

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO EM ODONTOLOGIA COM ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM
CLÍNICA INTEGRADA
CATARINA DA MOTA VASCONCELOS BRASIL

**DETECÇÃO DO DNA-HERPESVÍRUS HUMANO 8 e DNA-
PAPILOMAVÍRUS HUMANO ENTRE PARCEIROS HETEROSSEXUAIS NÃO-
INFECTADOS PELO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA**

Recife – PE

2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO EM ODONTOLOGIA COM ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM
CLÍNICA INTEGRADA
CATARINA DA MOTA VASCONCELOS BRASIL

**DETECÇÃO DO DNA-HERPESVÍRUS HUMANO 8 e DNA-
PAPILOMAVÍRUS HUMANO ENTRE PARCEIROS HETEROSSEXUAIS NÃO-
INFECTADOS PELO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA**

Dissertação apresentada ao Programa da Pós-Graduação em Clínica Odontológica Integrada do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Clínica Odontológica Integrada.

Orientador: Prof. Dr. Jair Carneiro Leão

Recife –PE

2010

Brasil, Catarina da Mota Vasconcelos

Detecção do DNA-Herpessvírus humano 8 e DNA-Papilomavírus humano entre parceiros heterossexuais não-infectados pelo vírus da imunodeficiência humana / Catarina da Mota Vasconcelos Brasil. – Recife: O Autor, 2010.

73 folhas: il., fig., tab.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Odontologia, 2010.

Inclui bibliografia, anexos e apêndice.

1. Papilomavírus humano. 2. Herpesvírus oito.
3. Heterossexuais. 4. Reação em cadeia da polimerase I. Título.

616.97
616.925

CDU (2.ed.)
CDD (20.ed.)

UFPE
CCS2010-098

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR

Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR DA PÓS-GRADUAÇÃO

Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DIRETOR

José Thadeu Pinheiro

COORDENADOR DA PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Jair Carneiro Leão

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

MESTRADO EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA INTEGRADA

COLEGIADO

Alessandra Albuquerque T. Carvalho

Anderson Stevens Leônidas Gomes

Cláudio Heliomar Vicente da Silva

Carlos Menezes Aguiar

Geraldo Bosco Lindoso Couto

Jair Carneiro Leão

Jurema Freire Lisboa de Castro

Lúcia Carneiro de Souza Beatrice

Renata Cimões Jovino Silveira

SECRETARIA

Oziclere Sena de Araújo

**DETECÇÃO DO DNA-HERPESVÍRUS HUMANO 8 e DNA-
PAPILOMAVÍRUS HUMANO ENTRE PARCEIROS HETEROSSEXUAIS NÃO-
INFECTADOS PELO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA**

CATARINA DA MOTA VASCONCELOS BRASIL

DISSERTAÇÃO APROVADA EM:

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Alessandra Albuquerque T. Carvalho

Prof. Dr. Emanuel Sávio de Souza Andrade

Profa. Dra. Lúcia Carneiro de Souza Beatrice

Recife –PE

2010

Ata da 92ª Defesa de Dissertação do Curso de Mestrado em Odontologia com área de Concentração em Clínica Integrada do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 23 de fevereiro de 2010.

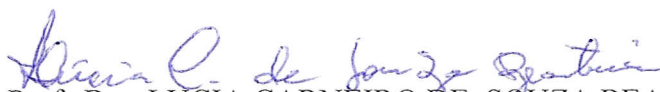
Às 09:00(nove horas) do dia 23 (Vinte e três) do mês de fevereiro do ano de dois mil e dez, reuniram-se no auditório do Curso de Pós Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco, os membros da Banca Examinadora, composta pelos professores: Profa. Dra. LUCIA CARNEIRO DE SOUZA BEATRICE , atuando como presidente, Prof.Dr .EMANUEL SAVIO DE SOUZA ANDRADE da FOP/UPE atuando como primeiro examinador. Prof. Dr. LUIZ ALCINO MONTEIRO GUEIROS, atuando como segundo examinador, para julgar o trabalho intitulado “ **HERPESVÍRUS HUMANO 8(HHV-8) E PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) ENTRE PARCEIROS**”, da mestranda CATARINA DA MOTA VASCONCELOS BRASIL, candidata ao Grau de Mestre em Odontologia, na Área de Concentração em CLINICA INTEGRADA, sob orientação do Prof.Dr. JAIR CARNEIRO LEÃO. Dando inicio aos trabalhos a Vice-Coordenadora do Programa de Pós Graduação em Odontologia Profa. Dra. LUCIA CARNEIRO DE SOUZA BEATRICE, abriu os trabalhos convidando os senhores membros para compor a Banca Examinadora, foram entregues aos presentes cópias do Regimento Interno do Curso de Mestrado em Odontologia, que trata dos critérios de avaliação para julgamento da Dissertação de Mestrado. A presidente da mesa após tomar posse conferiu os membros, seguindo convidou a CD. CATARINA DA MOTA VASCONCELOS BRASIL., para expor sobre o aludido tema, tendo sido concedido trinta minutos. A candidata expôs o trabalho e em seguida colocou-se a disposição dos Examinadores para arguição. Após o término da arguição os Examinadores reuniram-se em secreto para deliberações formais. Ao término da discussão, atribuíram a candidata os seguintes conceitos: Prof. Dr. EMANUEL SAVIO DE SOUZA ANDRADE (**APROVADA**), Prof .Dr. LUIZ ALCINO MONTEIRO GUEIROS,(**APROVADA**) Profa. Dra. LUCIA CARNEIRO DE SOUZA BEATRICE, (**APROVADA**), a candidata recebeu três conceitos (**APROVADA**) é considerada (**APROVADA**), devendo a candidata acatar as sugestões da Banca Examinadora de acordo com o Regimento Interno do Curso, face a aprovação, fica a candidata, apta a receber o Grau de Mestre em Odontologia, cabendo a Universidade Federal de Pernambuco através de sua Pró-Reitoria para Assuntos de Pesquisa e Pós



Graduação, tomar as providências cabíveis. Nada mais havendo a tratar, A Presidente da Banca Examinadora encerrou a sessão e para constar foi lavrada a presente ata que vai por mim assinada, Ozicleire Sena de Araújo e pelos demais componentes da Banca Examinadora e pela recém formada mestre pela UFPE, CATARINA DA MOTA VASCONCELOS BRASIL.



Recife, 23 de fevereiro de 2010.



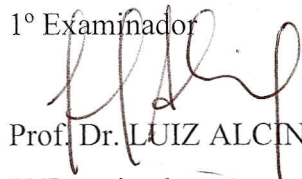
Profa.Dra. LUCIA CARNEIRO DE SOUZA BEATRICE

Presidente



Prof. Dr. EMANUEL SAVIO DE SOUZA ANDRADE

1º Examinador



Prof. Dr. LUIZ ALCINO MONTEIRO GUEIROS

2º Examinador

DEDICATÓRIA

Ao meu pai, **Ari Brasil** (*in memoriam*), por sempre me ensinar que nunca devemos desistir mesmo diante de obstáculos ditos intransponíveis, por me ensinar o valor de se viver bem a vida, por ter sido e ser minha inspiração.

Hoje, nossos corações são um só.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre me deixar fortalecida, permitir que eu chegasse a esse momento e vencesse as dificuldades e perdas, aos enfrentamentos sem que desistisse.

Ao meu marido, Waldemir Simões Borba Júnior, pela incansável paciência, companheirismo, presença, apoio, amor e dedicação durante todos esses anos. Eu te amo imensamente!

À minha mãe, Rosélia da Mota de Vasconcelos Brasil, pela constante presença, incentivo, educação, que contribui ainda para a minha formação pessoal e profissional. Eu te amo muito!

Ao meu irmão, Ari da Mota Vasconcelos Brasil, Arizinho, por me estimular a ir atrás dos meus sonhos, ser meu exemplo, meu orgulho, meu referencial. Eu te amo muito!

Ao meu orientador, Prof. Jair Carneiro Leão, meu sincero agradecimento por todo ensinamento durante esses anos, pela disponibilidade, por possibilitar um maior contato com a Estomatologia. Tanto que foram cinco períodos consecutivos de monitoria e mais dois anos de mestrado. Obrigada por tudo!

À Profa. Márcia Maria Barbosa Vendiciano Vasconcelos, que é a minha mãe acadêmica, por ter me acolhido com seu carinho e atenção. E por ter me apresentado a vida acadêmica durante a graduação.

Aos amigos e Profs. José Ricardo Dias Pereira e Fernando Luiz Tavares Vieira, por estarem presentes em momentos marcantes de minha vida, sempre apoiando. Obrigada pela força!

Ao Prof. Geraldo Bosco Lindoso Couto, por ser sempre atencioso e disponível.

Ao Prof. Claudio Heliomar Vicente da Silva, por ter ministrado o primeiro curso de Odontologia a partir do qual solidifiquei mais ainda com a minha escolha para com a Odontologia, mesmo antes de iniciar a graduação.

Aos colegas da graduação, em especial, as amigas, Claudia Cristina Brainer de Oliveira Mota, minha eterna dupla, Natalia de Rabelo Carvalho, Daéllia Carolina Clemente Estima, pela companhia de todos os dias e compartilhamento dos momentos, a Marília Cunha e Vanessa Santos Sá por me fazer conhecer uma verdadeira amizade.

À minha amiga, Uly Dias Nascimento Távora Cavalcanti, por todos os momentos alegres, pelos conselhos, pela certeza de uma amizade duradoura.

A minha amiga e companheira de laboratório, Talita Ribeiro Tenório de França, pela presença, apoio, incentivo e conhecimento repassado nesses últimos anos.

A minhas amigas Ana Tereza Teka Dantas, Thalita Arbusti, Kirlla Gomes Coimbra, Roberta Velez de Andrade, Mariana Dias Almeida, Taíze Batista Pereira, Érica Vírginia Batista Pereira, pela confiança e fidelidade.

A minha dupla de amigos Amélia Moraes Soares e Fábio Souza, pelos momentos divertidos.

A minha protetora, Francifátima Brasil, Rafa, por estar sempre presente em minha vida.

A voinha Zélia da Mota Pereira (*in memorian*) por sempre acreditar em mim, por me fazer uma pessoa melhor.

A todos de minha família, representados por Henrique Pereira Barros, por ter sido meu braço direito científico e pessoal. Por toda a biblioteca disponibilizada, por me proporcionar um desmaio com fins profissionais e a tio Zélio Antônio

Vasconcelos, por ter sido o meu primeiro paciente e ter aceitado naturalmente esse desmaio.

À toda família Borba e Oliveira, em especial, ao professor-primo Walter Simões Borba Júnior, por incentivo constante a sua prima 'protesista', pelos ouvidos disponibilizados, pelos momentos divertidos e pelo conhecimento repassado.

Ao amigo Joaquim Celestino, particularmente por me incentivar com sua história de vida.

À minha professora Mary Ann Saraiva Bezerra, por ter me estimulado com suas aulas a gostar da área da saúde.

À amiga, Camila Maria Beder Ribeiro, por todo esclarecimento e dedicação.

À toda equipe de Estomatologia da Universidade Federal de Pernambuco, em especial a Luiz Alcino Gueiros e Alessandra Carvalho, por todos os momentos de ciência juntos.

À equipe de Patologia Oral da Universidade Federal de Pernambuco, em especial a Professora Jurema Freire Lisboa de Castro, minha admiração e agradecimento por todo incentivo.

Às amigas Ana Micaeli Costa Ferreira e Marília Soares, pela amizade e atenção conquistada.

À Rita Maria Silva, a tia Rita, minha neguinha, por sempre me alegrar, fazer meu cafezinho... a senhora mora em meu coração!

À amiga Adeil Bezerra Leite, por todos os conselhos e presença.

Aos dentistas de Petrolina e Juazeiro, por todo apoio recebido.

Aos colegas de turma do mestrado Claudia Cristina Brainer de Oliveira Mota, Natalia Rabelo de Carvalho, Talita Ribeiro Tenório de França, Camila Lima de Andrade Arcoverde, Raphaela Juvenal Silva, Michellini Sedycias de Queiroz,

Klécio Alves, Felipe Bravo, Thaís Malheiros Chaves, Ana Luisa de Ataíde Mariz, Arnaldo Pereira, Daniela Mendes e Bruna Farias pela agradável convivência.

Aos funcionários da Pós Graduação em Odontologia, em especial a Oziclere, Ozizinha, por sempre estar firme, forte e disponível. A Tânia por sempre possibilitar o laboratório organizado e limpo.

Aos pacientes que participaram da pesquisa por sua colaboração.

À todas as pessoas que, de uma forma geral, contribuíram para a realização deste trabalho.

E para que meu esquecimento não permita que deixe de agradecer a ninguém, meu obrigada a todos.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS
LISTA DE TABELAS
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS
RESUMO
ABSTRACT
APRESENTAÇÃO
PRESENTATION

Artigo.....	21
Introdução.....	22
Materiais e Métodos.....	25
Resultados.....	30
Discussão.....	33
Conclusão.....	37
Referências.....	38
Figura 01.....	45
Figura 02.....	46
Figura 03.....	47
Tabela 01.....	48
Tabela 02.....	49
Tabela 03.....	50
Tabela 04.....	51
Tabela 05.....	52
Tabela 06.....	52
Tabela 07.....	53
Tabela 08.....	53
Tabela 09	54

Anexos.....	55
Parecer do comitê de ética e pesquisa da UFPE (CEP UFPE)...	56
Parecer do Comitê de Ética do HCP.....	57
Apêndices.....	58
Questionário parceiro.....	59
Questionário parceira.....	61
TCLE parceiro.....	65
TCLE parceira.....	66
Normas da Revista.....	67

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Nested HHV-8-DNA PCR com os *primers* KS1 e KS2 das amostras de pênis. L: Ladder; C+: Controle positivo; C-: Controle negativo; P8: amostra positivas para DNA-HHV-8. P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7, P9, P10, P11, P12, P13: amostras negativas DNA-HHV-8. A seta indica o tamanho do amplicon/fragmento amplificado (142 pb).

