

## DIAGNOSTICUL INFECȚIILOR GENITALE EXTERNE INDUSE DE VIRUSURILE PAPILOMA UMANE (HPV)

### THE DIAGNOSIS OF HUMAN PAPILOMA VIRUS (HPV) EXTERNAL GENITAL INFECTIONS

FLORICA ȘANDRU\*, VIVIANA DRAGODAN\*\*, M. DUMITRAȘCU\*\*\*

#### Rezumat

Infecțiile genitale externe induse de virusurile papilloma umane (HPV) implică variate forme clinice, care pot coexista simultan, și anume: veruci tegumentare vulgare și plane, epidermodisplazii veruciforme, hiperplazii focale epiteliale, papuloza bowenoidă, cancere genitale externe. Studiile recente subliniază creșterea explozivă a acestor infecții, HPV fiind unele dintre cele mai frecvente virusuri cu transmitere sexuală - aproximativ 630 milioane de cazuri în întreaga lume conform statisticilor WHO, 2010. Diagnosticul infecției genitale externe de etiologie HPV include: examenul direct, diagnosticul de laborator - cu diagnosticele histopatologic, molecular și serologic - și diagnosticul diferențial. Un diagnostic precoce și complex va ajuta la instituirea unui tratament adecvat, a prevenției recurențelor, cât și la reducerea imensului rezervoar infecțios reprezentat de persoanele contaminate cu HPV.

**Cuvinte cheie:** infecții genitale externe, diagnostic, virusuri papilloma umane (HPV).

#### Summary

Human papilloma virus (HPV) external genital infections have several clinical forms that can coexist, namely: cutaneous common warts, flat warts, veruciform epidermodysplasia, focal epithelial hyperplasia, bowenoid papulosis, external genital cancer. Recent studies underline the explosive increase in the prevalence of these infections, HPV being one of the most frequent sexually transmitted viruses - approximately 630 million cases worldwide according to WHO 2010 statistics. The diagnosis of the external genital infection with HPV includes the direct examination of the patient, the laboratory diagnosis - histopathological, molecular and serologic diagnosis - and the differential diagnosis. A prompt and complex diagnosis helps in the initiation of adequate treatment, in the prevention of future relapses, as well as in the reduction of the huge infectious reservoir represented by the HPV contaminated persons.

**Keywords:** external genital infections; diagnosis; human papilloma virus (HPV).

DermatoVenerol. (Buc.), 57: 75-81

#### 1. Introducere

Virusurile papilloma umane (HPV) sunt răspândite global, prevalența lor fiind destul de dificil de apreciat din cauza lipsei de teste standard pentru diagnostic, mai simple și cu preț de cost scăzut. Studiile recente subliniază

#### 1. Introduction

Human papilloma viruses (HPV) have a global distribution, their prevalence being quite difficult to determine due to the lack of standardized, simple and cheap diagnostic tests. Recent studies underline the explosive increase in

\* Clinica de Dermatologie Oncologică și Alergologie, Spitalul Universitar de Urgență Elias / Clinic of Dermatological Oncology and Allergy, Emerging University Hospital Elias.

\*\* Institutul de Virusologie „Ștefan S. Nicolau” / Virusology Institute „Ștefan S. Nicolau”.

\*\*\* Centrul Medical „Euromed” / „Euromed” Medical Center.

