido, total ou parcialmente, com a anuência desta entidade.
12. Enviar CD devidamente identificado com o arquivo contendo texto, tabelas, gráficos e as legendas de outras figuras (fotos). Encaminhar também três cópias impressas do manuscrito. O envio por correio eletrônico deve ser feito quando solicitado pela editoria para o trabalho completo ou partes do mesmo após a revisão.

### Envio do manuscrito e da versão final

Os documentos deverão ser enviados para:

**Mauro Romero Leal Passos, Sociedade Brasileira de DST–AMF Avenida Roberto Silveira, 123, Icarai, Niterói, RJ – Brasil. CEP: 24230-150.**

### Itens para conferência do manuscrito

Antes de enviar o manuscrito, confira se as Instruções aos autores foram seguidas e verifique o atendimento dos itens listados a seguir:

1. Carta de encaminhamento assinada por todos os autores.
2. Citação da aprovação do projeto do trabalho por Comissão de Ética em Pesquisa (na Seção Paciente e Métodos).
3. Conflito de interesses: quando aplicável, deve ser mencionado, sem omissão de informações relevantes.
4. Página de rosto com todas as informações solicitadas.
5. Resumo e *Abstract* estruturados e compatíveis com o texto do trabalho.
6. Três ou mais palavras-chave relacionadas ao texto e respectivas *keywords*.
7. CD contendo arquivo com o texto integral, tabelas e gráficos, e corretamente identificado.
8. Tabelas e Figuras: todas corretamente citadas no texto e numeradas. As legendas permitem o entendimento das Tabelas e das Figuras.

9. Fotos devidamente identificadas e anexadas à correspondência.
10. Referências: numeradas na ordem de aparecimento no texto e corretamente digitadas. Todos os trabalhos citados estão na lista de Referências e todos os listados estão citados no texto.

### Preparo do manuscrito

**Página de rosto.** Apresentar o título do trabalho em português e em inglês; nomes completos dos autores sem abreviaturas; nome da Instituição onde o trabalho foi desenvolvido, afiliação institucional dos autores, informações sobre auxílios recebidos sob forma de financiamento, equipamentos ou fornecimento de drogas. Indicar o nome, endereço, telefone, fax e correio eletrônico do autor para o qual a correspondência deverá ser enviada.

**Resumo do trabalho na segunda página.** Para trabalhos completos, redigir um resumo estruturado que deverá ser dividido em seções identificadas: **Introdução, Objetivos, Métodos, Resultados e Conclusão.** Deverá ter aproximadamente 250 palavras. O resumo deverá conter as informações relevantes, permitindo ao leitor ter uma ideia geral do trabalho. Deverá incluir descrição resumida dos métodos e da análise estatística efetuada. Expor os resultados numéricos mais relevantes, não apenas a indicação da significância estatística encontrada. As conclusões devem ser baseadas nos resultados do trabalho e não da literatura. Evitar o uso de abreviações e símbolos. Não citar referências bibliográficas no Resumo.

Na mesma página do Resumo, citar pelo menos três palavras-chave que serão empregadas para compor o índice anual da Revista. Deverão ser baseadas no DeCS (Descritores em Ciências da Saúde) publicado pela Bireme que é uma tradução do MeSH (*Medical Subject Headings*) da *National Library of Medicine* (disponível no endereço eletrônico: <http://decs.bvs.br>).

Em outra página deve ser impresso Abstract como versão fiel do texto do Resumo estruturado (*Introduction, Objectives, Methods, Results, Conclusion*). Deve ser também acompanhado da versão para o inglês das palavras-chave (*Keywords*). O Resumo de Casos Clínicos não deve ser estruturado e será limitado a 100 palavras. Para Notas Prévias, não há necessidade do Resumo.

**Introdução:** repetir no topo da primeira página da introdução o título completo em português e inglês. Nessa seção, mostre a situação atual dos conhecimentos sobre o tópico em estudo, divergências e lacunas que possam eventualmente justificar o desenvolvimento do trabalho, mas sem revisão extensa da literatura. Para Relatos de Casos, apresentar um resumo dos conhecimentos a respeito da condição relatada e uma justificativa para a apresentação como caso isolado. Exponha claramente os objetivos do trabalho.