Figura 2. Nested HHV-8-DNA PCR com os *primers* KS1 e KS2 das amostras de boca. L: Ladder; C+: Controle positivo; C-: Controle negativo; B3 e B12: amostra positivas para DNA-HHV-8. B1, B2, B4, B5, B6, B7, B8, B9, B10, B11, B13: amostras negativas DNA-HHV-8. A seta indica o tamanho do amplicon/fragmento amplificado (142 pb).

Figura 3. Nested HHV-8-DNA PCR com os *primers* KS1 e KS2 das amostras de boca. L: Ladder; C+: Controle positivo; C-: Controle negativo; B6: amostra positivas para DNA-HHV-8. B1, B2, B3, B4, B5, B7, B8, B9, B10, B11, B12, B13, B14, B15, B16, B17, B18: amostras negativas DNA-HHV-8. A seta indica o tamanho do amplicon/fragmento amplificado (142 pb).

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Tabela 1. Análise descritiva e comparação de média das variáveis quantitativas segundo o sexo do indivíduo.

Tabela 2. Distribuição dos indivíduos do sexo masculino que relataram ter tido relação sexual com profissional do sexo.

Tabela 3 – Avaliação o resultado do HHV-8 segundo a faixa etária, sexo, cor da pele, escolaridade, idade da primeira relação sexual, número de parceiros sexuais na vida e número de parceiros sexuais no último ano

Tabela 4 – Distribuição dos pesquisados segundo os dados relacionados com a mulher.

Tabela 5 - Resultado da PCR para a detecção HPV-DNA.

Tabela 6 - Resultado da PCR para a detecção HHV-8-DNA.

Tabela 7 – Avaliação do resultado do HHV-8 (pênis) segundo o resultado do HPV (pênis).

Tabela 8 – Avaliação do resultado do HHV-8 (boca) segundo o resultado do HPV (boca).

Tabela 09 – Avaliação dos casos HPV (pênis, boca, vagina) segundo o resultado do HHV-8 (pênis e boca).

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

HPV – Human papillomavírus / Papilomavírus humano

HHV -8 – Human herpesvírus 8 / Herpesvírus Humano 8

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

OSCC – Oral Squamous Cell Carcinoma

DST – Doença Sexualmente Transmissível

DNA – Ácido desoxirribonucléico

DSTs – Doenças Sexualmente Transmissíveis

STD – Sexually Trasmitted Diseases

PCR – Polymerase Chain Reaction / Reação em Cadeia da Polimerase

MY09 – Primer consensus para amplificação de HPV DNA

MY11 - Primer consensus para amplificação de HPV DNA

KS1 - Primer consensus para amplificação de HHV-8 DNA

KS2 - Primer consensus para amplificação de HPV-8 DNA

P – Pênis

V – Vagina/colo uterino

B – Boca

AIDS- Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

KS- Sarcoma de Kaposi

RPM – Rotações por minuto

µL – Microlitros

Nal – Iodeto de Sódio

°C – Graus Celsius

pb – Pares de bases

MgCl₂ – Cloreto de Magnésio

dNTP – Desoxirribonucleotídeos trifosfatados

TBE – Tris-Borato EDTA

V – Volts

mA – Miliampers

UV – Ultra-Violeta

U – Unidades

NFW – Nuclease Free Water / Água livre de nuclease

DP – Desvio padrão

IC – Intervalo de confiança

p – Valor de P

% - percentual

CEC – Carcinoma de Células Escamosas

DIU – Dispositivo Intra-Uterino

HSH – Homem que faz Sexo com Homem

RESUMO

Introdução: O Papilomavírus Humano (HPV) e o Herpesvírus Humano-8 (HHV-8) podem influenciar na carcinogênese de lesões anogenitais e orofaríngeas na mulher e no homem. **Métodos:** A amostra foi de trinta e um casais heterossexuais. Foram avaliados condições sócio-econômicas, hábitos gerais e sexuais e história prévia de doenças sexualmente transmissíveis, seguido da coleta de esfregaço peniano de lesões malignas e/ou potencialmente malignas possivelmente associadas ao HPV. As respectivas parceiras foram submetidas a coleta de esfregaço de vagina/colo uterino, exame de colposcopia e citologia cervical, exame clínico e coleta de esfregaço de mucosa oral. A pesquisa do HPV e HHV-8 foi realizada através da reação da cadeia de polimerase (PCR) com a utilização dos *primers* MY09 e MY11 e *primers* KS1 e KS2. **Resultados:** Foi amplificado HPV-DNA a partir de esfregaço de pênis (P) de 22/31 (71%); 18/31 (58,1%) das amostras de vagina/colo (V) e 17/31 (54,8%) mucosa oral (B). Com relação ao HHV-8, foi amplificado DNA em 1/31 (3,2%) indivíduos avaliados (P), 0/31 (0%) (V) e 3/31 (9,7%) (B). Observamos que entre o mesmo casal não houve amplificação do HHV-8-DNA em mais de um sítio estudado. De todos os casos positivos para HPV (P, V e B) e HHV-8 (P e B) foi observada associação significativa ($p=0,030$). **Conclusão:** Pode haver uma co-infecção entre o HPV e HHV-8 em diferentes sítios. Não foi observado a transmissão sexual em casais heterossexuais não-infectados pelo HIV, devendo existir outras rotas de transmissão neste grupo estudado.

Palavras-chaves: papilomavírus humano; herpesvírus oito; heterossexuais; reação em cadeia da polimerase.

ABSTRACT

Background: The Human Papillomavirus (HPV) and the Human Herpesvirus-8 (HHV-8) may influence the carcinogenesis of anogenital lesions and oropharyngeal lesions in women and men. **Methods:** The study group comprised thirty-one heterosexual couples that had been questioned about their social-economic status, sexual and general habits, and history of previously sexually transmitted diseases (STDs). The male subjects were submitted to peniscopy followed by penile swab obtained from malignant or potentially malignant lesions possibly associated with HPV. Their female counterparts were invited and also submitted to the questionnaire; colposcopy and cytology tests were performed followed by of the uterine cervix and oral mucosa swabs. HPV-DNA and HHV-8 detection was performed by polymerase chain reaction (PCR) using consensus primers MY09/11 and KS1/2. **Results:** HPV-DNA was detected in 22/31(71%) of the penile samples (P); in 17/31 (58.1%) vaginal/cervix samples (V); and in 17/31(54.8%) oral female mucosal samples (O). HHV-8-DNA was amplified in 1 / 31 (3.2%) patients evaluated (P), 0 / 31 (0%) (V) and 3 / 31 (9.7%) (O). Observed that between the same couple was no amplification of HHV-8-DNA in more than one site studied. In all cases positive for HPV (P, V and O) and HHV-8 (P and O) was significant association ($p = 0.030$). **Conclusion:** There may be an interaction between HPV and HHV-8 in different sites. It had not been observed sexual transmission in heterosexual couples non-infected HIV, probably there are others different routes of transmission in this group studied.

Key words: human papillomavirus; human herpesvirus 8; heterosexual; polymerase chain reaction.

APRESENTAÇÃO

Esta dissertação foi organizada como um artigo e será submetida ao periódico científico Sexually Transmitted Diseases, que tem um fator de impacto 2863, está indexado nas seguintes bases: MEDLINE/PUBMED, EMBASE, SCOPUS, International Pharmaceutical Abstracts (IPA), BIOSIS Previews, Science Citation Index Expanded, Current Contents/Clinical Medicine and Life Sciences, Chemical Abstracts.

O trabalho desenvolvido é relevante por tratar de vírus com potenciais oncogênicos. Também por ter um número pequeno de trabalhos descritos na literatura que abordem o tema, a maioria tem por critérios de inclusão pacientes HIV infectados ou pacientes com comportamento de risco. Pesquisas anteriores indicam correlação entre a presença de verrugas genitais (causadas pelo HPV) e a detecção do HHV-8. Por isso era condição do nosso trabalho, os parceiros possuírem lesões malignas ou potencialmente malignas associadas ao HPV no pênis e não serem HIV positivos. Estudamos também o comportamento destes vírus em suas parceiras, nos sítios vagina/colo de útero e boca, já que ambos podem causar lesões nesses locais.

Está bem estabelecido na literatura que o HPV pode ser transmitido por via sexual e sua presença nos sítios estudados, por isto focamos o estudo no HHV-8, para verificar o comportamento deste nos sítios estabelecidos e sua possível rota de transmissão sexual, a fim de auxiliar o desenvolvimento de métodos que objetivem limitar ou eliminar a disseminação desta infecção.

Palavras-chaves: papilomavírus humano; herpesvírus oito; heterossexuais; reação em cadeia da polimerase.

PRESENTATION

This study was organized in article format and will be submitted to the scientific periodic Sexually Transmitted Diseases, which impact factor is 2.863, and is indexed in MEDLINE/PUBMED, EMBASE, SCOPUS, International Pharmaceutical Abstracts (IPA), BIOSIS Previews, Science Citation Index Expanded, Current Contents/Clinical Medicine and Life Sciences, and Chemical Abstracts data bases.

The present study is important to tell about potentially oncogenic viruses, and because of a few number of studies described in the literature (most of them include HIV infected patients or with environmental risk). Previous researches indicate a correlation between genital wart (caused by HPV) and the HHV-8 detection. For this reason, one condition of our study was that the male subjects should present malignant or potentially malignant lesions associated to penis HPV and they should not be non-infected HIV. We also had studied these viruses behavior with their partners, evaluating the vagina/cervix uterus and oral regions, explained because both of them can cause lesions in these regions.

It is well established in the literature that the HPV can be transmitted sexually, and be presented in the studied áreas. For this reason, our study had analyzed the presence of HHV-8 in those áreas and its possible ways of sexual transmission, aiming to help in the development of methods to limit or eliminate the infection dissemination.

Key words: human papillomavirus; human herpesvirus 8; heterosexual; polymerase chain reaction.

**Deteccção do DNA-Herpesvírus Humano 8 e DNA-Papilomavírus Humano
entre parceiros heterossexuais não-infectados pelo Vírus da
Imunodeficiência Adquirida**

CATARINA DA MOTA VASCONCELOS BRASIL, MSc^{1*}

JAIR CARNEIRO LEÃO, PhD^{2*}

¹ Mestre em Odontologia, Cirurgiã-dentista, Universidade Federal de Pernambuco. Loteamento Porto Coqueiral, Lote 05, Quadra 2B, Porto de Galinhas, 55590-000. Caixa Postal 149. Ipojuca - PE – Brasil. Telefone:(81)3552.1409. Email: catarinamvbrasil@hotmail.com

² Doutor em Medicina Oral, University of London. Universidade Federal de Pernambuco, Pós Graduação em Odontologia - Av Prof. Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, 50670-901. Recife – PE - Brasil Telefone: (81) 21268818. Fax: (81) 21268818. Email: jleao@ufpe.br

* Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal de Pernambuco - Recife/PE, Brasil

Apoio financeiro: Facepe – Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco

Breve resumo

Observou-se uma associação estatisticamente significativa entre a presença do HPV e HHV-8 e os sítios vagina/útero, boca nas parceiras e lesões penianas.

Maiores investigações são necessárias para estabelecer as principais rotas de transmissão do HHV-8 em casais heterossexuais.

INTRODUÇÃO

Tem sido estimado que entre 15 e 20% de todos os cânceres humanos podem ter uma etiologia viral^{1,2}. Observações de que os casais, por vezes, poderiam ser afetados por tipos de câncer semelhantes implicou em um maior apoio para uma etiologia infecciosa de tumores. Muitas vezes o vírus pode contribuir, mas não são suficientes para, carcinogênese completa. Co-fatores adicionais, tais como a imunidade do hospedeiro e inflamação crônica, bem como mutações celulares, deve também desempenhar um papel importante no processo de transformação³.

A patogênese dos tumores orais também tem sido relacionada a uma infecção viral persistente do Herpesvírus 8 (HHV-8) e Papilomavírus Humano (HPV) com interações moleculares com o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), o que contribuiria para as alterações genéticas que desencadeariam no desenvolvimento do tumor, participando como co-fatores do carcinoma de células escamosas oral por ativação, amplificação e a superexpressão de oncogenes existentes dentro dos tecidos neoplásicos^{4,5}.

Os tipos virais oncogênicos mais comuns de HPV são o 16 e o 18, podendo ou não causar neoplasia benigna ou maligna do trato genital, oral e faríngeo^{6,7}. A correlação entre a infecção por HPV e carcinoma cervical invasivo já foi descrita e é cientificamente comprovada^{8,9,10,11,12}.

Homens portadores de lesões penianas por HPV de alto risco têm maior possibilidade de desenvolver carcinoma peniano e anal¹³ e também aumentam o risco de desenvolvimento de neoplasia cervical¹⁴ e oral¹⁵ em suas parceiras.

Uma revisão de vários estudos sobre pesquisa do DNA-HPV em carcinoma espinocelular oral (OSCC) conduzida por Praetorius (1997) levou à conclusão que pode haver uma variação 0 a 100% da prevalência de HPV-DNA em OSCC, contudo, a maioria dos estudos mostra uma média de prevalência entre 25% e 75%^{16,17}.