creșterea explozivă a acestor infecții, HPV fiind unele dintre cele mai frecvente virusuri cu transmitere sexuală - aproximativ 650 milioane de cazuri în întreaga lume după statisticile WHO, 2010. În prezent, se apreciază că peste 50 de tulpini de HPV pot infecta aria genitală, riscul contaminării cu HPV fiind maxim în primii 10-20 ani de la primul contact sexual [1,2]. Aspectele clinice, în aria genitală externă, sunt diverse și pot coexista, de la infecțiile subclinice la cancere invazive. Astfel, se descriu: veruci tegumentare vulgare și plane, epidermodisplazii veruciforme, hiperplazii focale epiteliale, papuloza bowenoidă, cancere genitale externe. Aspectul leziunilor depinde și de zona afectată: localizarea pe zonele cu epiteliu sau epiderm bine keratinizate duce la apariția unor zone keratozice ce seamănă cu verucile vulgare; localizarea pe zone cu țesuturi laxe duce la formarea de condiloame acuminat; localizarea pe zone umede (șanț balanopreputial, meat uretral, mucoasă vaginală, mucoasă sau vestibul anal) duce la formarea de condiloame moi la palpare, exofitice, de culoare roșie [3,4]. Unele studii au arătat că carcinoamele tegumentare de tip scuamos sau bazocelulare, localizate în aria genitală externă, s-au dovedit a fi rezultatul infecției cu genotipuri oncogene de HPV în aproximativ 30% dintre cazuri, cel mai frecvent întâlnit fiind HPV16. Se apreciază că aproximativ 10% din totalul infecțiilor cu HPV cunoscute au localizare genitală, în 40% dintre cazuri, localizările fiind multifocale (col, vagin, vulvă) și/sau subclinice [5,6,7]. Există studii care arată că 10-20% dintre femeile active sexual, în SUA, sunt infectate cu HPV; alte studii au constatat că 2/3 dintre bărbații contacti sexuali ai femeilor cu condiloame acuminat genitale externe au fost infectați cu acest virus. Pe de altă parte, partenerii bărbaților cu vegetații veneriene sunt contaminate în 82% dintre cazuri. De asemenea, se apreciază că 8% dintre bărbații cu vegetații veneriene peniene și 20% dintre femeile cu vegetații veneriene vulvare au concomitent și vegetații perianale, fapt explicat prin localizarea multicentrică a infecției cu HPV. Au fost descrise cazuri de contaminare virală a copiilor datorită abuzurilor sexuale [8,9,10]. Riscul de infectare cu HPV este asociat cu următorii factori: debut precoce al vieții sexuale (< 13 ani, în prezent), număr crescut de parteneri sexuali, variația

the prevalence of these infections, HPV being one of the most frequent sexually transmitted viruses - approximately 650 million cases worldwide according to WHO 2010 statistics. Presently, it is estimated that more than 50 HPV types can infect the genital area, the risk of HPV contamination being highest during the first 10-20 years of an individual's sexual life [1,2]. The clinical aspects of the HPV infection of the external genital area are diverse and can coexist, ranging from subclinical infections to invasive cancers. The following forms are described: common and flat cutaneous warts, veruciform epidermodysplasia, focal epithelial hyperplasia, bowenoid papulosis and external genital cancers. The aspect of the lesions also depends on the affected area: localization of the infection to well keratinized epidermis leads to the appearance of keratotic lesions resembling common warts; localization in areas with lax tissues leads to the formation of condyloma acuminatum; localization in moist areas (the balanopreputial sulcus, urethral meatus, vaginal mucosa, anal mucosa or vestibule) leads to the formation of soft, exophytic, red colored condylomas [3,4]. A series of studies showed that squamous and basal cell carcinomas of the external genital area are the result of infection with oncogenic HPV genotypes in approximately 30% of cases, the most often encountered genotype being HPV16. It is estimated that approximately 10% of the all known HPV infections are localized in the genital area, in 40% of these cases the localizations being multifocal (cervix, vagina, vulva) and/or subclinical [5,6,7]. Other studies showed that 10-20% of all sexually active women in USA are HPV positive and 2/3 of sexual partners of women with condyloma acuminatum in the external genital area are also infected. On the other hand, female partners of men with condyloma acuminatum are contaminated in 82% of cases. Moreover, it is estimated that 8% of men with penile condylomas and 20% of women with vulvar condylomas have concomitant perianal lesions, this being explained by the multicentric localization of HPV infection. Cases of viral contamination of sexually abused children have also been described [8,9,10]. The risk of HPV infection is associated with the following factors: early beginning of sexual life (< 13 years presently), high number of sexual partners, variation of forms of unprotected sexual