**Métodos:** iniciar esta seção indicando o planejamento do trabalho: se prospectivo ou retrospectivo; ensaio clínico ou experimental; se a distribuição dos casos foi aleatória ou não etc. Descrever os critérios para seleção das pacientes ou grupo experimental, inclusive dos controles. Identifique os equipamentos e reagentes empregados. Se a metodologia aplicada já tiver sido empregada anteriormente, dê as referências, além da descrição resumida do método. Descreva também os métodos estatísticos empregados e as comparações para as quais cada teste foi empregado. É imprescindível a menção à aprovação do projeto pela Comissão de Ética em Pesquisa da Instituição onde o trabalho foi executado. Os trabalhos que apresentem como objetivo a avaliação da eficácia ou tolerabilidade de tratamento ou droga devem, necessariamente, incluir grupo-controle adequado. Para informações adicionais sobre o desenho de trabalhos deste tipo, consultar *ICH Harmonized Tripartite Guideline – Choice of Control Group and Related Issues in Clinical Trials* ([http://www.hc-sc.gc.ca/hpfb-dgpsa/tpd-dpt/e10\\_e.html](http://www.hc-sc.gc.ca/hpfb-dgpsa/tpd-dpt/e10_e.html)).

**Resultados:** apresentar os resultados em sequência lógica, com texto, tabelas e figuras. Apresente os resultados relevantes para o objetivo do trabalho e que serão discutidos. Não repita no texto dessa seção todos os dados das Tabelas e Figuras, mas descreva e enfatize os mais importantes sem interpretação dos mesmos. Nos Relatos de Caso as seções Métodos e Resultados serão substituídas pela descrição do caso, mantendo-se as demais.

**Discussão:** devem ser realçadas as informações novas e originais obtidas na investigação. Não repetir dados e informações já mencionados nas seções Introdução e Resultados. Evitar citação de tabelas e figuras. Ressaltar a adequação dos métodos empregados na investigação. Compare e relacione as suas observações com as de outros autores, comentando e explicando as diferenças que ocorrerem. Explique as implicações dos achados, suas limitações e faça as recomendações decorrentes. Para Relatos de Casos, basear a discussão em ampla e atualizada revisão da literatura. Eventualmente, tabular informações coletadas da literatura para comparação.

**Agradecimentos:** dirigidos a pessoas que tenham colaborado intelectualmente, mas cuja contribuição não justifique coautoria, ou para os que tenham dado apoio material.

**Referências (Modelo Vancouver):** todos os autores e trabalhos citados no texto devem constar dessa seção e vice-versa. Numere as referências por ordem de entrada no trabalho e use esses números para as citações no texto. Evite número excessivo de referências bibliográficas, selecionando as mais relevantes para cada afirmação, dando preferência para os trabalhos mais recentes. Não empregue citações de difícil acesso aos leitores da Revista, como resumos de trabalhos apresentados em congressos ou outras publicações de circulação restrita. Não empregue referências do tipo “observações não publicadas” e “comunicação pessoal”. Artigos aceitos para publicação podem ser citados acompanhados da expressão: aceito e aguardando publicação, ou *in press*, indicando-se o periódico. Para citações de outras publicações dos autores do trabalho, selecionar apenas os originais (não citar capítulos ou revisões) impressos em periódicos com revisão e relacionados ao tema em questão. O número de referências bibliográficas deverá ser limitado a 25. Para Notas Prévias, no máximo dez. Os autores são responsáveis pela exatidão dos dados constantes das referências bibliográficas. Para todas as referências, citar todos os autores até seis. Se houver mais de seis autores, citar os seis primeiros, seguidos da expressão et al., conforme os seguintes modelos:

#### **Artigos em revistas**

##### **• Formato impresso:**

Teixeira JC, Derchain SFM, Teixeira, LC, Santos CC, Panetta K, Zeferino LC. Avaliação do parceiro sexual e risco de recidivas em mulheres tratadas por lesões genitais induzidas por Papilomavírus Humano (HPV). *BRGO* 2002; 24(5): 315-320.

Barreto NA, Sant’anna RRP, Silva LBG, Uehara AA, Guimarães RC, Duarte IMD et al. Caracterização fenotípica e molecular de *Neisseria gonorrhoeae* isoladas no Rio de Janeiro, 2002-2003. *DST - J bras Doenças Sex Transm* 2004; 16(3): 32-42.