O HHV-8, que é um vírus da família herpes, é referido como agente etiológico de todas as formas de Sarcoma de Kaposi (KS)^{18,19,20}, do linfoma efusional primário (PEL)^{21,22} e da forma multicêntrica da doença de Castleman (MCD)^{23,24}. Tem sido identificado em KS oral, outras lesões orais (por exemplo, úlceras não-específicas) e na mucosa oral normal de pacientes HIV positivos^{25,26}.

No que diz respeito ao potencial de transmissão sexual do HHV-8 entre heterossexuais, pouca informação está disponível²⁷. Entre os homens heterossexuais que vivem em áreas onde a infecção é endêmica, um estudo recente sugere que fatores sexuais podem desempenhar um papel importante²⁸.

Alguns estudos identificaram uma história de sífilis, HIV-1, a idade avançada, raça negra, uso de drogas intravenosas, DSTs (verrugas genitais, gonorréia), e abuso de álcool como sendo fatores correlacionados a infecção pelo HHV-8^{29,30,31,32,33,34,35,36,37} enquanto outros estudos não mostraram nenhuma evidência de transmissão por contato sexual^{38,39,40,41}.

Estudos iniciais sugerem que o HHV-8 é raramente encontrado no sêmen⁴², outros mostraram que o vírus está presente no sêmen de homossexuais masculinos, HIV positivo nos Estados Unidos, e ocasionalmente em heterossexuais HIV negativo^{43,44,45}. Foi detectado também na próstata, glândula ou prepúcio e no trato genital feminino, sugerindo assim, que partículas virais poderiam ser transmitidas durante o intercursos sexual. A identificação de HHV-8 DNA em fluido cervical de mulheres com SK, mostra taxas de 25 a 40%^{46,47}.

HHV-8 DNA foi detectado na saliva em pacientes HIV-1 positivo e menos frequentemente em saliva de paciente HIV-negativo^{45,48}, sugerindo que o HHV-8 é transmitido na saliva como outros herpesvírus humano (EBV, citomegalovírus, HHV-6, HHV-7, e humanos do vírus herpes simplex tipo 1)^{47, 49,50,51}.

HPV e HHV-8 são infecções que estão associados com algumas neoplasias malignas (carcinoma cervical, vulvar, anal e peniana e sarcoma de Kaposi),⁵² e ambos vírus foram detectados no tecido da próstata^{53,54,55} e no carcinoma de laringe⁵⁶.

Sinergia viral entre HHV-8 e HPV podem ser responsáveis por neoplasia

intra-epitelial peniana em pacientes KS com AIDS⁵⁷. As células endoteliais transformadas pelo HPV 16 também são passíveis para infecção pelo HHV-8 derivado do BCB-1 linha celular. O genoma viral é mantido indefinidamente e permanece em estado latente, como indicado pela reação com o anticorpo monoclonal para a ORF-73, um gene indicador da latência do HHV-8. O vírus nessas células endoteliais infectadas poderia induzi-las a entrar no ciclo lítico. Esta transição causa nas células um padrão de crescimento de achatado para uma morfologia com fusiforme, um padrão típico de crescimento das lesões de Sarcoma de Kaposi⁵⁸.

Apesar de testes moleculares e sorológicos terem sido usados para definir epidemiologia do HHV-8/KSHV-8 a sua exata taxa de prevalência ainda é incerta e as possíveis rotas de transmissão ainda não foram bem estabelecidas⁵⁹. A elucidação destes dados representa uma ferramenta essencial e auxiliar o desenvolvimento de métodos que objetivem limitar ou eliminar a disseminação desta infecção ⁵⁹. Portanto o objetivo deste estudo é detectar a presença vírus HHV-8 e HPV em casais heterossexuais não infectados pelo HIV, verificar se há transmissão por via sexual e estabelecer suas prevalências em lesões penianas associadas ao HPV, e nos sítios vagina/colo do útero e mucosa bucal das parceiras.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostra

Este foi um estudo transversal observacional utilizando-se com uma

amostra de conveniência constituída por 62 pacientes, sendo 31 casais heterossexuais residentes na Região Metropolitana da Cidade do Recife. O universo da amostra foi o grupo de pacientes provenientes dos ambulatórios de referência em atendimento às Doenças Sexualmente Transmissíveis (DST's) da Cidade do Recife, e incluíram o Hospital das Clínicas de Pernambuco (Serviço de Dermatologia – DST e o Serviço de Colposcopia) e o Hospital de Câncer de Pernambuco (Serviço de Urologia), localizados no Estado de Pernambuco, Brasil. Este protocolo de pesquisa foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco sob o número 232/08. Para serem inclusos os parceiros deveriam ser maiores de 18 anos, ser portador de lesão potencialmente maligna ou maligna peniana, ter parceira fixa há pelo menos 1 ano e sua parceira concordar em participar da pesquisa.

Coleta de dados

O diagnóstico de lesões penianas malignas e/ou potencialmente malignas possivelmente associadas ao HPV foi realizado por um urologista. Um questionário foi aplicado pela pesquisadora e o esfregaço peniano foi coletado com o auxílio de uma escova ginecológica do tipo Cytobrush (Kolplast® Comercial Industrial do Brasil Ltda). Após esta etapa, as respectivas parceiras foram convidadas e posteriormente submetidas ao exame clínico da boca, coleta do esfregaço de mucosa oral, exame de colposcopia, citologia cervical e coleta do esfregaço de vagina/colo uterino, os últimos três exames, igualmente por profissional da área.

Os casos de lesões genitais suspeitas de malignidade foram submetidos à biópsia por um profissional da área (urologista ou ginecologista). Os pacientes foram submetidos a exames sorológicos para HIV e sífilis, todos os pacientes foram soro-negativos.

Extração e purificação do HHV-8 DNA e HPV-DNA

As amostras de saliva coletadas foram identificadas e o DNA extraído com o kit de extração e purificação de DNA Geneclean[®] (GENECLEAN[®] Kit, BIO 101, La Jolla, CA) adaptado de acordo com o protocolo sugerido por Leão *et al.*, (1999).

PCR HHV-8

O DNA extraído das amostras foi previamente submetido a um controle de qualidade através da amplificação de segmento do gene da β -globina humana com os primers GH20 (5' CAACTTCATCCACGTTCCACC 3') e PC04 (5' GAA GAGCCAAGGACAGGTAC 3').

No primeiro *round* da reação de amplificação (PCR) do HHV-8 DNA foram utilizados os iniciadores consenso KS1 (sense): 5' CCGAGGACGAAATGGAAGTG 3' e KS2 (anti-sense): 5' GGTGATGTTCTGAGTACATAGCGG 3' (Invitrogen[®] Brazil LTDA), os quais amplificam especificamente a região do gene ORF73. Esses iniciadores são capazes de amplificar um fragmento de aproximadamente 142 pares de bases (pb), tornando possível a detecção da maioria dos tipos de KHSV/HHV-8^{59,60}. A

reação de amplificação foi realizada em um volume final de 25µL, contendo água estéril (Nuclease Free Water, Promega®), *Taq* polymerase buffer (Taq Gen-Tampão 10x, Biosystems®), 15 mM de MgCl₂ (Taq Gen-MgCl₂ 50nM, Biosystems®), 200 mM de cada uma das 4 deoxinucleotideo trifosfato-DNTps (DNTp mixture 100nM solution, Amresco®), 20 pmol de cada iniciador, 1 unidade de *Taq* polymerase (Taq gen-Taq polimerase, Biosystems®) e 2,5 mM de DNA da amostra. O sistema de amplificação do DNA foi realizado em tubos de 500µL, que foram transferidos para o termociclador (Peltier Thermal Cycler -DNA Engine Tetrad® Leesburg, FL, EUA.). O programa da PCR constituiu das seguintes etapas: desnaturação 94°C por 5 min, 34 ciclos (94°C por 1 min. + 60°C por 1 min. + 72°C por 1 min) e extensão final a 72°C por 1 minuto. Após esta etapa, as amostras foram submetidas a uma Nested-PCR com as mesmas condições e os mesmos iniciadores anteriormente citados.

PCR HPV

Na reação de amplificação (PCR), foram utilizados os iniciadores consenso MY09: 5' CGTCCMAARGGAWACTGATC 3' e MY11: 5' GCMCAGGGWCATAAYAATGG 3' (Invitrogen® Brazil LTDA), os quais amplificam especificamente uma parte do gene L1, que é a região mais conservada no genoma dos diferentes tipos de HPV, codificando uma proteína do capsídeo viral. Esses iniciadores são capazes de amplificar um fragmento de aproximadamente 450 pares de bases (pb) do gene L1, tornando possível a detecção da maioria dos tipos de HPV ⁶¹. A reação de amplificação foi realizada em um volume final de 30µL, sendo constituída por 3µL de Tampão

(1%) (Amresco™ Inc, Ohio, EUA), 1,5µL de MgCl₂ (3mM) (Amresco™ Inc, Ohio, EUA), 2,4µL de desoxinucleotídeos fosfatados (dNTP) (Amresco™ Inc, Ohio, EUA), 3µL de cada iniciador, 3µL de TaqPolimerase (Amresco™ Inc, Ohio, EUA) e 13,9µL de água livre de nuclease. O sistema de amplificação do DNA foi realizado em tubos de 500µL, que foram transferidos para o termociclador (Peltier Thermal Cycler -DNA Engine Tetrad® Leesburg, FL, EUA.). O programa de PCR constituiu das seguintes etapas: desnaturação 94°C por 1 min, 34 ciclos de 55°C por 30 seg. + 72°C por 30 seg. + 94°C por 1 min., extensão final a 72°C por 10 minutos e um “hold” a 4°C. Ao produto final da PCR foram adicionados 2µl corante Azul de Bromofenol *Orange* (*Blue/Orange Loading Buffer Dye, 6X* Promega® Madison, WI, EUA) para posterior aplicação no gel de Agarose a 2% (Pronadisa Conda® Laboratories - Madrid, Espanha).

Eletroforese

Ao produto final da PCR do HHV-8 e HPV foram adicionados 2µl corante Azul de Bromofenol *Orange* (*Blue/Orange Loading Buffer Dye, 6X* Promega® Madison, WI, EUA) para posterior aplicação no gel de Agarose a 2% (Pronadisa Conda® Laboratories - Madrid, Espanha). Nesta etapa foi realizada a corrida no gel de Agarose a 2%, preparado com 1,6g de Agasore pura e 80mL de TrisBorato EDTA 1X (TBE - Amresco™ Inc, Ohio, EUA) e 5µL de Brometo de Etídio (Promega® Madison, WI, EUA). A corrida fio realizada em uma cuba eletroforética horizontal (Omniphor® Biosystems Comercial, Imp. e Exp. de equipamentos para Laboratórios Ltda.) contendo TBE 1% a 60V, com

corrente de 80mA por 45 minutos. Os fragmentos de DNA foram visualizados através de um transiluminador com luz Ultra-Violeta (UV) (Vilber Lourmat[®], França), no comprimento de onda de 302nm e as fotografias foram tomadas com o auxílio do sistema de foto-documentação (Vilber Lourmat[®], França).

Análise estatística

O nível de significância utilizado na decisão dos testes estatísticos foi de 5,0%. Os dados foram digitados na planilha Excel e o “software” estatístico utilizado para a obtenção dos cálculos estatísticos foi o SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) na versão 15.

Para análise dos dados foram obtidas distribuições absolutas e percentuais (Técnicas de estatística descritiva) e foi utilizado o teste Qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher desde que as condições para utilização do teste Qui-quadrado não foram verificadas.

RESULTADOS

Os pacientes do sexo masculino encontravam-se com idade variando entre 20 e 62 anos (média de 32 anos), e suas respectivas parceiras, com idade entre 18 e 57 anos (média de 30 anos), totalizando sessenta e dois participantes. A maioria dos participantes da pesquisa encontrava-se com ensino médio: completo (16/62; 25,8%) ou incompleto (23/62; 37,1%). A renda média dos casais em salários mínimos em média 2,4 salários (DP=2,4 IC[1,7-3,6]). Um total

de 17/62 (27,4%) participantes relatou o hábito do tabagismo.

Através da Tabela 01, pode ser observado que a média de idade da primeira relação sexual dos indivíduos em estudo foi de 16 anos (DP=3,5 IC [14,1 e 16,6]). Os homens apresentaram uma média de idade para a primeira relação sexual menor (15,3 anos) quando comparados às suas parceiras (17,9 anos) ($p= 0,004$). O número médio de parceiros sexuais entre os entrevistados foi de 7,9 (DP=10,5 IC [5,3 e 10,6]). Similarmente, ao analisar o número médio de parceiros estratificando pelo sexo, foi observado que no grupo dos homens o número médio de parceiras foi maior (13,8 DP=12,3 IC [8,6-26,5]) quando comparados às esposas (2,1 DP=1,3 IC [1,1-5,2]) ($p < 0,001$). Da mesma forma, na análise do número médio de parceiros no último ano, o número médio de parceiras foi de 1,2 (DP=0,5 IC [0,9 a 1,3]), enquanto que o número médio de parceiros foi constante de apenas um indivíduo ($p= 0,020$). A relação com profissional do sexo foi questionada apenas para os indivíduos do sexo masculino, e foi possível observar que 18/32 (58,1%) não relataram este contato sexual prévio ao longo de sua vida sexual (Tabela 02).

No estudo da associação entre a ocorrência de HHV-8 com as variáveis demográficas e sócio-econômicas e para a margem de erro fixada em 5,0%, nenhuma variável se mostrou significativa conforme resultados apresentados na Tabela 3.

Da Tabela 04 se destaca que os dois métodos contraceptivos mais frequentes foram: ligação de trompas e pílula, com 29,0% cada e que 83,9% faziam prática de sexo oral, mas apenas 22,6% utilizava algum método de barreira durante a felação.