formelor de sex neprotejat (genital, oral, anal), comportamentul sexual al partenerului masculin (bărbați cu parteneri multiple), multiparitatea, condițiile socio-economice precare (care favorizează prostituția). Co-factorii adjuvanți implicați în infectarea cu HPV sunt: imunosupresia (consecutivă sarcinii, transplantului de organ, bolii neoplazice deja instalate sau infecției HIV), fumatul, co-infecțiile virale și bacteriene (coinfecția cu virusurile herpes simplex 1 și 2, cu Chlamydia trachomatis, cu Trichomonas vaginalis, cu HIV), deficiențe nutriționale (deficiențe de vitamine C, A, de foliați, de micronutrienți), stimularea progesteronică (contracepția hormonală) și de predispoziția genetică [11,12,13,14,15]. Căile de transmitere sunt: prin contact sexual, pe verticală (de la mamă la făt), orizontală (contact direct cu pielea infectată, contract prelungit cu îmbrăcămintea contaminată) și iatrogenă (biotom, instrumente de colposcopie nesterilizate). Susceptibilitatea este generală, mult crescută la indivizii cu imunosupresie [2,6,16,17].

## 2. Diagnostic

Diagnosticul infecției genitale externe de etiologie HPV include: *examenul direct, diagnosticul de laborator și diagnosticul diferențial*.

2.1. *Examenul direct* al leziunilor genitale externe suspicionate a fi induse de HPV implică utilizarea următoarelor metode:

- metoda clinică - pentru condyloma acuminata tipice cu aspect clinic caracteristic și care nu impun testări suplimentare;
- aplicații locale de acid acetic diluat (3-5%), timp de 5 minute - pentru condiloamele plane; celulele infectate cu HPV sunt acidofile și se albesc după aplicarea soluției de acid acetic; este un test nespecific, aspecte similare caracterizând și balanita cu Candida spp.;
- aplicații locale cu soluție Lugol - pentru infecții subclinice perivulvare; după aplicare zonele suspicionate a fi infectate cu HPV apar colorate în galben pe fond brun-închis;
- vulvoscopia, penoscopia și meatopenoscopia - sunt necesare pentru depistarea leziunilor displazice cu manifestări subclinice; se aplică deseori în asociație cu badijonările cu acid acetic sau soluție Lugol [4].

intercourse (genital, oral, anal), sexual behavior of the male partner (men with multiple partners), multiparity, precarious socio-economical status (that favours prostitution). Adjuvant cofactors for HPV infection are: immunosuppression (subsequent to pregnancy, organ transplant, neoplasm or HIV infection), smoking, viral and bacterial coinfections (coinfection with herpes simplex virus 1 and 2, Chlamydia trachomatis, Trichomonas vaginalis, HIV), nutritional deficiencies (vitamin C, A, folat, micronutrients deficiency), progesteron stimulation (hormonal contraception) and genetic predisposition [11,12,13,14,15]. Transmission of the virus takes place via sexual contact, vertically (from mother to fetus), horizontally (direct contact with infected skin, prolonged contact with contaminated clothes) and iatrogenically (biotom, colposcopy instruments that are not sterilized). Susceptibility is general, but much increased in immunosuppressed individuals [2,6,16,17].

## 2. Diagnostic

The diagnosis of external genital HPV infection includes: *direct examination, laboratory diagnosis and differential diagnosis*.

2.1. *The direct examination* of the lesions suspected to be induced by HPV implies the utilization of the following methods:

- the clinical method - for typical condyloma acuminatum with characteristic clinical aspect that does not necessitate further tests;
- local applications of diluted acetic acid (3-5%) for 5 minutes - for flat condylomas; the HPV infected cells are acidophilic and whiten after application of the acetic acid solution; this test is not specific, similar aspects being present in Candida spp. balanitis;
- local applications of Lugol solution - for perivulvar subclinical infections; after application, the areas suspected to be infected with HPV are colored in yellow on a light brown background;
- vulvoscopy, penoscopy and meatopenoscopy - are necessary for the identification of dysplastic lesions with subclinical manifestations; they are often used in association with applications of acetic acid or Lugol solution [4].