##### **• Formato eletrônico:**

Cabar FR, Nomura RMY, Costa LCV, Alves EA, Zugaib M. Cesárea prévia como fator de risco para o descolamento prematuro da placenta. *Rev Bras Ginecol Obstet*. [periódico na Internet]. 2004 Out [citado 2005 Mar 19]; 26(9):[cerca de 15 telas]. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-72032004000900006&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-72032004000900006&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt) Acessado em: 10/07/2007.

Kremer LCM, Caron HN. Anthracycline cardiotoxicity in children [perspective]. *N Engl J Med* [serial on the Internet]. 2004 Jul [cited 2004 Sep 29];351(2):[about 2 p.]. Available from: <http://gateway.ut.ovid.com/gw1/ovidweb.cgi>.

#### **Livro:**

Tavares W, Marinho LAC. Rotinas de diagnóstico e tratamento das doenças infecciosas e parasitárias. São Paulo: Editora Atheneu; 2005.

Tavares W. Manual de antibióticos e quimioterápicos anti-infecciosos. 3ª. Ed. São Paulo: Editora Atheneu; 2001.

##### **• Capítulos de livro:**

Duarte G. DST durante a gravidez e puerpério. In: Passos MRL. *Deesetologia, DST 5*. 5ª. Ed. Rio de Janeiro: Editora Cultura Médica; 2005. p. 685-706.

**Citação de sites em formato eletrônico:** apenas para informações estatísticas oficiais. Indicar a entidade responsável, o endereço eletrônico e o nome do arquivo ou a entrada. Incluir data e hora do acesso com o qual foram obtidas as informações citadas.

**Tabelas:** imprimir cada tabela em folha separada, com espaço duplo e letra Arial 8. A numeração deve ser sequencial, em algarismos arábicos, na ordem em que foram citadas no texto. Todas as tabelas deverão ter título, e todas as colunas da tabela devem ser identificadas com um cabeçalho. A legenda deverá conter informações que permitam ao leitor entender o conteúdo das tabelas e figuras, mesmo sem a leitura do texto do trabalho. As linhas horizontais devem ser simples e limitadas a duas no topo e uma no final da tabela. Não empregar linhas verticais. Não usar funções de criação de tabelas, comandos de justificação, tabulações decimais ou centralizadas. Utilizar comandos de tabulação (tab) e não o espaçador para separar as colunas, e para nova linha, a tecla enter. No rodapé da tabela deve constar legenda para abreviaturas e testes estatísticos utilizados.

**Figuras (gráficos, fotografias e ilustrações):** as figuras deverão ser impressas em folhas separadas e numeradas sequencialmente, em algarismos arábicos, conforme a ordem de aparecimento no texto. Todas as figuras poderão ser em preto e branco ou coloridas, com qualidade gráfica adequada, e apresentar título em legenda, digitados em letra Arial 8. No CD, devem ser enviadas em arquivo eletrônico separado do texto (a imagem aplicada no processador de texto não indica que o original está copiado). Para evitar problemas que comprometam o padrão da Revista, o processo de digitalização de imagens (*scan*) deverá obedecer aos seguintes parâmetros: para gráficos ou esquemas, usar 800 dpi/bitmap para traço; para ilustrações e fotos, usar 300 dpi/CMYK ou *grayscale*. Em todos os casos, os arquivos deverão ter extensão .tif e/ou .jpg. No caso de não ser possível a entrega do arquivo eletrônico das figuras, os originais devem ser enviados em impressão a *laser* (gráficos e esquemas) ou papel fotográfico para que possam ser devidamente digitalizadas. Também serão aceitos arquivos com extensão .xls (Excel), .cdr (CorelDraw), .eps, .wmf para ilustrações em curva (gráficos, desenhos, esquemas). Serão aceitas, no máximo, cinco figuras. Se as figuras já tiverem sido publicadas em outro local, deverão vir acompanhadas de autorização por escrito do autor/editor e constando a fonte na legenda da ilustração.

**Legendas:** imprimir as legendas usando espaço duplo, acompanhando as respectivas figuras (gráficos, fotografias e ilustrações) e tabelas. Cada legenda deve ser numerada em algarismos arábicos, correspondendo a cada figura e tabela, e na ordem que foram citadas no trabalho.

**Abreviaturas e siglas:** devem ser precedidas do nome completo quando citadas pela primeira vez no texto. Nas legendas das tabelas e figuras, devem ser acompanhadas de seu nome por extenso. As abreviaturas e figuras devem ser acompanhadas de seu nome por extenso. As abreviaturas e siglas não devem ser usadas no título dos artigos, nem no resumo.

# ÍNDICE REMISSIVO - VOLUME 22; 2010

## NÚMERO 1

DST, HPV E EQUIDADE NA ATENÇÃO PÚBLICA, CONTINUANDO.....	3
<i>Mauro Romero L Passos</i>	
STD, HPV AND EQUITY IN PUBLIC ATTENTION, CONTINUING.....	5
<i>Mauro Romero L Passos</i>	
EM UM SERVIÇO DE ASSISTÊNCIA ESPECIALIZADA.....	7
<i>INICIAL IMMUNOVIROLOGIC ASSESSMENT OF PATIENTS WITH HIV/AIDS AT A SPECIALIZED ASSISTANCE SERVICE</i>	
<i>Alberto Saraiva Tibúrcio</i>	
ALTERAÇÕES PANCREÁTICAS RELACIONADAS À SÍNDROME DA IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA NA INFÂNCIA.....	10
<i>PANCREATIC CHANGES RELATED TO AIDS IN CHILDREN</i>	
<i>João Paulo L Daher, Analúcia R Xavier, Luciene C Cardoso, Licínio E Silva, Salim Kanaan, Vânia Glória S Lopes</i>	
SUPERINFECÇÃO PELO HIV-1: UM ABREVIADO DA LITERATURA.....	16
<i>HIV-1 SUPERINFECTION: A BRIEF LITERATURE REVISION</i>	
<i>Alberto Saraiva Tibúrcio, Roberto S Salles, Felipe DL Passos</i>	
CANDIDÍASE.....	22
<i>CANDIDIASIS</i>	
<i>Leonardo S Barbedo &amp; Diana BG Sgarbi</i>	
ADENOCARCINOMA DE CÉLULAS GLASSY DE COLO DE ÚTERO EM PACIENTE JOVEM COM HPV: RELATO DE CASO.....	39
<i>GLASSY CELLS ADENOCARCINOMA OF THE UTERINE CERVIX IN YOUNG PATIENT WITH HPV: CASE REPORT</i>	
<i>Thais RS Martins, Leandro F Araújo, Luna M Marangon, Vinícius JC Carvalho, Rodrigo S Sampaio, Andrea LC Monnerat, Rosana G Ramos, Renato S Bravo, Mauro Romero L Passos</i>	
<i>GLASSY CELLS ADENOCARCINOMA OF THE UTERINE CERVIX IN YOUNG PATIENT WITH HPV: CASE REPORT.....</i>	42
<i>ADENOCARCINOMA DE CÉLULAS GLASSY DE COLO DE ÚTERO EM PACIENTE JOVEM COM HPV: RELATO DE CASO</i>	
<i>Thais RS Martins, Leandro F Araújo, Luna M Marangon, Vinícius JC Carvalho, Rodrigo S Sampaio, Andrea LC Monnerat, Rosana G Ramos, Renato S Bravo, Mauro Romero L Passos</i>	

## NÚMERO 3

HISTÓRIA NATURAL DO HPV EM HOMENS: O QUE SABEMOS? O QUE FALTA APRENDER?.....	115
<i>NATURAL HISTORY OF HPV IN MEN: WHAT DO WE KNOW? WHAT REMAINS TO BE LEARN?</i>	
<i>Maria Luíza Baggio, Roberto José C Silva, Lenice Galan, Elimar Gomes, Luisa L Villa</i>	
ALTERAÇÕES NUTRICIONAIS E METABÓLICAS EM PACIENTES COM AIDS EM UM SERVIÇO DE TERAPIA ANTIRRETROVIRAL.....	118
<i>NUTRITIONAL AND METABOLIC CHANGES IN PATIENTS WITH AIDS IN ANTIRETROVIRAL THERAPY</i>	
<i>Maria Clara A Silva, Maria Goretti PA Burgos, Rafaella A Silva</i>	
COMPARAÇÃO DA COLETA DAS AMOSTRAS DE SANGUE NA TRIAGEM PRÉ-NATAL, UTILIZANDO O PAPEL DE FILTRO E PUNÇÃO VENOSA NA TÉCNICA DE ELISA PARA DETECÇÃO DE SÍFILIS.....	123
<i>COMPARISON OF THE COLLECTION OF BLOOD SAMPLES IN PRENATAL SCREENING, USING THE FILTER PAPER AND VENIPUNCTURE TECHNIQUE ELISA FOR THE DETECTION OF SYPHILIS</i>	
<i>Juan FB Gómez, Marco AO Appolinário, Antonio JW de Castro, Jordi Martí, Sidney Prates, Cristimar dos Santos, Áquila Oliveira</i>	
PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO POR CLAMÍDIA E GONOCOCO EM MULHERES ATENDIDAS NA CLÍNICA DE DST DA FUNDAÇÃO ALFREDO DAMATTA, MANAUS, AMAZONAS.....	129
<i>PREVALENCE OF CHLAMYDIA AND GONOCOCCAL INFECTION IN WOMEN ASSISTED IN THE CLINIC OF ALFREDO DA MATTA FOUNDATION, MANAUS, AMAZON</i>	
<i>Adele S Benzenken, Drielle N Sales, Jamile IL Palheta Junior, Valderiza L Pedrosa, Enrique G Garcia</i>	
PREVENÇÃO DO CÂNCER CERVICAL: ASSOCIAÇÃO DA CITOLOGIA ONCÓTICA A NOVAS TÉCNICAS DE BIOLOGIA MOLECULAR NA DETECÇÃO DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV).....	135
<i>CERVICAL CANCER PREVENTION: ASSOCIATION OF NEW TECHNIQUES OF MOLECULAR BIOLOGY WITH THE ONCOLOGIC CYTOLOGY IN DETECTION OF HUMAN PAPILOMAVIRUS (HPV)</i>	
<i>Márcia Elena Z Bringheni, Ticiano G Dozza, Tiago G Dozza, Toni Ricardo Martins, Maria Luíza Bazzo</i>	
PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO POR CHLAMYDIA TRACHOMATIS EM PARTURIENTES JOVENS ATENDIDAS EM UM AMBULATÓRIO DE SAÚDE PÚBLICA.....	141
<i>PREVALENCE OF CHLAMYDIA TRACHOMATIS AT PREGNANTS ADMITTED IN THE PUBLIC HEALTH MATERNITY</i>	
<i>Newton Sergio de Carvalho, Mariana G Pegoraro, Marcos Takimura, Fernando Cesar Oliveira Jr.</i>	
UPDATE IN THE HUMAN PAPILOMAVIRUS INFECTION PREVALENCE RATES AND RISK FACTORS ASSOCIATED WITH PENILE CANCER CASES.....	145
<i>ATUALIZAÇÃO NO CONHECIMENTO ACERCA DA PREVALÊNCIA DAS INFECÇÕES CAUSADAS PELOS PAPILOMAVÍRUS HUMANOS E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS AOS CASOS DE CÂNCER DE PÊNIS</i>	
<i>Larissa A Afonso, Elisabeth Dobao, Gilda Alves, Antônio Augusto Ornelas, Ledý HS Oliveira, Sílvia Maria B Cavalcanti</i>	
A IMPORTÂNCIA DE INCLUIR NEUROSSÍFILIS NO DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE PACIENTES COM DÉFICIT COGNITIVO E ALTERAÇÃO DO COMPORTAMENTO.....	152
<i>THE IMPORTANCE OF INCLUDING NEUROSYPHILIS IN THE DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF PATIENTS WITH COGNITIVE DECLINE AND BEHAVIOR DISTURBANCES</i>	
<i>Hilda Maria Pascoal, Camille P Tostes, Amanda B Peixoto, Camile P Figueira, Renata J Bortolini, Carolina M Torrado, José Augusto C Nery</i>	
PÁPULAS PERLÁCEAS PENIANAS: APRESENTAÇÃO CLÍNICA ATÍPICA EM CRIANÇA.....	153
<i>PEARLY PENILE PAPULE: ATYPICAL CLINICAL PRESENTATION IN A CHILD</i>	
<i>Amanda B Peixoto, Camille P Tostes, Hilda Maria PA Santos, Renata J Bortolini, Paula B Modesto, José Augusto C Nery</i>	
OS NÚMEROS REVELAM MAIS DO QUE SUPÕE NOSSA VÃ FILOSOFIA.....	155
<i>Alberto S Tibúrcio</i>	
IPV 2010 - MONTREAL 26 <sup>th</sup> INTERNATIONAL PAPILOMAVIRUS CONFERENCE (PART II).....	156

## NÚMERO 2

MUDANÇA DOS CRITÉRIOS QUALIS!.....	51
<i>Editores científicos brasileiros</i>	
CHANGE THE QUALIS CRITERIA!.....	54
<i>Brazilian scientific editors</i>	
UNCARIA TOMENTOSA IN THE TREATMENT OF THE HERPES LABIALIS: RANDOMIZED DOUBLE-BLIND TRIAL.....	57
<i>UNCARIA TOMENTOSA NO TRATAMENTO DE HERPES LABIAL: ESTUDO DUPLO-CEGO RANDOMIZADO</i>	
<i>Luiz QA Caldas, Beni Olej, Helvo Slomp, Margaret O Timóteo, Luiz G Velarde, Hélio Duarte, José LR Rosati, Silvana RF Moreno, Lívia Maria L Silva, Verônica de Paula do Destério, Fernanda M Valle, Thiago O Serra</i>	
PERCEPÇÃO DE ADOLESCENTES EM RELAÇÃO ÀS DOENÇAS SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS E MÉTODOS CONTRACEPTIVOS.....	60
<i>TEENAGERS' PERCEPTION ABOUT SEXUALLY TRANSMITTED DISEASES AND CONTRACEPTION</i>	
<i>Daniela P Lima, Ana Paula Dossi, Tânia AS Rovida, Renato M Arcieri, Cléa AS Garbin</i>	
HERPES GENITAL.....	64
<i>GENITAL HERPES</i>	
<i>Angelo M Penello, Bianca C Campos, Marcela S Simão, Michelle A Gonçalves, Pedro MT Souza, Roberto S Salles, Edilbert Pellegrini</i>	
TRICOMONÍASE VAGINAL: O QUE SE PASSA?.....	73
<i>VAGINAL TRICHOMONIASIS: WHAT IS UP?</i>	
<i>Renato S Bravo, Paulo C Giraldo, Newton S Carvalho, José Roberto E Gabiatti, Isabel CC Val, Helena Patricia D Giraldo, Mariana DL Passos</i>	
HERPES GENITAL VULVAR E USO TÓPICO DE UNCARIA TOMENTOSA: RELATO DE CASO.....	81
<i>UNCARIA TOMENTOSA AND TOPICAL USE IN GENITAL HERPES IN VULVA: CASE REPORT</i>	
<i>Mauro Romero L Passos, Mauro Geller, Nero A Barreto, Mariana DL Passos, Felipe DL Passos, Renata Q Varella</i>	
IPV 2010 - MONTREAL - CANADA - 26 <sup>th</sup> INTERNATIONAL PAPILOMAVIRUS CONFERENCE & CLINICAL AND PUBLIC HEALTH WORKSHOPS.....	94
DISTRIBUIÇÃO TEMPORAL DOS DIAGNÓSTICOS DE GONORRÉIA, SÍFILIS E TRICOMONÍASE EM UMA CLÍNICA DE DST EM NITERÓI - RJ: O CARNAVAL INFLUENCIA NO AUMENTO DAS DST?.....	107
<i>TEMPORAL DISTRIBUTION OF DIAGNOSES OF GONORRHEA, SYPHILIS AND TRICHOMONIASIS IN AN STD CLINIC IN NITEROI - RJ: THE CARNIVAL INFLUENCES ON THE INCREASE OF STDs?</i>	
<i>Wilma NC Arze</i>	

## NÚMERO 4

CARTA ABERTA À PRESIDENTA DILMA ROUSSEFF.....	185
<i>Mauro Romero Leal Passos</i>	
OPEN LETTER TO THE PRESIDENT DILMA ROUSSEFF.....	186
<i>Mauro Romero Leal Passos</i>	
COMENTÁRIO DE EDITORIAL.....	187
<i>Luisa Lina Vila</i>	
REFLEXÕES CRÍTICAS SOBRE OS TRÊS ERRES, OU OS PERIÓDICOS BRASILEIROS EXCLUÍDOS.....	188
<i>Maurício Rocha e Silva</i>	
COMPARAÇÃO DA COLETA DAS AMOSTRAS DE SANGUE NA TRIAGEM PRÉ-NATAL, UTILIZANDO O PAPEL DE FILTRO E PUNÇÃO VENOSA NA TÉCNICA DE ELISA PARA DETECÇÃO DE HIV 1+2.....	193
<i>COMPARISON OF THE COLLECTION OF BLOOD SAMPLES IN PRENATAL SCREENING, USING THE FILTER PAPER AND VENIPUNCTURE TECHNIQUE ELISA FOR THE DETECTION OF HIV 1+2</i>	
<i>Juan FB Gómez, Marco AO Appolinário, Dolores MF Abreu, Antonio JW Castro, Jordi Martí, Sidney Prates, Cristimar dos Santos</i>	
COMPORTAMENTO DE RISCO PARA HIV E DST ENTRE PROFESSORES UNIVERSITÁRIOS.....	199
<i>RISK BEHAVIOR TO STD AND HIV INFECTION AMONG UNIVERSITY PROFESSORS</i>	
<i>Bruna Jacobowski, Gustavo S Jung, Fabiana Schuelter-Trevioli</i>	
CONHECIMENTOS E PRÁTICAS DOS ADOLESCENTES DA CAPITAL DE MATO GROSSO QUANTO ÀS DST/AIDS.....	206
<i>KNOWLEDGE AND PRACTICES OF THE ADOLESCENTS OF THE CAPITAL OF MATO GROSSO IN RELATION TO STD/AIDS</i>	
<i>Amanda P Carleto, Cleberon S Faria, Christine BG Martins, Solange PS Souza, Karla F Matos</i>	
PREVALÊNCIA DE CONDILOMA ACUMINADO NO MUNICÍPIO DE CAMPO GRANDE - MATO GROSSO DO SUL, NO PERÍODO DE 2006 A 2009.....	212
<i>PREVALENCE OF GENITAL WARTS IN CAMPO GRANDE - MATO GROSSO DO SUL IN THE PERIOD 2006 TO 2009</i>	
<i>Tassiana E Simão, Estêvão B Cruz, Thalita E Simão</i>	
AValiação clínica da UNCARIA TOMENTOSA NO TRATAMENTO E CONTROLE DE LESÕES DECORRENTES DE INFECÇÃO PELO VÍRUS HERPES SIMPLEX.....	215
<i>CLINICAL EVALUATION OF UNCARIA TOMENTOSA IN THE TREATMENT AND CONTROL OF LESIONS CAUSED BY HERPES SIMPLEX INFECTION</i>	
<i>Carlos Gama, Mariana Passos, Rafael Varella, Ricardo Lasmaz, Gustavo Gama, Lisa Oliveira, João Daher, Mauro Geller</i>	
CONDILOMA ANAL GIGANTE: RELATO DE CASO.....	222
<i>GIANT CONDYLOMA ACUMINATUM: A CASE REPORT</i>	
<i>Natasha Ganem, Beatriz Silva, Maria Nascimento, Alberto Tibúrcio, Leonardo Motta, Marcelo Lyra, Rodrigo Mesquita, Jilão Gama, Mônica Almeida</i>	
RECUPERAÇÃO COMPLETA DA DOENÇA DE PAGET EXTRAMAMÁRIA RECORRENTE DA VULVA (DPEMV-V) APÓS TRATAMENTO COM IMIQUIMODO.....	225
<i>FULL RECOVERY OF RECURRENT EXTRAMAMMARY PAGET'S DISEASE OF THE VULVA (REMPV-V) AFTER IMIQUIMOD TREATMENT</i>	
<i>Nelson Vespa Jr, Andre Aguiar, Ronaldo Costa, Elza Fukazawa, Gabriel Souza, Francisco Coelho, Soraita Mercado, Cintia Osório</i>	
IPV 2010 - MONTREAL 26 <sup>th</sup> INTERNATIONAL PAPILOMAVIRUS CONFERENCE (PART III).....	233



SBDST

# Sociedade Brasileira de Doenças Sexualmente Transmissíveis

## Ficha de Sócio

Nome: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Cidade: \_\_\_\_\_ Estado: \_\_\_\_\_ CEP: \_\_\_\_\_

Tel: ( ) \_\_\_\_\_ Fax: ( ) \_\_\_\_\_ E-mail: \_\_\_\_\_

CPF: \_\_\_\_\_ Carteira de Ident.: \_\_\_\_\_ CRM: \_\_\_\_\_

Instituição de Trabalho: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Cidade: \_\_\_\_\_ Estado: \_\_\_\_\_ CEP: \_\_\_\_\_

Tel: ( ) \_\_\_\_\_ Ramal: \_\_\_\_\_ Fax: ( ) \_\_\_\_\_

Cargo/Função: \_\_\_\_\_

Obs.: \_\_\_\_\_

**VALOR DA ANUIDADE: R\$ 100,00**

Assinatura: \_\_\_\_\_

### IMPORTANTE:

- Este valor inclui a assinatura do **DST-JBDST**, com direito a receber gratuitamente, em seu domicílio, todos os números publicados no período de sua anuidade (em geral 4 exemplares) e atividades científicas com preços especiais.
- Enviar **cheque nominal** e **cruzado** para a *Sociedade Brasileira de Doenças Sexualmente Transmissíveis* Av. Roberto Silveira, 123 - Icaraí - Niterói - RJ - CEP: 24230-150

• **Se residente em Estado que possui Regional, enviar o pagamento para a mesma:**

**ALAGOAS:** SBDST - AL - Rua Barão de Anadia, 5 - Centro, Maceió, AL - CEP: 57020-630 - A/C Dra. Cledna Bezerra

**AMAZONAS:** SBDST - AM - Rua Codajás, 24 - Cachoeirinha - Manaus - AM - CEP: 69065-130 - A/C Dr. José Carlos G. Sardinha

**BAHIA:** Av. Sete de Setembro 400 - Edifício Fundação Politécnica, Bloco B, Sala 62 - Salvador - BA - CEP: 40060-903 - A/C Dr. Roberto Dias Fontes

**CEARÁ:** SBDST - CE - Rua Carolina Sucupira, 770, aptº 202 - Aldeota - Fortaleza - CE - CEP: 60140-120 - A/C Dr. Ivo Castelo Branco Coêlho

**ESPÍRITO SANTO:** SBDST - ES - Rua Jair Andrade, 315 - Praia de Itapoã - Vila Velha - ES - CEP: 29101-700 - A/C Dra. Maria Angélica Espinosa

**GOIÁS:** SBDST - GO - Assoc. Méd. de Goiás, DPTO GO, Av. Mutirão, 2653 - Setor Marista - Goiânia - GO - CEP: 74155-020 - A/C Dra. Rosane Alves

**PARANÁ:** SBDST - SOGIPA - Rua Buenos Aires, 995, Curitiba - PR - CEP: 80250-070 - A/C Dr. Newton Sérgio de Carvalho

**PERNAMBUCO:** SBDST - PE - Rua Benfca, 352 - Madalena - Recife - PE - CEP: 50750-410 - A/C Dr. Carlos Alberto S. Marques

**RIO DE JANEIRO:** ADSTRJ - RJ - Av. Roberto Silveira, 123 - Icaraí - Niterói - RJ - CEP: 24230-150 - A/C Dr. Mauro Romero Leal Passos

**RIO GRANDE DO NORTE:** SDSTRN - Rua Raimundo Chaves, 1562, Res. West Park. BLV 84 Res. J 30. Candelária, Natal - RN - CEP: 59064-390 - A/C Dr. Jair Maciel

**RIO GRANDE DO SUL:** SBDST - RS - Av. Duque de Caxias, 250 - Pelotas, RS - A/C Dra. Mariângela Silveira

**RONDÔNIA:** ADSTRO - Rua Dom Pedro II, 637 s/409, Centro, Porto Velho, RO - CEP: 78900-000 - A/C Dr. Alberto Tibúrcio

**SÃO PAULO:** SBDST - SP - Rua. Don Francisco de Campos Barreto, 145, Campinas - SP - CEP: 13092-160 - A/C Dr. Paulo Giraldo