De acordo com os resultados dos exames clínicos, os indivíduos do sexo masculino participantes deste estudo eram portadores de alterações penianas malignas e/ou potencialmente malignas acetobranças possivelmente associadas ao HPV (31/31; 100%) e nenhum possuía alterações clínicas sugestivas de KS. Nos achados citológicos/colposcópicos, um total de 25/31 (80,6%) mulheres apresentaram alterações acetobranças possivelmente causadas pelo HPV. Ao exame clínico de mucosa oral das parceiras não foram observadas alterações patológicas visíveis (0/31; 0%).

Os resultados da amplificação do HPV-DNA através da PCR demonstraram que 22/31 indivíduos avaliados (71%) foram HPV-DNA positivos nas lesões penianas. Ainda, 18/31 (58,1%) parceiras estudadas, foram HPV-DNA positivas para os esfregaços de vagina/colo uterino e 17/31 (54,8%) para os esfregaços de mucosa oral (Tabela 05). Os resultados da amplificação do HHV-8-DNA através da PCR demonstraram que 1/31 indivíduos avaliados (3,2%) foi HHV-8DNA positivo em lesão peniana. Ainda, 0/31 (0%) das parceiras estudadas foi HHV-8-DNA positiva para os esfregaços de vagina/colo uterino e 3/31 (9,7%) foram positivas para os esfregaços de mucosa oral (Tabela 06). Observamos que entre o mesmo casal não houve amplificação do HHV-8-DNA em mais de um sítio estudado.

No estudo da associação entre HPV e HHV-8 no pênis (Tabela 07) se destaca que dos 22 casos positivos para HPV apenas um se mostrou também positivo para HHV-8 e entre os 9 casos negativos para HPV nenhum foi positivo para HHV-8 e a associação entre essas duas variáveis não se mostra significativa ($p = 1,000$).

Quando se analisa a associação entre HPV boca e HHV-8 boca (Tabela 08) verificam-se que: dos 17 casos positivos para HPV apenas um foi positivo para HHV-8 enquanto que entre os casos negativos para HPV, 14,3% foram positivos para HHV-8, entretanto não se comprova associação significativa entre as duas variáveis em análise ($p > 0,05$).

Na tabela 9, foi considerado todos os casos positivos para HPV em todos os sítios estudados (pênis, vagina e boca) e os casos positivos para HHV-8 (pênis e boca), a associação entre as duas variáveis se mostrou significativa ($p=0,030$).

DISCUSSÃO

As neoplasias malignas associadas à infecção pelo HIV são algumas vezes, induzida por vírus que são responsáveis por infecções persistentes, como vírus Epstein-Barr, HHV-8 e HPV. As alterações da imunidade celular induzida pela infecção com o HIV, tanto a nível sistêmico e local são responsáveis por uma expressão descontrolada, a resposta imune específica para controlar a infecção por esses vírus anteriormente ou recentemente adquiridos são pouco conhecidos^{62,63}.

O papel do HHV-8 em tumores malignos foi investigado em poucos estudos⁵⁶. Cerimele *et al.*, (2001) demonstraram *in vitro* que o HHV-8 pode infectar queratinócitos humanos. Atula *et al.*, 1999 não observou presença de HHV-8 nem HPV em amostras de tumores de glândulas salivares. Neste

estudo detectou-se HHV-8-DNA em uma amostra peniana, em paciente que também apresentava condiloma, lesão associada ao HPV.

Brouchet *et al.*, (2005) investigaram um grupo composto de pacientes com carcinoma do pulmão para a presença de alguns vírus oncogênicos, incluindo HHV-8 e HPV usando hibridização *in situ* e imuno-histoquímica, mas nenhuma relação pode ser atribuída a qualquer um deles. Alguns estudos moleculares têm sugerido uma associação entre o HHV-8 e câncer de próstata, porém estes resultados não puderam ser confirmados por outros estudos 67,68,69,70.

GUVENC *et al.*, (2008) investigaram a presença de HHV-8 em carcinoma de laringe. A prevalência do HHV-8 no CEC de laringe foi 10,46% e apenas um era positivo para HHV-8 e HPV, sugerindo que deve ser considerado um papel sinérgico no desenvolvimento de carcinoma. No presente estudo um paciente era positivo para ambos os vírus e tinha comportamentos de risco, como alto número de parceiras sexuais (20), contato com profissionais do sexo, presença de DST (condiloma) e era não-circuncidado. Pratica sexo oral com barreira (preservativo); sua parceira, que relatou vida sexual com um único parceiro, utiliza Dispositivo Intra-Uterino (DIU) como método contraceptivo, é HPV positiva em vagina/colo de útero. Não foi amplificado HPV ou HHV-8 em boca. Diante deste caso, infere-se que o uso do preservativo evitou que os vírus fossem transmitidos para boca da paciente, e como o DIU não previne a transmissão de doenças sexuais, sugere-se que a parceira tenha adquirido o HPV por via sexual. Diante do pequeno número positivo, novos estudos seriam necessários para um esclarecimento maior

nesses casos em que ambos os vírus são amplificados.

Estudos de soroprevalência do HHV-8 em várias regiões do mundo possibilitam um maior esclarecimento sobre múltiplos fatores que influenciam sua transmissão e que devam existir várias vias de transmissão. A transmissão sexual em populações expostas a risco epidemiológico desta infecção, como por exemplo, ser HIV soropositivo, elevado número de parceiros sexuais, história de doenças sexualmente transmissíveis, contato com profissionais do sexo, condições precárias de higiene e saúde ^{34,71,72} está bem estabelecida, porém em casais heterossexuais não-infectados pelo HIV ainda são controversas.

HHV-8 tem sido encontrado no sêmen em (13 a 20%) dos pacientes com KS, porém é incerto se a quantidade do vírus presente no sêmen é suficiente para transmissão sexual⁷⁴. Outros autores não detectaram a presença do HHV-8-DNA em sêmen de pacientes com KS ou de indivíduos sororreagentes para o HHV-8 e de moradores em áreas endêmicas de KS. A identificação de HHV-8 DNA em fluido cervical de mulheres com KS, mostra taxas de 25 a 40% tanto em mulheres KS/AIDS da África como em mulheres KS clássico da Itália^{46,47}.

Corroborando com o estudo de CHAN *et al.*, 1999, que detectaram uma prevalência similar de HHV-8-DNA entre os grupos HPV-positivo e HPV-negativo, em amostras de cérvix de mulheres chinesas, foram similares (9.4% vs. 8.0%). Das amostras amplificadas HHV-8 positivas (boca e lesões penianas), 3,2% eram HPV positivas e 3,2% HPV negativas, mas nenhuma amostra foi HHV-8 positiva em colo de útero/vagina.

Concorda-se com TAYLOR *et al.*, 2004, que também encontraram uma maior presença de HHV-8 DNA na cavidade oral (34%) do que em relação a secreções do trato genital (6%) quando de prostitutas HIV-1 do Quênia, com ou sem SK. CASPER *et al.*, 2004, detectaram carga viral elevada na saliva em HSH, confirmando o fato da boca ser um local de liberação do HHV-8, pois o epitélio celular oral é competente para que ocorra a replicação do vírus. Detectou-se HHV-8-DNA em 9,7% em cavidade oral (3/31) e 3,2% em lesões penianas (1/31).

No estudo de LaDuca *et al.*, (1998) foi quantificado HHV-8 DNA na saliva de 37% dos pacientes estudados KS. HHV-8 DNA também foi encontrada no sêmen de 12% dos mesmos pacientes KS. CORBELLINO *et al.*, 1996, detectaram HHV-8 DNA em tecido prostático e esperma, e sugeriram que partículas virais poderiam ser transmitidas durante o intercursos sexual.

Discordando dos estudos anteriores, KOELLE *et al.*, 1997 não detectaram HHV-8 em saliva de controles saudáveis, mas acharam em 33% em pacientes com AIDS e 75% de pacientes infectados pelo HIV com KS. Detectou-se HHV-8 DNA em saliva de 9,7% parceiras HIV negativa.

A detecção de seqüências de DNA e de anticorpos anti-HHV-8 em crianças indicam a existência de vias de transmissão não sexual deste vírus. Podendo ocorrer transmissão vertical ou através do contato com secreções como a saliva e leite materno⁷⁶. Este estudo observou que não houve transmissão sexual entre os casais, e que devem existir outras rotas para que ocorra transmissão em indivíduos HIV soronegativos.

CONCLUSÃO

Os achados neste estudo sugerem que pode haver uma co-infecção entre o HPV e HHV-8 em vagina/colo de útero e boca (em parceiras) e lesão peniana. Não foi observado transmissão sexual em casais heterossexuais não-infectados pelo HIV, podendo existir outras rotas de transmissão neste grupo estudado.

REFERENCIAS

1. Hausen H Z. Cervical carcinoma and human papillomavirus: on the road to preventing a major human cancer. *J Natl Cancer Inst* 2001 Feb 21;93(4):252-3.
2. Parkin DM The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. *Int. J. Cancer* 2006; 118, 3030–3044.
3. McLaughlin-Drubin ME; Munger K. Viruses associated with human cancer. *Biochimica et Biophysica Acta* 2008; 1782, 127–150.
4. Flaitz CM, Hicks MJ. Molecular piracy: the viral link to carcinogenesis. *Oral Oncol* 1998 34 (6): 448-53.
5. Romito A, Grizzuti MA, Tucci M, Sivestris F. Malignant neoplasms and AIDS. Review of the literature and critical considerations on a case of epidermoid carcinoma of the anus. *Recenti Prog Med* 1997 88: 348-55.
6. Lowy DR, Howley PM in: Knipe DM, Howley PM. *Fields' Virology*. Lippincott Williams and Wilkins. 2001, 2231–2264.
7. Silva AMTC, Cruz AD, Silva CC, Borges CS, Curado MP. Genotipagem de papiloma vírus humano em paciente com papilomatose laríngea recorrente. *Rev. Bras. de Cancerologia* 2003; 49(3):167-174.
8. Ringström E, Peters E, Hasegawa M, Posner M, Liu M, Kelsey KT. Human papillomavirus type 16 and squamous cell carcinoma of the head and neck. *Clin Cancer Res.* 2002 Oct;8(10):3187-92.
9. Herrero R, Castellsagué X, Pawlita M, Lissowska J, Kee F, Balaram P, Rajkumar T, Sridhar H, Rose B, Pintos J, Fernández L, Idris A, Sánchez MJ, Nieto A, Talamini R, Tavani A, Bosch FX, Reidel U, Snijders PJ, Meijer CJ, Viscidi R, Muñoz N, Franceschi S; IARC. Multicenter Oral Cancer Study Group. Human papillomavirus and oral cancer: the International Agency for Research on Cancer multicenter study. *J Natl Cancer Inst.* 2003 Dec 3;95(23):1772-83.
10. Xavier SD, Bussoloti Filho I, Lancellotti CL. Prevalence of histological findings of human papillomavirus (HPV) in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma biopsies: preliminary study. *Rev Bras Otorrinolaringol (Engl Ed).* 2005 Jul-Aug;71(4):510-4.
11. Evans MF, Adamson CS, Simmons-Arnold L, Cooper K. Touchdown General Primer (GP5+/GP6+) PCR and optimized sample DNA concentration support the sensitive detection of human papillomavirus. *BMC Clin Pathol.* 2005 Nov 16;5:10.
12. Rivero ER, Nunes FD. HPV in oral squamous cell carcinomas of a Brazilian population: amplification by PCR. *Braz Oral Res.* 2006 Jan-Mar; 20 (1):21-4.

13. Chichareon S, Herrero R, Muñoz N, Bosch FX, Jacobs MV, Deacon J, Santamaria M, Chongsuvivatwong V, Meijer CJ, Walboomers JM. Risk factors for cervical cancer in Thailand: a case-control study. *J Natl Cancer Inst.* 1998 Jan 7; 90 (1):50-7.
14. Castellsagué X, Bosch FX, Muñoz N. The male role in cervical cancer. *Salud Publica Mex.* 2001; 45 Suppl 3:S345-53
15. Scully C. Oral squamous cell carcinoma; from an hypothesis about a virus, to concern about possible sexual transmission. *Oral Oncol* 2002 Apr;38(3):227-34.
16. Brandwein M, Zeitlin J, Nuovo GJ, MacConnell P, Bodian C, Urken M, Biller H. HPV detection using "hot start" polymerase chain reaction in patients with oral cancer: a clinicopathological study of 64 patients. *Med Pathol* 1994 Sep;7(7):720-7
17. Balaram P, Nalinakumari KR, Abraham E, Balan A, Hareendran NK, Bernard HU, Chan SY. Human papillomaviruses in 91 oral cancers from Indian betel quid chewers--high prevalence and multiplicity of infections. *Int J Cancer* 1995 May 16;61(4):450-4.
18. Chang Y, Cesarman E, Pessin MS, *et al.*, Identification of herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-associated Kaposi's sarcoma. *Science* 1994 266:1965-1969.
19. Cattani P, Capuano M, Cerimele F, Parola IL, Santangelo R, Masine C, Cerimele D, Fadda G. Human Herpesvirus 8 seroprevalence and evaluation of nonsexual transmission routes by detection of DNA in clinical specimens from Human Immunodeficiency virus - soronegative patients from central and southern Italy, with and without Kaposi's sarcoma. *J of Clin Microbiol* 1999 37 (4): 1150-1153.
20. Cunha AMG, Costa FF, Pedro RJ, Costa SCB. Detecção do Herpesvírus Humano Tipo 8 em pacientes com sarcoma de Kaposi. *Rev. Bras. de Clínica & Terapêutica* 2000 36 (5): 171-174.
21. Kennedy MM, Cooper K, Picton S, Biddolph S, Lucas S, O'Dmcgee J, O'Leary J J. Identification of HHV-8 in early Kaposi's sarcoma: implications for Kaposi's sarcoma pathogenesis. *J Clin Pathol:Mol Pathol* 1998, 51:14-20.
22. Spira TJ, Lam L, Dollard SC, Meng Y, Pau CP, Black JB, Burns D, *et al.*, Comparison of serologic assays and PCR for diagnosis of Human Herpesvirus 8 infection. *J of Clin Microbiol* 2000, 38 (6): 2174-2180.
23. Memar OM, Rady PL, Goldblum RM, Yen A, Tying SK. Human herpesvirus 8 DNA sequences in blistering skin from patients with penphigus. *Arch Dermatol* 1997, 133: 1247-1251.

24. Dupin N, Diss TL, Kellan P, Tulliez M, DU MQ, Sicard D, Weiss RA, Isaacson PG, Boshoff C. HHV-8 is associated with a plasmablastic variant of Castleman disease that is linked to HHV-8 positive plasmablastic lymphoma. *Blood*, 2000, 95: 1406-1412.
25. Di Alberti L, Ngui SL, Porter SR *et al.*, - Presence of human herpesvirus 8 variants in the oral tissues of human immunodeficiency virus-infected persons. *J Infect Dis* 1997; 175:703-7.
26. Leão JC, Caterino-de-Araújo A, Porter SR, Scully C. Human Herpesvirus 8 (HHV-8) and the etiopathogenesis of Kaposi's Sarcoma. *Rev. Hosp. Clín. Fac. Med. S. Paulo* 2000, 57(4):175-186.
27. Giuliani M, Cordiali-Fei P, Castilletti C, Carlo A, Palamara G, Boros S, Rezza G. Incidence of Human Herpesvirus 8 (HHV-8) infection among HIV-uninfected individuals at high risk for sexually transmitted. *Infections. BMC Infectious Diseases* 2007, 7:143.
28. Baeten JM, Chohan BH, Lavreys L, Rakwar JP, Ashely R, Richardons BA, Mandaliya K, Bwayo JJ, Kreiss JK: Correlates of human herpesvirus 8 seropositivity among heterosexual men in Kenya. *AIDS* 2002, 16:2073-2078.
29. Belec L, Tevi-Benissan C, Mohamed AS, Carbonel N, Matta M e Gresenguet. Enhanced detection of human herpesvirus 8 and cytomegalovirus in semen of HIV-seropositive asymptomatic heterosexual men living in Central Africa. *AIDS*. 1998; 12: 674-676.
30. Melbye M, Cook PM, Hjalgrim H, Begtrup K, Simpson GR, Biggar RJ, Ebbesen P, Schulz TF. Risk factors for Kaposi's-sarcoma-associated herpesvirus (HHV-8/HHV-8) seropositivity in a cohort of homosexual men, 1981-1996. *Int J Cancer*. 1998 Aug 12;77(4):543-8.
31. Renwick N, Dukers NH, Weverling GJ, Sheldon JA, Schulz TF, Prins M, Coutinho RA, Goudsmit J. Risk factors for human herpesvirus 8 infection in a cohort of drug users in the Netherlands, 1985-1996. *J Infect Dis*. 2002 Jun 15;185(12):1808-12.
32. Eltom MA, Mbulaiteye SM, Dada AJ, Whitby D, Biggar RJ. Transmission of human herpesvirus 8 by sexual activity among adults in Lagos, Nigeria. *AIDS* 2002; 16:2473-8.
33. Lavreys L, Chohan B, Ashley R, *et al.*, Human herpesvirus 8: seroprevalence and correlates in prostitutes in Mombasa, Kenya. *J Infect Dis* 2003; 187:359-63.
34. Pierrotti LC, Etzel A, Sumita LM, Braga PE, Eluf-Neto J, de Souza VA, Segurado AA. Human herpesvirus 8 (HHV-8) infection in HIV/AIDS patients

from Santos, Brazil: seroprevalence and associated factors. Sex Transm Dis. 2005 Jan;32(1):57-63

35. Caterino-de-Araujo A, Santos-Fortuna E, Magri MC, Schuelter-Trevisol F, Silva MV. Latent human herpesvirus - 8 (HHV-8) infection in female commercial sex workers from Imbituba, Santa Catarina, Brazil. Braz J Infect Dis. 2007 Feb;11(1):9-11.

36. Sarmati L, Babudieri S, Longo B, Starnini G, Carbonara S, Monarca R, Buonomini AR, Dori L, Rezza G, Andreoni M; Gruppo di Lavoro Infettivologi Penitenziari (GLIP). Human herpesvirus 8 and human herpesvirus 2 infections in prison population. J Med Virol. 2007 Feb;79(2):167-73

37. Campbell TB, Borok M, Ndemera B, Fiorillo S, White IE, Zhang X, Machekano RN, Katzenstein D, Gwanzura L. Lack of Evidence for Frequent Heterosexual Transmission of Human Herpesvirus 8 in Zimbabwe HIV/AIDS. 2009;48 (1 June). 1601-8.

38. Smith NA, Sabin CA, Gopal R, Bourboulia D, Labbet W, Boshoff C, Barlow D, Band B, Peters BS, de Ruiter A, Brown DW, Weiss RA, Best JM, Whitby D: Serologic evidence of human herpesvirus 8 transmission by homosexual but not heterosexual sex. J Infect Dis 1999, 80(3):600-6.

39. Cannon MJ, Dollard SC, Smith DK, Klein RS, Schuman P, Rich JD, Vlahov D, Pellett PE, HIV Epidemiology Research Study Group: Bloodborne and sexual transmission of human herpesvirus 8 in women with or at risk for human immunodeficiency virus infection. N Engl J Med 2001, 344(9):637-43.

40. Greenblatt RM, Jacobson LP, Levine AM, Melnick S, Anastos K, Cohen M, DeHovitz J, Young MA, Burns D, Miotti P, Koelle DM: Human herpesvirus 8 infection and Kaposi's sarcoma among human immunodeficiency virus-infected and uninfected women. J Infect Dis 2001, 183(7):1130-4.

41. Wawer MJ, Eng SM, Serwadda D, Sewankambo NK, Kiwanuka N, Li C, Gray RH: Prevalence of Kaposi sarcoma associated herpesvirus compared with selected sexually transmitted diseases in adolescents and young adult in rural Rakai District, Uganda Sex Transm Dis. 2001, 28(2):77-81.

42. Marchioli CC, Love JL, Abbott Y, Huang YQ, Remick SC, *et al.*, Prevalence of human herpesvirus 8 DNA sequences in several patient populations. J Clin Microbiol 1996; 34: 2635-2638.

43. Corbellino M, Poirel L, Bestetti G *et al.*, Restricted tissue distribution of extralesional KSHV sequences in AIDS patients with Kaposi's sarcoma. AIDS Res 1996; 12: 651±7.

44. Gupta P, Sing MK, Ringaldo C, Ding M, Farzadegan H, *et al.*, Detection of Kaposi's sarcoma herpesvirus DNA in semen of homosexual men with Kaposi's

sarcoma. AIDS 1996; 10: 1596- 1598.

45. LaDuca, JR, Love JL, Abbott LZ, Dube S, Friedman-Kien A, Poiesz B. Detection of human herpesvirus 8 DNA in tissues and bodily fluids. J. Infect. Dis 1998, 178:1610–1615.

46. Calabro, ML, Sheldon J, Favero A, Simpson GR, Fiore JR, Gomes E, Angarano G, Chieco-Bianchi L, Schulz TF. Seroprevalence of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus/human herpesvirus 8 in several regions of Italy. J. Hum. Virol 1998, 1:207–213.

47. Lampinen, TM, Kulasingam S, Min J, Borok M, Gwanzura L, Lamb J, Mahomed K, Woelk GB, Strand KB, Bosch ML, Edelman DC, Constantine NT, Katzenstein D, Williams MA. Detection of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in oral and genital secretions of Zimbabwean women. J. Infect. Dis 2000; 181:1785–1790.

48. Koelle DM, Huang ML, Chandran B *et al.*, – Frequent detection of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8) DNA in saliva of human immunodeficiency virus-infected men: clinical and immunologic correlates. J Infect Dis 1997; 176:94-102.

49. Boldogh I, Szaniszló P, Bresnahan WA, Flaitz CM, Nichols MC, Albrecht T. Kaposi's sarcoma herpesvirus-like DNA sequences in the saliva of individuals infected with human immunodeficiency virus. Clin. Infect. Dis. 1996 23:406–407.

50. Cattani, P., M. Capuano, R. Graffeo, R. Ricci, F. Cerimele, D. Cerimele, G. Nanni, and G. Fadda. Kaposi's sarcoma associated with previous human herpesvirus 8 infection in kidney transplant recipients. J. Clin. Microbiol 2001; 39:506–508.

51. Lucchini, A., I. Dal Conte, and G. Di Perri. Mucosal shedding of human herpesvirus 8. N. Engl. J. Med 2001; 344:691–692.

52. Moore PS, Chang Y. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. In: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman B, Straus SE, editors. Fields' virology 2. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. p. 2803 – 33.

53. Strickler HD, Goedert JJ. Sexual behavior and evidence for an infectious cause of prostate cancer. Epidemiol Rev 2001;23:144 – 51.

54. Montgomery JD, Jacobson LP, Dhir R, Jenkins FJ. Detection of human herpesvirus 8 (HHV-8) in normal prostates. Prostate 2006;66: 1302 – 10.

55. Giovannucci E, Gaydos CA, Viscidi RP, Jenkins FG, Zenilman JM, Jacobson LP, Marzo AM, Willett WC, Platz EA. Plasma Antibodies against

Chlamydia trachomatis, Human Papillomavirus, and Human Herpesvirus Type 8 in Relation to Prostate Cancer: A Prospective Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007;16(8).

56. Guvenc MG, Midilli K, Ozdog K, I'nci E, Tahamiler R *et al.*, Detection of HHV-8 and HPV in laryngeal carcinoma. *Auris Nasus Larynx* 2008 (35); 357–362.

57. Simonart T, Dargent JL, Hermans P *et al.*, Penile intraepithelial neoplasia overlying Kaposi's sarcoma lesions: Role of viral synergy? *Am J Dermatopathol* 1999; 21: 494–497.

58. Ablashi DV, Chatlynne LG, Whitman JE, Cesarman E. Spectrum of Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus, or Human Herpesvirus 8, Diseases. *Clinical Microbiology Reviews*, July 2002, p. 439–464 Vol. 15, No. 3.

59. Leão JC, Hinrichsen SL, Freitas BL, Porter SR. Herpes vírus humano-8 e Sarcoma de Kaposi. *Rev Ass Med Brasil* 1999; 45(1): 55-62

60. Lallemand F, *et al.* Quantitative analysis of human herpesvírus 8 viral load using a real-time PCR assay. *J Clin Microbiol* 2000;38(4):1404-8.

61. Kaneshima EM, Bidoia CCG, Gabriel M, Suzuki LE, Consolaro MEL. Aplicação do método PCR-RFLP para tipagem em infecções cervicais de pacientes atendidas no Lepac, Universidade Estadual de Maringá. *Maringá* 2001; 23; 731-737.

62. McGlennen RC. Human papillomavirus oncogenesis. *Clin Lab Med* 2000 ; 20 : 383-406.

63. Piguet V. Receptor modulation in viral replication: HIV, HSV, HHV-8 and HPV: same goal, different techniques to interfere with MHC-I antigen presentation. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2005;285:199-217.

64. Cerimele F, Curreli F, Ely S, Friedman-Kien AE, Cesarman E, Flore O. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus can productively infect primary human keratinocytes and alter their growth properties. *J Virol* 2001;75:2435–543.

65. Atula T, Grenman R, Klemi P, Syrjanen S. Human papillomavirus, Epstein-Barr virus, human herpesvirus 8 and human cytomegalovirus involvement in salivary gland tumours. *Oral Oncol* 1998; 34:391–5.

66. Brouchet L, Valmary S, Dahan M, Didier A, Galateau-Salle F, Brousset P, *et al.*, Detection of oncogenic virus genomes and gene products in lung carcinoma. *Br J Cancer* 2005;92:743–6.

67. Staskus KA, Zhong W, Gebhard K, Herndier B, Wang H, Renne R, *et al.*, Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus gene expression in endothelial

(spindle) tumor cells. *J Virol* 1997;71:715–9.

68. Rettig MB, Ma HJ, Vescio RA, Pold M, Schiller G, Belson D, *et al.*, Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection of bone marrow dendritic cells from multiple myeloma patients. *Science* 1997;276:1851–4.

69. Parravicini C, Lauri E, Baldini L, Neri A, Poli F, Sirchia G, *et al.*, Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection and multiple myeloma. *Science* 1997;278:1670–969.

70. Munker R, Tasaka T, Park D, Miller CW, Koeffler HP. HHV-8 (KSHV) does not establish latency in prostate cancer cell lines. *Prostate* 1997;33:286–8.

71. Schulz TF, Moore PS. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus: a new human tumor virus, but how? *Trends in microbiology* 1999; 7:196-200.

72. Blackbourn JD, Osmond D, Levy JA., Lennete ET. Increased Human Herpesvirus 8 seroprevalence in Young Homosexual Men who Have multiple sex contacts with different partners. *Journal of Infectious Diseases* 1999 179:237-239.

73. Regamey N, Tamm M, Wernli A, Thiel G, Cathomas G, Erb P. Transmission of Human Herpesvirus 8 infection from renal transplant donors to recipients. - *The New England Journal of Medicine* 1998; 339 (19):1358-63.

74. Monini P, De Lellis L, Fabris M, Rigolin F, Cassai E, Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus DNA sequences in prostate tissue and human semen. *N Engl J Med* 1996; 334: 1168-1172.

75. Chan PKS, Li WH, Chan MYM, Cheng AFB. Detection of Human Herpesvirus 8 in Cervical Cells of Chinese Women with Abnormal Papanicolaou Smears. *Clinical Infectious Diseases* 1999; 29:1584–1585

76. Biggar R, Whitby D, Marshall V *et al.*, - Human Herpesvirus 8 in Brazilian Amerindians hiperendemic population with a new subtype. *Journal of Infectious Diseases* 2000; 181: 1562-1568.

FIGURAS

Figura 1

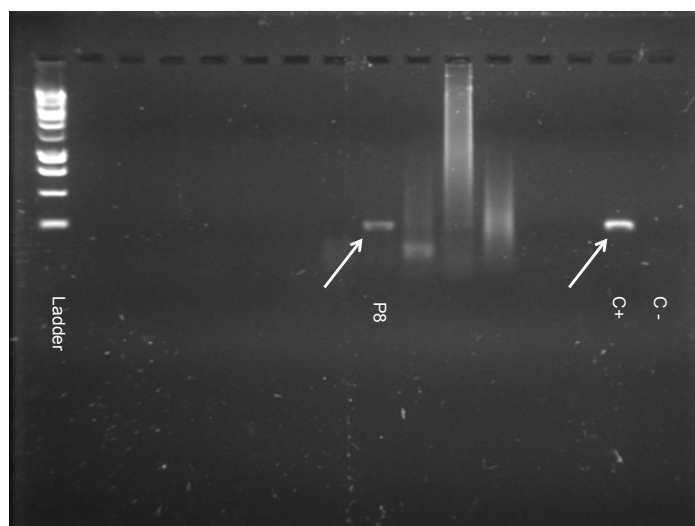


Figura 1. Nested HHV-8-DNA PCR com os *primers* KS1 e KS2 das amostras de pênis. L: Ladder; C+: Controle positivo; C-: Controle negativo; P8: amostra positivas para DNA-HHV-8. P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7, P9, P10, P11, P12, P13: amostras negativas DNA-HHV-8. A seta indica o tamanho do amplicon/fragmento amplificado (142 pb).

Figura 2

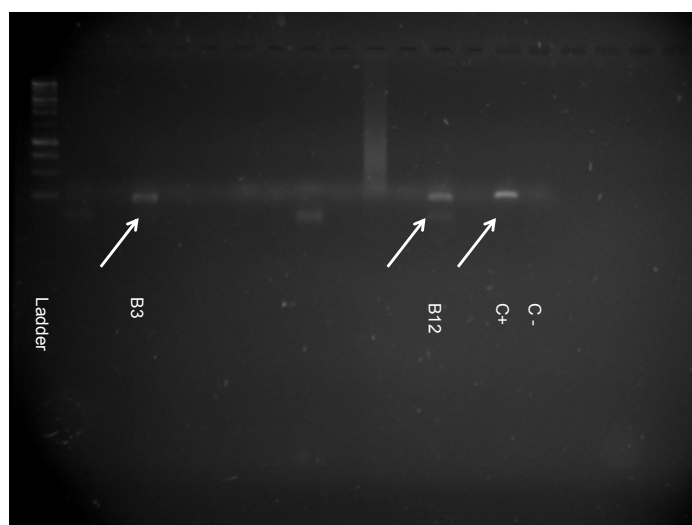


Figura 2. Nested HHV-8-DNA PCR com os *primers* KS1 e KS2 das amostras de boca. L: Ladder; C+: Controle positivo; C-: Controle negativo; B3 e B12: amostra positivas para DNA-HHV-8. B1, B2, B4, B5, B6, B7, B8, B9, B10, B11, B13: amostras negativas DNA-HHV-8. A seta indica o tamanho do amplicon/fragmento amplificado (142 pb).

Figura 3

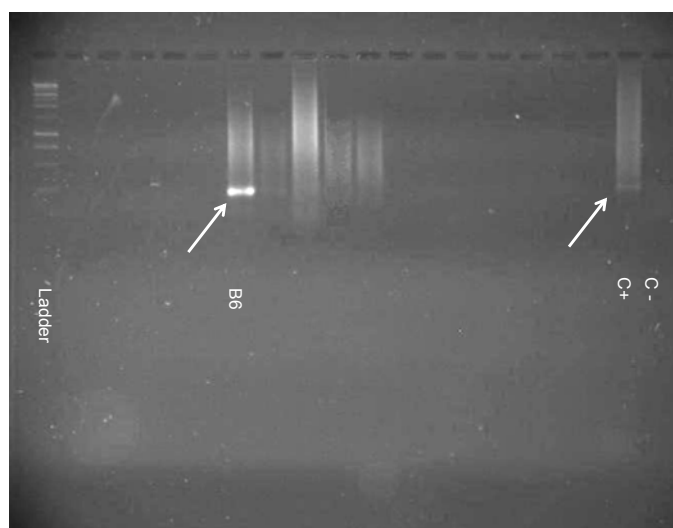


Figura 3. Nested HHV-8-DNA PCR com os *primers* KS1 e KS2 das amostras de boca. L: Ladder; C+: Controle positivo; C-: Controle negativo; B6: amostra positiva para DNA-HHV-8. B1, B2, B3, B4, B5, B7, B8, B9, B10, B11, B12, B13, B14, B15, B16, B17, B18: amostras negativas DNA-HHV-8. A seta indica o tamanho do amplicon/fragmento amplificado (142 pb).

TABELAS

Tabela 1. Análise descritiva e comparação de média das variáveis quantitativas segundo o sexo do indivíduo.

Variável	N	Média	Mediana	Desvio padrão	Mínimo	Máximo	IC(95%)	Valor de p
Primeira relação sexual								
Homens	31	15,3	15,0	2,5	12	22	14,2 – 16,4	p ⁽¹⁾ = 0,004*
Mulheres	31	17,9	18,0	4,0	11	29	12,0 – 20,3	
Geral	62	16,6	16,0	3,5	11	29	14,1 – 16,6	-
Número de parceiros sexuais								
Homens	31	13,8	10,0	12,3	1	70	8,6 – 26,5	p ⁽¹⁾ < 0,001*
Mulheres	31	2,1	2,0	1,3	1	6	1,1 – 5,2	
Geral	62	7,9	4,0	10,5	1	70	5,3 – 10,6	-
Número de parceiros sexuais no último ano								
Homens	31	1,2	1,0	0,5	1	3	0,9 – 1,3	p ⁽¹⁾ = 0,028*
Mulheres	31	1,0	1,0	0,0	1	1	Todos 1	
Geral	62	1,1	1,0	0,3	1	3	1,0 – 1,2	-

(*) – Diferença significativa ao nível de 5.0%.

(1) – Através do teste teste t-Student para comparação de média

Tabela 2. Distribuição dos indivíduos do sexo masculino que relataram ter tido relação sexual com profissional do sexo.

Relação sexual com profissional do Sexo**	Homens
Sim	13(41,9%)
Não	18(58,1%)

**O questionamento sobre a prática da relação sexual com profissional do sexo foi realizado apenas com os indivíduos do sexo masculino.

Tabela 3 – Avaliação o resultado do HHV-8 segundo a faixa etária, sexo, cor da pele, escolaridade, idade da primeira relação sexual, número de parceiros sexuais na vida e número de parceiros sexuais no último ano

Variável	HHV-8					
	Positivo		Negativo		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%
• Faixa etária						
Até 29	2	5,7	33	94,3	35	100,0
30 a 39	1	9,1	10	90,9	11	100,0
40 ou mais	1	6,3	15	93,8	16	100,0
• Sexo						
Masculino	1	3,2	30	96,8	31	100,0
Feminino	3	9,7	28	90,3	31	100,0
• Cor da pele						
Branca	3	10,7	25	89,3	28	100,0
Não branca	1	2,9	33	97,1	34	100,0
• Escolaridade						
Até fundamental incompleto	1	10,0	9	90,0	10	100,0
Fundamental completo/ Médio incompleto	1	3,7	26	96,3	27	100,0
Médio completo/ Superior	2	8,0	23	92,0	25	100,0
• Idade da primeira relação Sexual						
11 a 13	1	8,3	11	91,7	12	100,0
14 a 16	1	4,5	21	95,5	22	100,0
17 ou mais	2	7,1	26	92,9	28	100,0
• Número de parceiros sexuais						
Até 2	3	12,5	21	87,5	24	100,0
3 a 6	-	-	14	100,0	14	100,0
7 ou mais	1	4,2	23	95,8	24	100,0
• Número de parceiros sexuais no último ano						
Um	4	7,0	53	93,0	57	100,0
Dois ou mais	-	-	5	100,0	5	100,0
Grupo Total	4	6,5	58	93,5	62	100,0

p>0,05 para todas as variáveis.

Tabela 4 – Distribuição dos pesquisados segundo os dados relacionados com a mulher

Variável	n	%
• Método contraceptivo		
Nenhum	5	16,1
Ligação de trompas	9	29,0
Pílula	9	29,0
DIU	3	9,8
Camisinha	5	16,1
• Prática de sexo oral		
Sim	26	83,9
Não	5	16,1
• Uso de algum método como barreira durante a prática de sexo oral		
Sim	7	22,6
Não	24	77,4
TOTAL	31	100,0

Tabela 5 - Resultado da PCR para a detecção HPV-DNA

PCR para HPV-DNA	
PCR Pênis	N (%)
Positiva	22(71,0%)
Negativa	9(29,%)
PCR Vagina/Colo Uterino	
Positiva	18(58,1%)
Negativa	13(41,9%)
PCR Boca (parceira)	
Positiva	17(54,8%)
Negativa	14(45,2%)

Tabela 6 - Resultado da PCR para a detecção HHV-8 DNA.

PCR para HHV-8-DNA	
PCR Pênis	N (%)
Positiva	1(3,2%)
Negativa	30(96,8%)
PCR Vagina/Colo Uterino	
Positiva	0 (0,0%)
Negativa	31(100,0%)
PCR Boca (parceira)	
Positiva	3(9,6%)
Negativa	28(90,4%)

Tabela 07 – Avaliação do resultado do HHV-8 (pênis) segundo o resultado do HPV – PCR (pênis)

Resultado do HPV – PCR (pênis)	Resultado do HHV-8 (pênis)						Valor de p
	Positivo		Negativo		TOTAL		
	n	%	n	%	n	%	
Positivo	1	4,5	21	95,5	22	100,0	p ⁽¹⁾ = 1,000
Negativo	-	-	9	100,0	9	100,0	
Grupo Total	1	3,2	30	96,8	31	100,0	

(1): Através do teste Exato de Fisher.

Tabela 08 – Avaliação do resultado do HHV8 (Boca) segundo o resultado do HPV (Boca)

Resultado do HHV8 (Boca)							
Resultado do HPV – PCR (Boca)	Positivo		Negativo		TOTAL		Valor de p
	n	%	n	%	n	%	
Positivo	1	5,9	16	94,1	17	100,0	p ⁽¹⁾ = 0,576
Negativo	2	14,3	12	85,7	14	100,0	
Grupo Total	3	9,7	28	90,3	31	100,0	

(1): Através do teste Exato de Fisher.

Tabela 9 – Avaliação dos casos HPV (pênis, boca, vagina) segundo o resultado do HHV8 (pênis e boca)

HPV – final							Valor de p
Resultado do HHV8	Positivo		Negativo		TOTAL		
	N	%	N	%	n	%	
Positivo	2	3,6	2	40,0	4	6,5	p ⁽¹⁾ = 0,030*
Negativo	55	96,4	3	60,0	58	93,5	
Grupo Total	57	100,0	5	100,0	62	100,0	

(1): Através do teste Exato de Fisher.

Parecer do Comitê de Ética Universidade Federal de Pernambuco



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
Comitê de Ética em Pesquisa

Of. N.º 333/2008 - CEP/CCS

Recife, 22 de outubro de 2008

Registro do SISNEP FR – 207651

CAAE – 0226.0.172.000-08

Registro CEP/CCS/UFPE Nº 232/08

Título: “Avaliação da transmissão sexual do HHV-8 em parceiros sexuais na cidade do Recife”

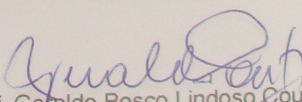
Pesquisador Responsável: Catarina da Mota Vasconcelos Brasil

Senhora Pesquisadora:

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CEP/CCS/UFPE) registrou e analisou, de acordo com a Resolução N.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, o protocolo de pesquisa em epígrafe, aprovando-o e liberando-o para início da coleta de dados em 21 de outubro de 2008.

Ressaltamos que o pesquisador responsável deverá apresentar relatório ao final da pesquisa.

Atenciosamente


Prof. Geraldo Bosco Lindoso Couto
Coordenador do CEP/CCS/UFPE

A
Mestranda Catarina da Mota Vasconcelos Brasil
Mestrado em Odontologia – CCS/UFPE

Av. Prof. Moraes Rego, s/n Cid. Universitária, 50670-901, Recife - PE, Tel/fax: 81 2126 8588; cepccs@ufpe.br

Parecer do Comitê de Ética do Hospital do Câncer de Pernambuco



DECLARAÇÃO

Declaramos que o projeto de Pesquisa nº 21/2008 intitulado "AVALIAÇÃO DA TRANSMISSÃO SEXUAL DO HHV-8 EM PARCEIROS SEXUAIS NA CIDADE DO RECIFE", apresentado pela pesquisadora responsável **Catarina da Mata Vasconcelos Brasil**, foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos do Hospital de Câncer de Pernambuco /HCP.

Os autores deverão remeter cópia do artigo publicado para arquivo na Biblioteca do HCP e terão que mencionar nas publicações a Instituição onde o trabalho foi realizado.

Recife, 14 de outubro de 2008.

Atenciosamente,

Dr. Felipe Dubourdq
Coordenador

Comissão de Ética em Pesquisa
Hospital de Câncer de Pernambuco

APÊNDICES

AVALIAÇÃO DA TRANSMISSÃO SEXUAL DO HHV-8 EM PARCEIROS

SEXUAIS NA CIDADE DO RECIFE

Sigla do Hosp. - Paciente No.

QUESTIONÁRIO PARA O PARCEIRO

Hospital: _____ Prontoatório No.: _____ Data: _____
 _____/_____/_____

Nome _____ do _____ Paciente: _____

Endereço: _____

Telefone para contato: _____ (Falar com: _____)

Renda familiar: _____ (SM) No. de pessoas que moram na casa: _____

Grau de escolaridade:

☐ Não alfabetizado ☐ Educação Infantil ☐ Ensino fundamental ☐ Ensino médio ☐ Ensino superior

(C= completo; I= incompleto)

Idade da paciente: _____ Idade 1a. relação: _____

Quantas parceiras já teve? _____ Já teve relações com prostituta? _____

É circuncisado?: _____

Se sim, tinha que idade quando foi circuncisado? _____

Tem história de irritação crônica na glândula? Sim: ☐ Não ☐ Há quanto tempo? _____

História de DST? ☐ Não (condiloma, crista de galo, gonorréia, sífilis, cancro mole, ...)

☐ Sim (Quais: _____)

Fumante: ☐ Ex-fumante: ☐ Por quanto tempo: _____ Nunca fumou: ☐

Tinha quantos anos quando começou a fumar: _____ Parou há quanto tempo? _____

Geralmente quanto fuma(va) por dia?: _____ (☐ Cigarros ☐ Cachimbos ☐ Charutos)

(0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30, 30-40, +40)

Cor da pele:

☐ Branca ☐ Mulata ☐ Negra ☐ Índia ☐ Oriental

Citologia ou biópsia realizada recentemente: _____

Data: _____

_____/_____/_____

1- Negativa

2- Inflamatória ☐, atrofia celular ☐, alterações reativas e reparativas ☐, metaplasia ☐

3- HPV ☐, ASCUS ☐, AGCUS ☐, ou SIL de baixo grau (NIP I) ☐

4- SIL de alto grau (NIP II ☐ ou NIP III/ Carcinoma "in situ" ☐)

5- Carcinoma invasivo

Primeiro que fez: ☐ Nunca fez: ☐ Segundo ou mais: ☐

Resultado da genitalioscopia: _____

1- Normal

Higiene: ☐ Boa ☐ Moderada ☐

Nenhuma

2- Atipia colposcópica

Fimose? ☐ Sim ☐ Não

3- SIL de baixo grau

Circunsizão? ☐ Completa ☐

Incompleta

4- SIL de alto grau

Realizou biópsia? ☐ Sim ☐ Não

5- Carcinoma invasivo

Caso seja carcinoma, estadiamento clínico ou no cone? _____

1. Micro-invasivo (< 3 mm)

2. Estágio $\geq$ 1-A2 até 1-B

3. Estágio 2 (A ou B)

4. Estágio 3 (A ou B)

5. Estágio 4

Resultado da histologia: _____

1- Normal

2- Cervicite

3- NIP I (SIL de baixo grau)

4- NIP II ou NIP III (SIL de alto grau)

5- Carcinoma invasivo

Caso carcinoma, que tipo histológico? _____

1 - Carcinoma de células escamosas

2 - Adenocarcinoma

3 - Carcinoma adeno-escamoso

Resultado da PCR: _____

AVALIAÇÃO DA TRANSMISSÃO SEXUAL DO HHV-8 EM PARCEIROS
SEXUAIS NA CIDADE DO RECIFE

Sigla do Hosp. - Paciente

No.

QUESTIONÁRIO PARA A PARCEIRA

□□□□-□□□□

Hospital: _____ Prontoário No.: _____ Data:
____/____/____

Nome _____ da _____ Paciente:

Endereço:

Telefone para contato: _____ (Falar com:
_____)

Renda familiar: _____ (SM) No. de pessoas que moram na
casa: _____

Grau de escolaridade:

☐ Não alfabetizado ☐ Educação Infantil ☐ Ensino fundamental ☐ Ensino
médio ☐ Ensino superior
(C= completo; I= incompleto)

Idade da paciente: _____ Idade 1a. relação: _____ Idade 1a.
gravidez: _____

Quantos parceiros já teve? _____ Quantos parceiros teve de 1 ano
para cá? _____

Numero de gestações: _____ No. de partos vaginais: _____ Cesáreas:

Abortos curetados: _____ Abortos não curetados: _____ Curetagens sem
ser por aborto: _____

História de DST?

☐ Não

☐ Sim (Quais: _____)

Está evitando gravidez?

☐ Não

☐ Sim (Como: ☐ Ligação das Trompas, ☐ Pílula, ☐ DIU, ☐ Camisinha, ☐ outros)

Há quanto tempo: _____

Fumante: ☐ Ex-fumante: ☐ Por quanto tempo: _____ Nunca fumou: ☐

Tinha quantos anos quando começou a fumar: _____ Parou há quanto tempo? _____

Geralmente quanto fuma(va) por dia?: _____ (☐ Cigarros ☐ Cachimbos ☐ Charutos)

(0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30, 30-40, +40)

Cor da pele:

☐ Branca ☐ Mulata ☐ Negra ☐ Índia ☐ Oriental

Data da última menstruação: ____/____/____ (dia que chegou a última menstruação?)

Se está na menopausa, está em TRH (tomando hormônio)? Sim ☐, Não ☐

Qual esquema (detalhado)?

Há quanto tempo? _____

Se grávida, quantas semanas? _____ (Idade gestacional)

Sua gravidez é de alto risco? Sim ☐, Não ☐ Por que motivo?

Na sala de parto:

Apresentação fetal: Cefálica ☐, Pélvica completa ☐, Pélvica incompleta ☐, Córmica ☐

Tipo de parto: Normal ☐, Fórceps ☐, Cesárea ☐

Indicação para o mesmo:

Ápgar do 1 e 5 minutos: _____ e _____

Peso do bebê: _____ kg Comprimento do bebê: _____ cm

Capurro somático: _____ semanas

Resultado da citologia mais recente: _____ Data: ____/____/____

1- Negativa

2- Inflamatória ☐, atrofia celular ☐, alterações reativas e reparativas ☐, metaplasia ☐

3- HPV ☐, ASCUS ☐, AGCUS ☐, ou SIL de baixo grau (NIC I) ☐

4- SIL de alto grau (NIC II ☐ ou NIC III/ Carcinoma "in situ" ☐)

5 – arcinoma invasivo

Primeiro que fez: ☐ Nunca fez: ☐ Segundo ou mais: ☐

Data da última prevenção normal (caso esta esteja com alteração):
__/__/__.

Resultado da colposcopia: _____

☐ Satisfatória ☐

Insatisfatória

1- Normal

2 - Atipia colposcópica

3 - SIL de baixo grau

Realizou biópsia? ☐ Sim ☐

Não

4- SIL de alto grau

5 - Carcinoma invasivo

Caso seja carcinoma, estadiamento clínico ou no cone? _____

1 - Micro-invasivo (< 3 mm)

2 - Estágio $\geq$ 1-A2 até 1-B

3 - Estágio 2 (A ou B)

4 - Estágio 3 (A ou B)

5 - Estágio 4

Resultado da histologia: _____

1- Normal

2 - Cervicite

3 - NIC I (SIL de baixo grau)

4- NIC II ou NIC III (SIL de alto grau)

5- Carcinoma invasivo

Caso carcinoma, que tipo histológico? _____

1 - Carcinoma de células escamosas

2 - Adenocarcinoma

3 - Carcinoma adeno-escamoso

Resultado da PCR: _____

Breve exame da cavidade Oral

Locais de Coleta (Swab) – Mucosa oral direita e esquerda.

Presença de lesões visíveis? S ☐ N ☐

Se sim, localização detalhada

Biópsia da lesão? S ☐ N ☐

Se sim, descrever a peça

Pratica sexo oral? S ☐ N ☐

Se sim, faz uso de preservativo S ☐ N ☐

Resultado da PCR: _____

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA – NÍVEL MESTRADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CLÍNICA INTEGRADA

ORIENTANDA: CATARINA DA MOTA VASCONCELOS BRASIL

ORIENTADOR: PROF. DR. JAIR CARNEIRO LEÃO

TÍTULO: AVALIAÇÃO DA TRANSMISSÃO SEXUAL DO HHV-8 EM PARCEIROS SEXUAIS
NA CIDADE DO RECIFE

PARCEIRO - TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO E ESCLARECIDO

CARTA CONVITE

Convido o paciente: _____ a
participar da pesquisa acima intitulada.

1. Pelo presente documento, dou meu consentimento e acordo em participar do trabalho de pesquisa da aluna do Curso de Mestrado em Clínica Integrada da UFPE, Catarina da Mota Vasconcelos Brasil, cuja pesquisa implicará em realizar em nossas pessoas o exame de coleta de Swab (haste flexível com extremidade de algodão, similar a um “cotonete”) de lesão genital para realização do PCR (Reação em Cadeia em Polimerase) com o intuito de avaliar a presença ou não de infecção por HHV-8. E posterior convite da minha parceira para realização de exame na boca e exame de prevenção (colposcopia/citologia), com consulta já agendada para os ambulatórios especializados.
2. Tudo o que é necessário fazer é a coleta de esfregaço da mucosa do pênis com o Swab com soro fisiológico a 0,9%.
3. Fui esclarecido dos riscos de constrangimento, reação adversa ou alergia ao soro fisiológico a 0.9% que os benefícios dos pacientes que participarem desta pesquisa serão obtidos através dos resultados deste estudo, que poderão ajudar aos profissionais de saúde a compreender melhor a transmissibilidade do HHV-8 do homem para a mulher, permitindo assim a adoção de medidas preventivas mais eficazes à prevenção deste evento.
4. Autorizo, ainda que os pesquisadores fiquem de posse do resultado do exame realizado e apresentação deste material em atividades científicas, tendo a garantia de que minha identidade será preservada em todo o momento.
5. Estou ciente de que, em qualquer momento, posso desistir desta pesquisa, sem comprometimento do meu atendimento, tratamento e/ou implicações legais.

Recife, _____ de _____ de 2008.

Paciente: _____.

Responsável: _____.

Responsável pela obtenção do termo: _____.

Testemunha: _____.

Testemunha: _____.

Telefone: Mestranda Catarina Brasil 819172.1531

Endereço: Rua Jonathas de Vasconcelos, 750 apto 1503. Recife-PE.

Orientador: Jair Carneiro Leão 812126.8818

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235. Recife-PE

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA – NÍVEL MESTRADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CLÍNICA INTEGRADA

ORIENTANDA: CATARINA DA MOTA VASCONCELOS BRASIL

ORIENTADOR: PROF. DR. JAIR CARNEIRO LEÃO

TÍTULO: AVALIAÇÃO DA TRANSMISSÃO SEXUAL DO HHV-8 EM PARCEIROS SEXUAIS NA CIDADE DO RECIFE

PARCEIRA -TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO E ESCLARECIDO
CARTA CONVITE

Convido o paciente: _____ a
participar da pesquisa acima intitulada.

1. Pelo presente documento, dou meu consentimento e acordo em participar do trabalho de pesquisa da aluna do Curso de Mestrado em Clínica Integrada da UFPE, Catarina da Mota Vasconcelos Brasil, cuja pesquisa implicará em realizar em minha pessoa os exames de oroscopia (para coleta do material da boca) e exame preventivo de rotina (citologia/colposcopia) em ambulatórios especializados para a realização do PCR (Reação em Cadeia Polimerase) que é um exame laboratorial com o intuito de avaliar a presença ou não de infecção por HHV-8.
2. Tudo o que é necessário fazer é a coleta de esfregaço da mucosa cervical (do útero) com o Swab (haste flexível com extremidade de algodão, similar a um “cotonete”) com soro fisiológico a 0,9% seguida de inspeção da e coleta da mucosa da boca com outro Swab embebido em ácido acético a 3%.
3. Fui esclarecida dos riscos de constrangimento, reação adversa ou alergia ao soro fisiológico a 0,9% ou ao ácido acético a 3% e que os benefícios dos pacientes que participarem desta pesquisa serão obtidos através dos resultados deste estudo, que poderão ajudar aos profissionais de saúde a compreender melhor a transmissibilidade do HHV-8 do homem para a mulher, permitindo assim a adoção de medidas preventivas mais eficazes à prevenção deste evento.
4. Autorizo, ainda que os pesquisadores fiquem de posse do resultado d o exame realizado e apresentação deste material em atividades científicas, tendo a garantia de que minha identidade será preservada em todo o momento.
5. Estou ciente de que, em qualquer momento, posso desistir desta pesquisa, sem comprometimento do meu atendimento, tratamento e/ou implicações legais.

Recife, ____ de _____ de 2008.

Paciente: _____.

Responsável: _____.

Responsável pela obtenção do termo: _____.

Testemunha: _____.

Testemunha: _____.

Telefone: Mestranda Catarina Brasil 819172.1531

Endereço: Rua Jonathas de Vasconcelos, 750 apto 1503. Recife-PE.

Orientador: Jair Carneiro Leão 812126.8818

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235. Recife-PE

NOMAS DA REVISTA SEXUALLY TRANSMITTED DISEASES

Online Submission and Review System

Scope

SEXUALLY TRANSMITTED DISEASES is a peer-reviewed journal that welcomes the submission of papers on clinical, laboratory, epidemiologic, sociologic, and historical topics pertinent to *Sexually Transmitted Diseases* and related fields. The Journal publishes:

Original articles

Reports of newly delineated syndromes; new investigations into mechanism of disease; descriptions of clinical experiences; reports of therapeutic trials; and other original contributions to etiology, pathology, epidemiology, sociology, diagnosis, or treatment. In general, authors should target a maximum length of 3000 words. If this is not possible, the author must provide an explanation in the cover letter to the editor.

Notes: Brief (usually not more than 1,500 words) case reports or descriptions of unusual manifestations of disease or of new procedures.

Reviews

Detailed critical surveys of a particular topic.

Editorials/Commentaries

Statements of personal opinion or evaluation of current progress in a particular area of research.

Letters

Opinion on topics recently under consideration in this journal or new research/data that do not warrant a full-length article or note. Letters should not exceed 500 words. The editor reserves the right to shorten and otherwise edit such letters. When indicated, the author of the article in question will be shown the letter and given an opportunity to comment on the letter in the same issue.

Photographs: Photographs of relevance to the field of STD. Pictures may be of microbes or clinical manifestations. We solicit photos that are of scientific interest, or that have an instructional point to make. A brief description or explanatory text must be submitted along with the photograph. Limit the text to a few sentences.

Online Submissions

All submissions must be submitted online through our website at <https://www.editorialmanager.com/std>

First-time users: Please click the Register button from the menu above and enter the requested information. On successful registration, you will be sent an e-mail indicating your user name and password. Print a copy of this information for future reference. Note: If you have received an e-mail from us with an assigned user ID and password, or if you are a repeat user, do not register again. Just log in. Once you have an assigned ID and password, you do not have to re-register, even if your status changes (that is, author, reviewer, or editor).

Authors: Please click the log-in button from the menu at the top of the page and log in to the system as an Author. Submit your manuscript according to the author instructions. You will be able to track the progress of your manuscript through the system. If you experience any problems, please contact: Jeanne Moncada, STD@ucsf.edu, phone 415-824-5115, fax 415-821-8945. Requests for help and other questions will be addressed in the order received.

Ethical/Legal Considerations: A submission must be an original contribution not previously published (except as an abstract or a preliminary report), must not be under consideration for publication elsewhere and, if accepted, must not be published elsewhere in similar form, in any language, without the consent of Lippincott Williams & Wilkins. Each person listed as an author is expected to have participated in the study to a significant extent. Although the editors and referees make every effort to ensure the validity of published manuscripts, the final responsibility rests with the authors, not with the Journal, its editors, or the publisher.

Patient anonymity and informed consent: It is the author's responsibility to ensure that a patient's anonymity be carefully protected and to verify that any experimental investigation with human subjects reported in the manuscript was performed with informed consent and following all the guidelines for experimental investigation with human subjects required by the institution(s) with which all the authors are affiliated. Authors should mask patients' eyes and remove patients' names from figures unless they

obtain written consent from the patients and submit written consent with the manuscript.

Permissions: Authors must submit written permission from the copyright owner (usually the publisher) to use direct quotations, tables, or illustrations that have appeared in copyrighted form elsewhere, along with complete details about the source. Any permissions fees that might be required by the copyright owner are the responsibility of the authors requesting use of the borrowed material, not the responsibility of Lippincott Williams & Wilkins.

General Requirements: For submissions, all text should be double-spaced. Font size should be no smaller than 12 pt. Left and right margins should be set at 1 inch. Number all pages in sequence, including the abstract, text, references, tables and figures.

Compliance with NIH and Other Research Funding Agency Accessibility Requirements: A number of research funding agencies now require or request authors to submit the post-print (the article after peer review and acceptance but not the final published article) to a repository that is accessible online by all without charge. As a service to our authors, LWW will identify to the National Library of Medicine (NLM) articles that require deposit and will transmit the post-print of an article based on research funded in whole or in part by the National Institutes of Health, Wellcome Trust, Howard Hughes Medical Institute, or other funding agencies to PubMed Central. The Copyright Transfer Agreement provides the mechanism.

Copyright: From the website, download the "Authorship Responsibility, Financial Disclosure, and Copyright Transfer" form. Fill in the information on the article title, corresponding author, mailing address and telephone/fax numbers. Authors must sign the form and submit it at the time of manuscript submission: either online (a scanned copy of the signed copyright) or offline (faxed or mailed to the STD Editorial Office).

Organization and Format: Manuscripts that do not adhere to the following instructions will be returned to the corresponding author for technical revision before undergoing peer review.

Original Articles

Title page: Must contain the following information (a) complete manuscript title; (b) authors' full names, highest academic degrees, and affiliations; (c) name and address for correspondence, including fax number, telephone number, and e-mail address; (d) address for reprints if different from that of corresponding author; (e) word counts for the summary, Abstract, and text; number of figures

and tables; and (f) all sources of support, including pharmaceutical and industry support, that require acknowledgment. The title page must also include a disclosure of funding received for this work from any of the following organizations: National Institutes of Health (NIH); Wellcome Trust; Howard Hughes Medical Institute (HHMI); and other(s).

Short summary: A brief summary of your findings is needed for the Table of Contents. Limit the summary to a few sentences (<30 words). For example: *A study of clients in an STD clinic in Malibu, California found that women with chlamydial infection were younger than women with gonorrhea and were less likely to have multiple partners.*

Abstract: Limit the abstract to 250 words. Use the following subheads: Background, Methods, Results, and Conclusions. Do not cite references in the abstract. Limit the use of abbreviations and acronyms. List three to five key words.

Text: Organize the manuscript into these main headings: Introduction, Materials and Methods, Results, and Discussion. References, Tables, and Figures should follow. Define abbreviations at first mention in text and in each table and figure. If a brand name is cited, supply the manufacturer's name and address (city and state/country).

Abbreviations: For a list of standard abbreviations, consult the Council of Biology Editors Style Guide (available from the Council of Science Editors, 9650 Rockville Pike, Bethesda, MD 20814) or other standard sources. Write out the full term for each abbreviation at its first use unless it is a standard unit of measure.

References: The authors are responsible for the accuracy of the references. Key the references (double-spaced) at the end of the manuscript. Number the references in text in the order of appearance. Cite unpublished data-such as papers submitted but not yet accepted for publication and personal communications, including e-mail communications-in parentheses in the text. If there are more than three authors, name only the first three authors and then use et al. Refer to the *List of Journals Indexed in Index Medicus* for abbreviations of journal names, or access the list at <http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html>. Sample references can be found on our website.

Photographs/Figures: Art should be created/scanned and saved and submitted as either a TIFF (tagged image file format), an EPS (encapsulated PostScript) file, or a PPT (PowerPoint) file. Line art must have a resolution of at least 1200 dpi (dots per inch), and electronic photographs-radiographs, CT scans, and so on-and scanned images must have a resolution of at least 300 dpi. If fonts are used in the artwork, they must be converted to paths or outlines or they must be embedded in the files. Color images must be created/scanned and saved and submitted as CMYK files. Please note that artwork generated

from office suite programs such as CorelDRAW and MS Word and artwork downloaded from the Internet (JPEG or GIF files) cannot be used. Cite figures consecutively on the site, and number them in the order in which they are discussed. All electronic art that cannot be successfully uploaded must be submitted on a 3 1/2-inch high-density disk, a CD-ROM, or an Iomega Zip disk, accompanied by high-resolution laser prints of each image.

Figure legends: Include legends for all figures. They should be brief and specific, and they should appear on a separate manuscript page after the references. Use scale markers in the image for electron micrographs, and indicate the type of stain used.

Color figures: The journal accepts for publication color figures/ photographs that will enhance an article. Authors who submit color figures will receive an estimate of the cost for color reproduction. If they decide not to pay for color reproduction, they can request that the figures be converted to black and white at no charge.

Supplemental Digital Content: Authors may submit supplemental digital content to enhance their article's text and to be considered for online-only posting. Supplemental digital content may include the following types of content: text documents, graphs, tables, figures, graphics, illustrations, audio, and video. Cite all supplemental digital content consecutively in the text. Citations should include the type of material submitted, should be clearly labeled as Supplemental Digital Content, should include a sequential number, and should provide a brief description of the supplemental content. Provide a legend of supplemental digital content at the end of the text. List each legend in the order in which the material is cited in the text. The legends must be numbered to match the citations from the text. Include a title and a brief summary of the content. For audio and video files, also include the author name, videographer, participants, length (minutes), and size (MB). Authors should mask patients' eyes and remove patients' names from supplemental digital content unless they obtain written consent from the patients and submit written consent with the manuscript. Copyright and Permission forms for article content including supplemental digital content must be completed at the time of submission.

Supplemental Digital Content Size & File Type Requirements: To ensure a quality experience for those viewing supplemental digital content, it is suggested that authors submit supplemental digital files no larger than 10 MB each. Documents, graphs, and tables may be presented in any format. Figures, graphics, and illustrations should be submitted with the following file extensions: .tif, .eps, .ppt, .jpg, .pdf, .gif. Audio files should be submitted with the following file extensions: .mp3, .wma. Video files should be submitted with the following file extensions: .wmv, .mov, .qt, .mpg, .mpeg, .mp4. Video files should also be formatted with a 320 X 240 pixel minimum screen size. For more information, please review LWW's requirements for submitting supplemental digital content: <http://links.lww.com/A142>

Tables: Create tables using the table-creating and editing feature of your word processing software (e.g., Word, WordPerfect). Do not use Excel or comparable spreadsheet programs. Group all tables in a separate file. Cite tables consecutively in the text, and number them in that order. Each table should appear on a separate sheet and should include the table title, appropriate column heads, and explanatory legends (including definitions of any abbreviations used). Do not embed tables within the body of the manuscript. They should be self-explanatory and should supplement, rather than duplicate, the material in the text.

Style: Pattern manuscript style after the *American Medical Association Manual of Style* (9th edition). *Stedman's Medical Dictionary* (27th edition) and *Merriam Webster's Collegiate Dictionary* (10th edition) should be used as standard references. Refer to drugs and therapeutic agents by their accepted generic or chemical names, and do not abbreviate them. The name should not be abbreviated. Use code numbers only when a generic name is not yet available. In that case, supply the chemical name and a figure.

Notes: These are brief articles that do not warrant a full-length paper, usually not more than 1,500 words. A title page is required. Each note must have an abstract of less than 50 words (do not use separate subheads). A short summary should also be submitted. All text should be in one section. Several paragraphs are permissible. Separate headings (Introduction, Materials and Methods, etc.) should not be used. The number of figures and tables should be kept to a minimum. The reference section is the same as for original articles.

Reviews: A title page and short summary are required. Abstract (do not use separate subheads) should be approximately 250 words that summarize the basic content of the review. The reference section is the same as for original articles.

Editorials/Commentaries: A title page is required. Do not submit an abstract or short summary. In general, these articles are invited submissions. It is recommended that unsolicited Editorials be discussed with the Editor prior to submission. If accepted for publication, an uninvited submission will be published as a Commentary. Limit the Editorial to approximately 1,500 words. The reference section is the same as for original articles.

Letters: A letter should not exceed 500 words. A title page is required. Do not submit an abstract or short summary. For letters commenting on recently published articles, the letter should reference the particular article. The reference section should be kept to a minimum.

Photographs: Do not submit a title page, abstract or short summary. Photographs may be submitted as color (no charge for this type of

submission) or black and white. A brief description or explanatory text must be submitted along with the photograph. Limit the text to a few sentences.

After Acceptance

Page proofs and corrections: Corresponding authors will receive electronic page proofs to check the copyedited and typeset article before publication. Portable document format (PDF) files of the typeset pages and support documents (e.g., reprint order form) will be sent to the corresponding author by e-mail. Complete instructions will be provided with the e-mail for downloading and printing the files and for faxing the corrected page proofs to the publisher. Those authors without an e-mail address will receive traditional page proofs. It is the author's responsibility to ensure that there are no errors in the proofs. Changes that have been made to conform to journal style will stand if they do not alter the authors' meaning. Only the most critical changes to the accuracy of the content will be made. Changes that are stylistic or are a reworking of previously accepted material would be disallowed. The publisher reserves the right to deny any changes that do not affect the accuracy of the content. Authors may be charged for alterations to the proofs beyond those required to correct errors or to answer queries. Proofs must be checked carefully and corrections faxed within 24 to 48 hours of receipt, as requested in the cover letter accompanying the page proofs.

Publication: All articles will be published online at <http://www.stdjournal.com> prior to print publication. These articles will be listed as "ahead of print citations" in Pub Med. Once the article is print published, the information will be updated in Pub Med.

Reprints: The journal does not provide to the author a pdf or reprint of their article. Authors will receive a reprint order form and a price list with the page proofs. Reprint requests should be faxed to the publisher with the corrected proofs, if possible. Reprints are normally shipped 6 to 8 weeks after publication of the issue in which the item appears. Contact the Reprint Department, Lippincott Williams & Wilkins, 351 W. Camden Street, Baltimore, MD 21201-2436 with any questions.

Publisher's contact: Fax corrected page proofs, reprint order form, and any other related materials to Proof Manager, *Sexually Transmitted Diseases*, 410-691-6235. Color proofs should be returned to Proof Manager, *Sexually Transmitted Diseases*. Cadmus Professional Communications, 8621 Robert Fulton Drive, Columbia, MD 21046.

Editor's contact: The STD Editorial Office fax number is 415-821-8945. The STD Editorial Office address is: Julius Schachter, PhD; Editor; Chlamydia Laboratory at SFGH, Bldg 30, Rm 416; 1001 Potrero Ave, San Francisco, CA 94110.