2.2. *Diagnosticul de laborator* al infecțiilor genitale externe induse de HPV, de uz curent, se face prin evidențierea ADN viral în celulele infectate, prelevate din leziuni, și, în mai mică măsură, prin evidențierea proteinelor virale în țesuturi. Produsele biologice utilizate pentru testări sunt reprezentate de: fragmente de condiloame (excizate chirurgical), raclaje din leziunile genitale externe atipice, prelevate din uretră (mai ales pentru leziuni localizate la nivelul meatului uretral la bărbați). *Diagnosticul de laborator cuprinde: diagnosticul histopatologic, diagnosticul molecular și diagnosticul serologic* [18].

2.2.1. *Diagnosticul histopatologic*, util în cazul diagnosticului incert, pune în evidență aspecte specifice infecției genitale cu HPV și, mai ales, poate evidenția leziunile displazice sugestive pentru cancer cutanat în zonele genitale externe. În cazul condiloamelor genitale externe aspectele histopatologice constau în: papilomatoză, cu dimensiuni variate, în funcție de tipul leziunii tegumentare (plană sau acuminată); diskeratoză (para - sau hiperkeratoză); acantoza epiteliului dermoid (fără modificarea straturilor bazale); koilocitoză (caracteristică infecției celulei - gazdă cu HPV): halou citoplasmatic nuclear, nucleu celular mărit, hiperchromatic, uneori atipii nucleare și mai mulți nuclei prezenți. Pentru leziunile displazice localizate la nivelul tegumentelor genitale externe sugestive pentru cancer cutanat, aspectele histopatologice întâlnite sunt extrem de polimorfe, predominând hiperplazia epitelială, hiperkeratoza și hiperacantoza. Evoluția spre un cancer de piele este semnalată de mărirea în volum a leziunii displazice, indurarea bazei, accentuarea hiperkeratozei, ulcerare, fisurare, examenul histopatologic urmând apoi protocolul de diagnostic al cancerelor de piele [4].

2.2.2. *Diagnosticul molecular*. Deoarece HPV nu poate fi cultivat în sisteme clasice de culturi de celule, cea mai eficientă metodă de diagnostic de laborator al infecțiilor genitale externe induse de HPV este decelarea ADN viral cu ajutorul tehnicilor de biologiemoleculară. Potențialul oncogen diferit al tipurilor de HPV, alături de prezența ADN viral impune obligativitatea stabilirii genotipului/genotipurilor de HPV. Evidențierea genotipurilor cu risc crescut este

2.2. *The laboratory diagnosis* of HPV external genital infections is currently performed by the identification of viral DNA in infected cells prelevated from the lesions and, to a lesser extent, by the identification of viral proteins in tissues. The biological products tested are: fragments of condylomas (surgically excised), scrapings from atypical external genital lesions, samples prelevated from the urethra (especially for lesions localized at the urethral meatus in men). *The laboratory diagnosis encompasses the histopathological, molecular and serological diagnosis* [18].

2.2.1. *The histopathological diagnosis* is useful in the case of uncertain clinical diagnosis. It identifies the specific aspects of HPV genital infection, as well as dysplastic lesions suggestive of skin cancer. In the case of external genital condylomas, the histopathological changes are: papillomatosis of various degrees, depending on the type of the skin lesion (flat or acuminated); dyskeratosis (para - or hyperkeratosis); acanthosis of the dermoid epithelium (without changes of the basal layer); koilocytosis (characteristic of HPV infection of the host cell): nuclear cytoplasmic halo, enlarged and hyperchromatic nucleus, occasionally with nuclear atypies and multiple nucleoli. In dysplastic lesions localized in the external genital area suggestive of skin cancers, the histopathologic aspects are extremely polymorphic, the predominating features being epithelial hyperplasia, hyperkeratosis and acanthosis. Evolution towards a skin cancer is signaled by enlargement of a dysplastic lesion, by the induration of its base, accentuation of the hyperkeratosis, ulceration, fissuration of the lesion, the histopathologic exam therefore following the diagnostic protocol for skin cancer [4].

2.2.2. *The molecular diagnosis*. As HPV can not be cultivated in classical systems of cell cultures, the most efficient laboratory diagnosis method for external genital HPV infections is the identification of viral DNA with the aid of molecular biology techniques. The different oncogenic potential of HPV genotypes, along with the presence of viral DNA impose the obligativity of HPV genotype identification. The

importantă în screening-ul primar și în managementul pacienților cu leziuni minore și infecție persistentă cu un genotip cu risc crescut de HPV, precum și după terapie în scopul identificării recurenței virale [18,19,20]. Tehnicile de laborator utilizate sunt tehnici de extracție a acidului nucleic viral, tehnici de hibridizare și tehnici de amplificare a genomului viral. Pentru extracția acidului nucleic viral sunt utilizate teste comerciale, cel mai frecvent folosite fiind: Instant Virus DNA Kit Roboscreen - aj Roboscreen GmbH, QIAamp® DNA Mini Kit - Qiagen GmbH, High Pure PCR Template Preparation Kit - Roche Diagnostics GmbH.

Cele mai folosite tehnici de hibridizare sunt:

- Southern blot, dot blot; dezavantajele sunt: necesită o cantitate mare de produs biologic, au sensibilitate scăzută, necesită timp crescut de lucru și personal specializat;
- hibridizarea in situ: detectarea acidului nucleic viral în frotiuri celulare sau secțiuni histologice (test comercial Inform® HPV - Ventana Medical Systems);
- tehnica Hybride Capture (HC I și HC II - Digene Corporation) detectează direct acizii nucleici - țintă, folosind amplificarea semnalului; genotipurile de HPV pe care le detectează HC II sunt: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68.

Tehnica de amplificare a genomului viral, de uz curent, este PCR (reacția de amplificare a polimerazei, teste comerciale); tehnica constă în generarea rapidă a unor copii multiple ale unei secvențe nucleotidice - țintă (ADN sau ADNc) dintr-o genă de interes; tehnica detectează ADN-ul viral, dar nu evidențiază genotipul; utilă pentru investigații epidemiologice, dar tehnologia necesară și costurile sunt foarte mari pentru un diagnostic de rutină [18,19,20].

În prezent o serie de teste comerciale combină ambele tehnici - PCR + hibridizare - pentru detecția și genotiparea HPV:

- Inno - Lipa HPV Genotyping CE Amp IVD CE AMP KIT & Inno - Lipa HPV Genotyping CE Line Probe Assay IVD CE KIT, Innogenetics GmbH - detectează 28 de genotipuri de HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 43, 44, 45, 51, 52, 53, 54, 56, 58, 59, 66, 68, 69, 70, 71, 73, 74, 82;
- Linear Array HPV Genotyping Test, Roche Diagnostics GmbH - detectează 37 de

identificarea genotipurilor cu risc ridicat este importantă în screening-ul primar și managementul pacienților cu leziuni minore și infecție persistentă cu un genotip cu risc ridicat de HPV, precum și după terapie în scopul identificării recurenței virale [18,19,20]. Tehnicile de laborator utilizate sunt tehnici de extracție a acidului nucleic viral, tehnici de hibridizare și tehnici de amplificare a genomului viral. Pentru extracția acidului nucleic viral sunt utilizate teste comerciale, cel mai frecvent folosite fiind: Instant Virus DNA Kit Roboscreen - aj Roboscreen GmbH, QIAamp® DNA Mini Kit - Qiagen GmbH, High Pure PCR Template Preparation Kit - Roche Diagnostics GmbH.

Cele mai folosite tehnici de hibridizare sunt:

- Southern blot, dot blot; dezavantajele sunt: necesită o cantitate mare de produs biologic, au sensibilitate scăzută, necesită timp crescut de lucru și personal specializat;
- hibridizarea in situ: detectarea acidului nucleic viral în frotiuri celulare sau secțiuni histologice (test comercial Inform® HPV - Ventana Medical Systems);
- tehnica Hybride Capture (HC I și HC II - Digene Corporation) detectează direct acizii nucleici - țintă, folosind amplificarea semnalului; genotipurile de HPV pe care le detectează HC II sunt: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68.

Tehnica de amplificare a genomului viral, de uz curent, este PCR (reacția de amplificare a polimerazei, teste comerciale); tehnica constă în generarea rapidă a unor copii multiple ale unei secvențe nucleotidice - țintă (ADN sau ADNc) dintr-o genă de interes; tehnica detectează ADN-ul viral, dar nu evidențiază genotipul; utilă pentru investigații epidemiologice, dar tehnologia necesară și costurile sunt foarte mari pentru un diagnostic de rutină [18,19,20].

În prezent o serie de teste comerciale combină ambele tehnici - PCR + hibridizare - pentru detecția și genotiparea HPV:

- Inno - Lipa HPV Genotyping CE Amp IVD CE AMP KIT & Inno - Lipa HPV Genotyping CE Line Probe Assay IVD CE KIT, Innogenetics GmbH - detectează 28 de genotipuri de HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 43, 44, 45, 51, 52, 53, 54, 56, 58, 59, 66, 68, 69, 70, 71, 73, 74, 82;

genotipuri de HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 61, 62, 64, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73(MM9), 81, 82(MM4), 83(MM7), 84(MM8), IS39 și CP6108 [18,19,20].

Secvențierea acidului nucleic viral este utilizată, deocamdată, pentru studii predictive [18].

Tehnica microarray, recent apărută, în curs de evaluare, va genera rezultate rapide cu costuri minime, studiile recente arătând că sensibilitatea și specificitatea sunt similare cu HC II [21].

2.2.3. *Diagnosticul serologic.* Evidențierea anticorpilor anti HPV nu e un test de rutină. ELISA, efectuată cu antigene recombinante specifice obținute doar prin inginerie genetică, este utilizată, deocamdată, pentru studii epidemiologice și pentru evaluarea anticorpilor anti HPV postvaccinare (stabilirea titrului de anticorpi protectori și a persistenței acestuia - în curs de studiu) [18].

2.3. *Diagnosticul diferențial al condilomatozei genitale externe de etiologie HPV confirmată se face cu:* condiloma plata a sifilisului secundar sau sifilidele papulo-hipertrofice, maladia Bowen, nevil verucos (perivulvar, perianal) cu aspect keratozic, micropapilomatoza labială (papile vestibulare), papule perlate peniene, veruci seboreice, molluscum pendulum, molluscum contagiosum, cancerul ano - genital (forme clinice similare vegetațiilor veneriene) [4].

Un diagnostic precoce și complex va ajuta la instituirea unui tratament adecvat, a prevenției recurențelor, cât și la reducerea imnului rezervor infecțios reprezentat de persoanele contaminate cu HPV [22].

- Linear Array HPV Genotyping Test, Roche Diagnostics GmbH - detects 37 HPV genotypes: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 61, 62, 64, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73(MM9), 81, 82(MM4), 83(MM7), 84(MM8), IS39 și CP6108 [18,19,20].

Viral nucleic acid sequencing is only used in predictive studies [18].

The recently developed microarray technique, currently under evaluation, will generate rapid results with minimal expense, recent studies showing its sensitivity and specificity are similar to HC II [21].

2.2.3. *The serologic diagnosis.* The detection of anti HPV antibodies is not a routine test. ELISA, performed with specific recombinant antigens obtained only by means of genetic engineering is presently used in epidemiological investigations and for the evaluation of the presence of postvaccination anti HPV antibodies (in order to determine the protective antibody titre and its persistence - currently under study) [18].

3. *The differential diagnosis of confirmed HPV external genital condylomatosis is made with:* condyloma plata present in secondary sifilis or papulo-hypertrophic sifilids, Bowen disease, verucous (perivulvar, perianal) nevus with a keratotic aspect, labial micropapilomatosis, penile perlate papules, seborrheic keratoses, molluscum pendulum, molluscum contagiosum, anogenital cancer (the clinical forms similar to condyloma acuminatum) [4].

A prompt and complex diagnosis helps in the initiation of adequate treatment, in the prevention of future relapses, as well as in the reduction of the huge infectious reservoir represented by the HPV contaminated persons [22].

Intrat în redacție: 15.01.2012

Received: 15.01.2012

## Bibliografie/Bibliography

1. Michelle Forcier, Najah Musacchio. An overview of human papillomavirus infection for the dermatologist: disease, diagnosis, management, and prevention. *Dermatologic Therapy*, Vol. 23, 2010, 458 - 476.
2. Genital human papillomavirus infection. *Clin Infect Dis.*, 2006; 43(5): 624-9.
3. Centers for Disease Control and Prevention. Genital HPV infection - STD fact sheet. <http://www.cdc.gov/STD/HPV/STDFact-HPV.htm>. Accessed September 2, 2010.
4. Bucur Gheorghe, Giurcăneanu Călin. Boli transmise pe cale sexuală. Editura Celsius, București, 2000.
5. The epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Vaccine*, 2006; 24 Suppl 1: S1-15.

6. Epidemiology and natural history of genital human papillomavirus infection. *J Am Osteopath Assoc.*, 2006; 106(3 Suppl 1): S2-8.
7. Ghaemmaghami F., Nazari Z., Mehrdad N. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2007 Jul-Sep; 8(3): 339-47. Review.
8. Partridge J.M., Koutsky L.A. *Lancet Infect Dis.* 2006 Jan; 6(1): 21-31. Review.
9. HPV infection in men. *Dis Markers*, 2007; 23(4): 261-72.
10. Genital human papillomavirus infection in the male sexual partners of women with isolated vulvar lesions. *J Gynecol Cancer.*, 2006; 16(2): 791-4.
11. V Sociodemographic factors associated with high-risk human papillomavirus infection. *Obstet Gynecol.*, 2007; 110(1): 87-95.
12. Association of condom use, sexual behaviors, and sexually transmitted infections with the duration of genital human papillomavirus infection among adolescent women. *Arch Pediatr Adolesc Med.*, 2006; 160(2): 151-6.
13. Tider D.S., Parsons J.T., Bimbi D.S. Knowledge of human papillomavirus and effects on sexual behaviour of gay/bisexual men: a brief report., *Int J STD AIDS.* 2005 Oct;16 (10): 707-8.
14. Coinfection of Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum and human papillomavirus among patients attending STD clinics in Estonia. *Scand J Infect Dis.*, 2007; 39(8): 714-8.
15. Rombaldi R.L., Serafini E.P., Villa L.L., Vanni A.C., Baréa F., Frassini R., Xavier M., Paesi S. *Braz J Med Biol Res.* 2006 Feb; 39(2): 177-87.
16. Nielson C.M., Flores R., Harris R.B., Abrahamsen M., Papenfuss M.R., Dunne E.F., Markowitz L.E., Giuliano A.R. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007 Jun;16(6): 1107-14.
17. The spectrum and clinical sequelae of human papillomavirus infection. *Gynecol Oncol.*, 2007; 107 (2 Suppl 1): S6-13.
18. Fischbach Frances. *A Manual of Laboratory and Diagnostic Tests*, 7<sup>th</sup> Edition, Ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2004.
19. Detection and typing by molecular biology of human papillomavirus in genital samples. *Rev Esp Quimioter.*, 2006; 19(2): 161-6.
20. Hagiwara K. Uezato H., Arakaki H., Nonaka S., Nonaka K., Nonaka H., Asato T. Oshiro M., Kariya K., Hattori A. *J Med Virol* 2005 Sep; 77 (1): 107-12.
21. Kim C.J., Jeong G.K., Park M., Park T.S., Park T.C., Namkoong S.E., Park J.S. HPV oligonucleotide microarray-based of HPV genotypes in cervical neoplastic lesions. *Gynecologic Oncology* 2003; 89 (2): 210 -7.
22. Dempsey A.F., Koutsky L.A., Golden M. *Sex Transm Dis.* 2007 Jul; 34(7): 503-7.

Conflict de interese  
NEDECLARATE

Conflict of interest  
NONE DECLARED

Adresă de corespondență: florysandru@yahoo.com  
Corresponding address: