

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

BRUNA FISCHER DUARTE



**ESTUDO COMPARATIVO DE MÉTODOS UTILIZADOS PARA O EXAME
CITOLÓGICO ANAL**

**CURITIBA
2015**

BRUNA FISCHER DUARTE

ESTUDO COMPARATIVO DE MÉTODOS UTILIZADOS PARA O EXAME
CITOLÓGICO ANAL

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Suely Soares Leonart
Coorientador: Prof. Dr. Sandro Germano

CURITIBA
2015

D812 Duarte, Bruna Fischer.
Estudo comparativo de métodos utilizados para o exame citológico anal / Bruna Fischer Duarte. – Curitiba, 2015.
137 f.: il.; color.; 30 cm.

Orientador: Profa. Dra. Maria Suely Soares Leonart.
Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.

1. Canal anal - citologia. 2. Biologia celular. 3. Técnicas citológicas.
4. Neoplasias do ânus. 5. HIV. I. Título. II. Leonart, Maria Suely Soares.

NLMC: WI 610

TERMO DE APROVAÇÃO

BRUNA FISCHER DUARTE

**Título: "ESTUDO COMPARATIVO DE MÉTODOS UTILIZADOS
PARA O EXAME CITOLÓGICO ANAL"**

Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção de grau de Mestre, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal do Paraná, área de concentração: Análises Clínicas.


Profª. Drª. Maria Suely Soares Leonart
Orientadora


Dr. Sérgio Luiz Bach
Universidade Federal do Paraná


Profª. Drª. Priscila Bacarin Hermann
Centro Universitário Campos de Andrade

Curitiba, 16 de dezembro de 2015.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar gostaria de agradecer a Deus por ter me dado força e determinação para começar a trilhar um novo caminho em minha vida.

Em segundo lugar, porém não menos importante, gostaria de agradecer à minha mãe por me apoiar em todas as minhas decisões, e por ter me incentivado a estudar desde quando eu consigo me lembrar. Essa conquista só foi possível por sua causa.

A meu pai, de quem eu herdei o gosto pela leitura e pela ciência, por sempre acreditar em mim, até mesmo quando eu não acreditei.

À minha orientadora, Profa. Dra. Maria Suely Soares, por ter me acolhido nesse programa de braços abertos, por ter compartilhado seu conhecimento de maneira tão generosa e por me ajudar a persistir quando eu achava que tudo estava perdido.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Sandro Germano, sempre dedicado ao mundo acadêmico, trazendo novas idéias e abrindo portas que foram essenciais à realização deste trabalho.

Ao meu irmão Tiago, meu namorado Anderson, meus tios Isolde e Edemar, minhas primas Márcia e Maria Clara, pelo apoio, pelas orações e momentos de descontração, que foram essenciais nessa caminhada.

Às minhas amigas Andressa, Mariana, Paola, Laura, Marina e Thaís, que foram um presente que o mestrado me trouxe e vou levar para vida toda, obrigada pelo companheirismo e por me aguentarem.

À minha querida amiga e colega de trabalho, Vanessa, por compartilhar momentos de alegria e tristeza, pelas palavras carinhosas e abraço sincero; aos ex-alunos do programa, Thiago e Michelli, que embora nem sempre presentes, me ajudaram de forma direta ou através de suas dissertações.

Ao Prof. Dr. Aguinaldo José do Nascimento, por compartilhar seus conhecimentos em estatística, que foram essenciais no desenvolvimento deste trabalho.

Aos ex-diretores do Hospital Oswaldo Cruz, Dra. Rosana e Dr. Evandro que aprovaram a realização desta pesquisa; e a todos os funcionários do hospital, por toda disposição e auxílio; em especial um agradecimento a Rosana Ribeiro da Silva Machado, que acabou se tornando uma grande amiga.

Aos alunos e servidores da Universidade Federal do Paraná que, compartilhando do amor à vida acadêmica, aceitaram participar deste trabalho doando material citológico em benefício do próximo; aos pacientes do Hospital Oswaldo Cruz que, apesar de suas condições clínicas, aceitaram participar desta pesquisa, desenvolvida com o singelo desejo de auxiliar pacientes portadores do HIV.

RESUMO

O câncer anal é raro, porém certas populações apresentam risco aumentado para este tipo de tumor, sendo o quarto tumor maligno mais comum entre portadores do HIV. Diferentemente da maioria dos tumores malignos que se desenvolvem nestes indivíduos, o câncer anal pode ser prevenido. Amostras anais têm sido usadas experimentalmente, de forma análoga ao exame citológico cervical, como método de triagem para o carcinoma anal. Entretanto, a falta de padronização em relação à coleta e processamento das amostras e falhas na interpretação citológica tem colocado em pauta a credibilidade da citologia anal. Este trabalho teve como objetivo estudar aspectos técnicos e citomorfológicos, visando contribuir para a padronização do exame citológico anal. Para isso, testou-se o emprego da citologia anal, pelos métodos convencional e em meio líquido, em grupos controle de voluntários sãos da Universidade Federal do Paraná (n=52) e de pacientes HIV positivos, internados no Hospital Oswaldo Cruz, Curitiba-PR (n=50), no período de março a julho de 2015. O grupo controle foi composto por 35 mulheres e 17 homens, com idades entre 18 e 84 anos; e o grupo HIV, por 22 mulheres e 28 homens, com 21 a 72 anos. De acordo com relatos feitos pelos indivíduos do grupo controle e pelos pacientes do grupo HIV, observou-se, respectivamente, que: 46 e 74% não tinham companheiro fixo; 17 e 56% eram tabagistas; 10 e 32% tinham história de alcoolismo; e, 4 e 28% já haviam feito uso de alguma droga ilícita, com diferenças significativas para estes resultados. Indivíduos do grupo HIV também apresentaram comportamento sexual de maior risco, em relação ao grupo controle, com maior número de parceiros sexuais e histórico de doenças sexualmente transmissíveis. A prática do sexo anal receptivo foi semelhante entre os grupos, sendo relatada por 13 indivíduos do grupo HIV, e 11, do grupo controle. Foram consideradas insatisfatórias 4% das amostras do grupo HIV e aproximadamente 20% das amostras do grupo controle, sem diferenças significativas entre as duas metodologias empregadas. Entretanto, em amostras de citologia convencional foi observado maior obscurecimento por material fecal e dificuldade na observação da estrutura da cromatina. Todas as amostras satisfatórias do grupo controle foram categorizadas como negativas para lesão intraepitelial ou malignidade (NILM). No grupo HIV houve positividade para lesões intraepiteliais anais em 23% dos casos com a citologia convencional; e, em 20,8%, com a citologia em meio líquido. A concordância entre os dois métodos utilizados apresentou teste Kappa de 0,81 (quase perfeita), para a classificação obtida na interpretação das amostras do grupo HIV. O único sinal clínico ou sintoma estudado que apresentou associação com a presença de lesões anais foi o relato de presença de sangue nas fezes. Os resultados obtidos permitem sugerir que a citologia convencional e a citologia em meio líquido são igualmente eficazes na detecção de anormalidades citológicas anais, e que o seu uso deve ser considerado no rastreamento de lesões precursoras do câncer em populações de risco.

Palavras-chave: Citologia anal. Citologia convencional. Citologia em meio líquido. Neoplasias do ânus. HIV.

ABSTRACT

Anal cancer is rare, but certain populations are at increased risk for this type of tumor, being the fourth most commonly reported malignancy among HIV-positive individuals. Unlike most malignancies occurring in these population, anal cancer can be prevented. Analogous to cervical cytology, anal samples have been used, experimentally, as a screening method for anal carcinoma. However, the lack of standardization regarding the sample collection and processing and failures in interpreting cytologic preparations has put in question the reliability of anal cytology. This study aimed to investigate technical and cytomorphological aspects of anal cytology to contribute to the standardization of this method. For this, we compared the use of anal cytology, prepared via conventional method and liquid-based method, in groups of healthy volunteers from the Federal University of Paraná (n=52) and HIV-positive patients admitted to the Hospital Oswaldo Cruz, Curitiba-PR (n=50), between march and july 2015. The control group consisted of 35 female and 17 male, aged 18 to 84 years, and the HIV group, 22 female and 28 male, aged 21 to 72 years. Reports from the control subjects and patients of the HIV group, respectively, showed that: 46 and 74% had no steady partner; 17 and 56% were smokers; 10 and 32% had a history of alcoholism and; 4 and 28% had made use of any illicit drug, with significant differences in these results. HIV-positive individuals also showed a high-risk sexual behavior, with a higher number of sexual partners and history of sexually transmitted diseases, compared to the control group. The practice of receptive anal intercourse was similar in both groups, reported by 13 individuals from HIV group, and 11 individuals from control group. Samples were judged to be unsatisfactory in 4% of the cases in the HIV group and in approximately 20% of the cases in the control group; without significant differences between both methodologies used. However, the conventional smears were more obscured by fecal material and the observation of the chromatin structure was also impaired. Satisfactory samples from the control group were categorized as negative for intraepithelial lesion and malignancy (NILM) in all cases. In the HIV group, positive cases were found in 23% of the conventional smears, and in 20.8% of the liquid-based samples. The agreement between the two methods showed Kappa test of 0.81 (almost perfect) for the classification obtained in the interpretation of the HIV group samples. The only clinical sign or symptom associated with the presence of anal lesions was the reporting of rectal bleed. These results suggest that conventional and liquid-based cytology are equally effective in detecting anal cytological abnormalities, and its use should be considered in screening for anal cancer precursor lesions in high-risk populations.

Keywords: Anal cytology. Conventional cytology. Liquid-based cytology. Anus neoplasms. HIV.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	- ANATOMIA DO CANAL ANAL.....	19
FIGURA 2	- REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO GENOMA DO HPV	28
FIGURA 3	- REPLICAÇÃO VIRAL DO HPV EM CÉLULA HOSPEDEIRA E TUMORIGÊNESE	32
FIGURA 4	- PROTOCOLO PARA O RASTREAMENTO DE LESÕES INTRAEPITELIAIS ANAIS	38
FIGURA 5	- FOTOMICROGRAFIAS DE MATERIAL CITOLÓGICO ANAL PELA METODOLOGIA CONVENCIONAL E EM MEIO LÍQUIDO	69
FIGURA 6	- FOTOMICROGRAFIAS DE TIPOS CELULARES OBSERVADOS EM MATERIAL CITOLÓGICO ANAL PELA METODOLOGIA CONVENCIONAL E EM MEIO LÍQUIDO.....	74
FIGURA 7	- FOTOMICROGRAFIAS DE TIPOS CELULARES OBSERVADOS EM MATERIAL CITOLÓGICO ANAL PELA METODOLOGIA CONVENCIONAL E EM MEIO LÍQUIDO.....	75
FIGURA 8	- FOTOMICROGRAFIAS DE MICRORGANISMOS E EFEITOS CITOPÁTICOS OBSERVADOS EM MATERIAL CITOLÓGICO ANAL	80
FIGURA 9	- FOTOMICROGRAFIAS DAS ALTERAÇÕES CITOLÓGICAS ENCONTRADAS EM PACIENTES HIV POSITIVOS PELAS METODOLOGIAS CONVENCIONAL E EM MEIO LÍQUIDO.....	83

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1	- FUNÇÃO DAS PROTEÍNAS DE HPV	29
QUADRO 2	- COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU MODIFICADA, SEGUNDO NEWPROV	54

LISTA DE GRÁFICOS

- GRÁFICO 1 - DISTRIBUIÇÃO POR FAIXA ETÁRIA DOS INDIVÍDUOS DO GRUPO CONTROLE (N=52) E DO GRUPO HIV (N=50)..... 59
- GRÁFICO 2 - GRAU DE ESCOLARIDADE RELATADO PELOS INDIVÍDUOS AVALIADOS NO GRUPO CONTROLE (N=52) E NO GRUPO HIV (N=50)..... 61
- GRÁFICO 3 - CARACTERIZAÇÃO DOS GRUPOS CONTROLE (N=52) E HIV (N=50) DE ACORDO COM AS FAIXAS SALARIAIS RELATADAS EM NÚMERO DE SALÁRIOS MÍNIMOS 61
- GRÁFICO 4 - DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS DO NÚMERO DE PARCEIROS SEXUAIS DURANTE A VIDA, RELATADOS NOS GRUPOS CONTROLE (N=52) E HIV (N=50) 63
- GRÁFICO 5 - CONSISTÊNCIA HABITUAL DAS FEZES RELATADA PELOS PARTICIPANTES DOS GRUPOS CONTROLE (N=52) E HIV (N=50)..... 65
- GRÁFICO 6 - AVALIAÇÃO DA ADEQUABILIDADE DE AMOSTRAS CITOLÓGICAS DE MUCOSA ANAL POR CITOLOGIA CONVENCIONAL E EM MEIO LÍQUIDO 67
- GRÁFICO 7 - PRESENÇA DE TIPOS CELULARES EM AMOSTRAS DE MATERIAL ANAL NOS GRUPOS CONTROLE (N=52) E HIV (N=50) 71
- GRÁFICO 8 - SEMIQUANTIFICAÇÃO DOS TIPOS CELULARES EM AMOSTRAS DE MUCOSA ANAL AVALIADAS PELO MÉTODO CONVENCIONAL E LÍQUIDO NOS GRUPOS CONTROLE (N=50) E HIV (N=50)..... 72
- GRÁFICO 9 - SEMIQUANTIFICAÇÃO DAS CÉLULAS COLUNARES, LEUCÓCITOS E HEMÁCIAS EM AMOSTRAS DE MUCOSA ANAL AVALIADAS PELOS MÉTODOS CONVENCIONAL E EM MEIO LÍQUIDO NOS GRUPOS CONTROLE (N=52) E HIV (N=50)..... 73
- GRÁFICO 10 - SEMIQUANTIFICAÇÃO DOS MICRORGANISMOS EM AMOSTRAS DE MUCOSA ANAL AVALIADAS PELO MÉTODO CONVENCIONAL E LÍQUIDO NOS GRUPOS CONTROLE (N=50) E HIV (N=50)..... 79

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	- CARACTERIZAÇÃO DOS GRUPOS CONTROLE E HIV, DE ACORDO COM O ESTADO CIVIL.....	60
TABELA 2	- RELATOS DE DOENÇAS SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS DOS INDIVÍDUOS DOS GRUPOS CONTROLE (N=52) E HIV (N=50)...	63
TABELA 3	- AVALIAÇÃO DO TRÂNSITO INTESTINAL DOS INDIVÍDUOS DOS GRUPOS CONTROLE (N=52) E HIV (N=50), DE ACORDO COM SEUS RELATOS.....	64
TABELA 4	- FREQUÊNCIAS DE RELATOS DE SINTOMAS DE POSSÍVEIS DOENÇAS QUE PUDESSEM ACOMETER O TRATO GASTROINTESTINAL	65
TABELA 5	- PRESENÇA DE ALTERAÇÕES REATIVAS, REPARATIVAS E DEGENERATIVAS EM CÉLULAS DE MATERIAL ANAL PELOS MÉTODOS CONVENCIONAL E EM MEIO LÍQUIDO NOS GRUPOS CONTROLE (N=52) E HIV (N=50).....	76
TABELA 6	- PRESENÇA DE ALTERAÇÕES PRÉ-NEOPLÁSICAS E NEOPLÁSICAS EM CÉLULAS DE MATERIAL ANAL PELOS MÉTODOS CONVENCIONAL E EM MEIO LÍQUIDO NOS GRUPOS CONTROLE (N=52) E HIV (N=50).....	78
TABELA 7	- CATEGORIZAÇÃO DAS AMOSTRAS SATISFATÓRIAS, SEGUNDO OS GRUPOS DE ESTUDO DEFINIDOS E A METODOLOGIA EMPREGADA.....	81
TABELA 8	- CONCORDÂNCIA ENTRE AS INTERPRETAÇÕES CITOLÓGICAS DO GRUPO HIV PELA CITOLOGIA CONVENCIONAL E EM MEIO LÍQUIDO	82
TABELA 9	- CLASSIFICAÇÕES DOS CASOS DE DISCORDÂNCIA NO GRUPO HIV, DE ACORDO COM A METODOLOGIA EMPREGADA	82
TABELA 10	- ASSOCIAÇÃO ENTRE CARACTERÍSTICAS SÓCIO-COMPORTAMENTAIS E A PRESENÇA DE ANORMALIDADES CITOLÓGICAS EM INDIVÍDUOS DOS GRUPOS CONTROLE E HIV	85

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AJCC	- American Joint Committee on Cancer
AIDS	- Síndrome da Imunodeficiência Humana
ASC-H	- Células Escamosas Atípicas não se pode excluir lesão de alto grau
ASC-US	- Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado
CC	- Citologia Convencional
CML	- Citologia em Meio Líquido
DST	- Doenças Sexualmente Transmissíveis
ESMO	- Sociedade Europeia de Oncologia Médica
ESSO	- Sociedade Europeia de Oncologia Cirúrgica
ESTRO	- Sociedade Europeia de Radioterapia e Oncologia
HIV	- Vírus da Imunodeficiência Humana
HPV	- Papilomavírus Humano
HLA	- Antígeno Leucocitário Humano
HRA	- Anuscopia de Alta Resolução
HSIL	- Lesão Intraepitelial Escamosa de Alto Grau
INCA	- Instituto Nacional do Câncer
LCR	- Long Control Region
LSIL	- Lesão Intraepitelial Escamosa de Baixo Grau
NIA	- Neoplasia Intraepitelial Anal
NIC	- Neoplasia Intraepitelial Cervical
NILM	- Negativo para Lesão Intraepitelial ou Malignidade
OMS	- Organização Mundial de Saúde
ORF	- Open Reading Frames
p53	- Proteína 53
pb	- Pares de bases
PRb	- Proteína do Retinoblastoma
®	- Marca registrada

- rpm - Rotações por minute
- TARV - Terapia Antirretroviral
- TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
- UICC - Union Internationale Contra le Cancer
- URR - Upper Regulatory Region
- ZTA - Zona de Transição Anal

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 ANATOMIA E HISTOLOGIA DA REGIÃO ANAL.....	18
2.2 TUMORES DO CANAL ANAL.....	19
2.3 SINAIS E SINTOMAS DO CÂNCER ANAL.....	20
2.4 NEOPLASIA INTRAEPITELIAL ANAL (NIA).....	21
2.5 FATORES DE RISCO.....	23
2.5.1 Práticas Sexuais.....	23
2.5.2 História de Doenças Sexualmente Transmissíveis.....	24
2.5.3 Tabaco.....	25
2.5.4 Imunossupressão.....	25
2.5.5 Vírus da Imunodeficiência Humana.....	26
2.6 HPV E ONCOGÊNESE.....	27
2.6.1 O Vírus.....	27
2.6.2 Patogênese e Papel Oncogênico do HPV.....	30
2.6.3 Associação HPV/HIV.....	33
2.6.4 Epidemiologia da Infecção pelo HPV.....	35
2.7 RASTREIO DO CARCINOMA ANAL E SEUS PRECURSORES.....	37
2.7.1 Anuscopia de Alta Resolução e Biópsia Dirigida.....	39
2.7.2 Citologia Anal.....	41
2.7.2.1 Coleta.....	42
2.7.2.2 Preparo da amostra.....	44
2.7.2.3 Adequabilidade da amostra.....	45
2.7.2.4 Interpretação.....	46
2.8 CONSIDERAÇÕES.....	48
3 OBJETIVOS	49
3.1 OBJETIVO GERAL.....	49
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	49
4 MATERIAL E MÉTODOS	50

4.1 MATERIAL	50
4.1.1 Amostra	50
4.1.2 Critérios de Exclusão	51
4.2 MÉTODOS	51
4.2.1 Abordagem dos Indivíduos Sujeitos da Pesquisa	51
4.2.2 Coleta do Material Anal	52
4.2.2.5 Coleta do material do grupo HIV	52
4.2.2.6 Coleta do material do grupo controle	53
4.2.3 Preparo do Material para Citologia em Meio Líquido	53
4.2.4 Coloração e Montagem das Lâminas	54
4.2.5 Análise Citológica	55
4.2.5.7 Adequação da amostra	55
4.2.5.8 Tipos celulares	56
4.2.5.9 Microrganismos	56
4.2.5.10 Alterações citológicas	56
4.2.5.11 Elaboração dos laudos citológicos	57
4.2.6 Análise Estatística	57
5 RESULTADOS	59
5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS SUJEITOS DA PESQUISA	59
5.1.1 Caracterização de Idade, Sexo e Condições Sócio-comportamentais dos Participantes	59
5.1.2 Relatos Sobre Hábitos de Risco, Condições Clínicas e Cuidados com a Saúde	62
5.1.3 Relatos Sobre Funcionamento do Trato Gastrointestinal	64
5.2 DESCRIÇÃO E COMPARAÇÃO DOS ACHADOS CITOLÓGICOS PELOS MÉTODOS CONVENCIONAL E EM MEIO LÍQUIDO	66
5.2.1 Avaliação da Adequação da Amostra	66
5.2.2 Distribuição dos Achados Citológicos Segundo a Metodologia Empregada	70
5.2.3 Avaliação dos Microrganismos	78
5.2.4 Avaliação do Resultado da Análise Citológica	80
5.3 ANÁLISE DA RELAÇÃO ENTRE CARACTERÍSTICAS SÓCIO-COMPORTAMENTAIS E ATÍPIAS CITOLÓGICAS	84

6 DISCUSSÃO	86
6.1 DADOS EPIDEMIOLÓGICOS	87
6.2 HÁBITOS E FATORES DE RISCO.....	87
6.3 DADOS CLÍNICOS RELEVANTES E USO DA TARV	90
6.4 CONCORDÂNCIA ENTRE OS MÉTODOS CITOLÓGICOS E DE COLETA.....	91
6.4.1 Adequação das Amostras Segundo as Metodologias Empregadas	92
6.4.2 Achados Citológicos Segundo as Metodologias Empregadas.....	93
6.4.3 Microrganismos	96
6.4.4 Resultados da Análise Citológica	96
6.5 RASTREAMENTO E CONTROLE DE CÂNCER ANAL E PERSPECTIVAS.....	99
7 CONCLUSÃO	101
REFERÊNCIAS	103
ANEXOS	127

1 INTRODUÇÃO

O câncer anal é raro, porém certas populações apresentam risco aumentado para este tipo de tumor, principalmente entre indivíduos com Síndrome da Imunodeficiência Humana (AIDS) e homens que praticam sexo com homens (BEAN e CHHIENG, 2010; MACHALEK *et al.*, 2013). É o terceiro tumor maligno mais comum entre portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV), e o mais comum dentre os tumores não definidor de AIDS (DEEKEN *et al.*, 2012; GRULICH, 2013).

O Instituto Nacional de Câncer (INCA) adota o termo câncer colorretal para aquele que acomete o cólon, o reto e/ou o canal anal. Como o câncer de ânus não é discriminado em relação aos cânceres retal e de cólon, nem sempre é possível avaliar sua magnitude. No Brasil, a estimativa para o ano de 2014, que será válida também para o ano de 2015, aponta para a ocorrência de aproximadamente 33 mil casos de câncer colorretal, sendo este o quarto câncer mais incidente na população brasileira (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER e MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). Apesar dessa alta incidência, as neoplasias do canal anal correspondem a apenas de 1 a 6% das neoplasias anorretais (LARANGEIRA e ANDRADE, 2004).

As populações consideradas com maior risco de desenvolverem carcinoma anal eram de mulheres e de idosos em geral. Porém, em estudo realizado em homens homo ou bissexuais, encontrou-se incidência de 37 casos/100 mil homens, taxa muito semelhante à do câncer cervical antes da introdução da citologia cervical como método de rastreamento (DALING *et al.*, 1982; CORREA, 2004).

Em vários estudos, avaliou-se modificações na incidência do câncer anal em relação à epidemia de HIV e foi observado aumento na incidência deste tipo câncer mesmo após a introdução da terapia antirretroviral (TARV). Esses dados sugerem que pacientes infectados pelo HIV estão vivendo mais tempo e, conseqüentemente, apresentam maior período de exposição ao Papilomavírus Humano (HPV), com aumento das chances de transformação celular e desenvolvimento do carcinoma (URONIS e BENDELL, 2007; CATAÑO *et al.*, 2011). Diferentemente da maioria dos

outros tumores malignos que se desenvolvem em indivíduos HIV positivos, o câncer anal pode ser prevenido (SAHASRABUDDHE *et al.*, 2013).

O câncer anal apresenta semelhanças com o câncer cervical, incluindo a similaridade histológica, bem como o fato de ambas as lesões aparecerem frequentemente na zona de transformação, ou seja, após início de processo metaplásico na junção entre os tecidos escamoso e glandular e, ainda, por estarem fortemente associadas ao HPV (FRIEDLANDER *et al.*, 2004; MORAN *et al.*, 2010). O prognóstico para cada caso depende do estágio da doença ao ser diagnosticada (JOHNSON *et al.*, 2004).

Amostras anais têm sido usadas experimentalmente, de forma análoga ao exame citológico cervical, como método de triagem para o carcinoma anal em algumas populações de alto risco. A partir da citologia anal anormal, pode-se então avaliar a possível lesão por anoscopia de alta resolução e biópsia dirigida. Acredita-se que o rastreamento de pacientes de alto risco a cada 2 ou 3 anos possa diminuir a incidência de lesões e melhorar o prognóstico dos pacientes que fazem parte do grupo de risco (GOLDIE *et al.*, 1999; CHIAO *et al.*, 2006; URONIS e BENDELL, 2007).

Entretanto, a sensibilidade da citologia anal varia, de acordo com a literatura, de 42 a 98% e a especificidade, de 16 a 96% (DE RUITER *et al.*, 1994; FRIEDLANDER *et al.*, 2004; ARAIN *et al.*, 2005; CHIAO *et al.*, 2006; NADAL *et al.*, 2007). Tais variações podem ser devidas, tanto à falta de padronização em relação à coleta e processamento das amostras, quanto a falhas na interpretação citológica. De qualquer forma, há necessidade de padronização e de mais estudos no sentido de aperfeiçoar os métodos empregados para a utilização da citologia no rastreamento de lesões anais (NADAL *et al.*, 2007; NADAL *et al.*, 2009; HERÁCLIO *et al.*, 2011).

O exame de citologia cérvico-vaginal, tanto pelo método convencional como em meio líquido é rotineiro e considerado adequado para programas de rastreamento na prevenção do câncer cervical. É relevante comparar estes dois métodos para a citologia anal, com o objetivo de validar a sua utilização para a prevenção e controle do câncer anal.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ANATOMIA E HISTOLOGIA DA REGIÃO ANAL

O canal anal possui aproximadamente 4 cm de comprimento em adultos, e se estende do ápice das colunas anais, na região conhecida como anel anorretal, até a região da junção mucocutânea. A delimitação inferior do canal anal, ou seja, a junção entre mucosa escamosa e epiderme da margem anal, é muitas vezes evidente a olho nu pela diferente consistência e aparência do epitélio de revestimento (SHIA, 2010).

O canal anal apresenta 8 a 10 colunas anais. A base das colunas anais é a linha pectínea (ou linha denteada), localizada na porção média do canal anal. A zona de transformação, onde o epitélio colunar do reto é substituído pelo epitélio transicional *urothelium-like*, está 6 a 10 mm proximal à linha pectínea e é uma região com cerca de 4 a 5 mm de comprimento (KIERSZENBAUM, 2004; PANDEY, 2012).

Histologicamente, a mucosa pode ser dividida em: i) zona colorretal, formada pelo epitélio colunar simples da mucosa retal; ii) zona de transição anal (ZTA), que apresenta um epitélio variável; iii) zona escamosa, com epitélio escamoso estratificado pouco queratinizado (Figura 1). O ânus é revestido por epitélio do tipo pavimentoso estratificado queratinizado. A ZTA apresenta áreas de epitélio colunar e de epitélio escamoso e nela também pode ser observado um epitélio especializado com aparência variável, o epitélio escamoso metaplásico. Nessa região também podem ser observadas células mucinosas, células endócrinas e melanócitos (FENGER e KNOTH, 1981; FENGER *et al.*, 2000; KIERSZENBAUM, 2004; SHIA, 2010).

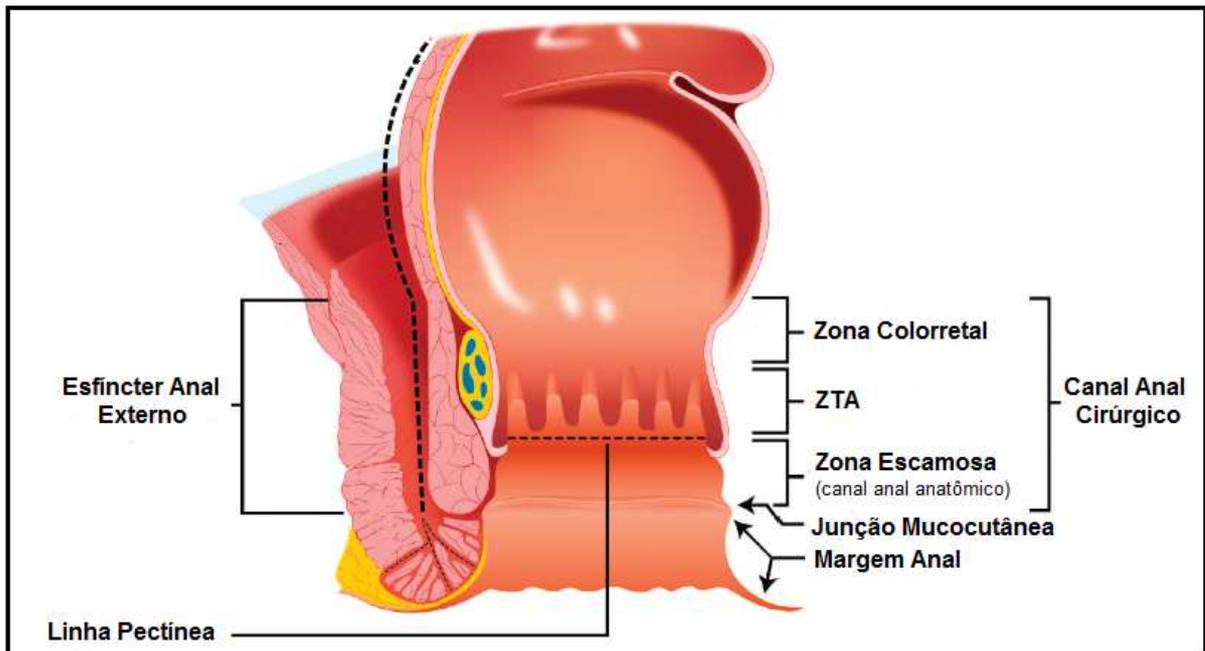


FIGURA 1 - ANATOMIA DO CANAL ANAL

NOTA: Classificação histológica do canal anal inclui: Zona Colorretal; ZTA – Zona de transição anal; e Zona Escamosa.

Fonte: Adaptado de SHIA (2010)

2.2 TUMORES DO CANAL ANAL

Neoplasias originadas em diferentes regiões, como margem anal ou região perianal, eram anteriormente classificadas igualmente como lesões do canal anal. Tal fato estimulou a padronização da nomenclatura entre clínicos e cirurgiões devido a características inerentes à história natural das diferentes localizações. A nova terminologia, proposta em 2007, é baseada em regiões de referência que poderiam ser facilmente observadas pelo examinador. Tais recomendações foram largamente adotadas e aceitas pela *American Joint Committee on Cancer (AJCC)* e pela *Union Internationale Contra le Cancer (UICC)*, em 2010. Dessa forma, o canal anal passou a ser referido como região anal e dividido em três partes sendo estas: canal anal, região perianal e pele (PANDEY, 2012).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) define como tumores do canal anal aqueles que surgem ou são predominantemente localizados no canal anal, podendo

apresentar-se como adenocarcinomas ou carcinomas escamosos associados à infecção viral pelo HPV (FENGER *et al.*, 2000).

O carcinoma de células escamosas representa cerca de 80% dos tumores malignos que acometem a região anal (GHIGNA *et al.*, 2009). Os tumores que surgem na porção distal à linha pectínea são mais frequentemente carcinomas de células escamosas queratinizados, ao passo que aqueles que aparecem na mucosa de transição acima da linha pectínea, são frequentemente não queratinizados (RYAN *et al.*, 2000; LICITRA *et al.*, 2002).

Estes tumores que surgem acima da linha pectínea mostram padrões mistos de adenocarcinoma e carcinoma de células escamosas, e eram definidos como carcinoma de transição, cloacogênico ou basalóide. Do ponto de vista clínico e prognóstico, a distinção entre estes histotipos é pouco relevante e os mesmos são agora reconhecidos como variantes do carcinoma de células escamosas. Além disso, subclassificações histológicas não têm qualquer influência adicional sobre o tratamento do câncer (RYAN *et al.*, 2000; LICITRA *et al.*, 2002; GLYNNE-JONES *et al.*, 2014).

Uma variante muito agressiva de carcinoma não queratinizado, o chamado câncer de pequenas células, tem sido descrito e é um tumor que se espalha rapidamente, similar ao câncer de pulmão de pequenas células. O adenocarcinoma do ânus é raro, representando de 5 a 10% dos casos, porém este câncer se comporta e é tratado como o câncer retal (RYAN *et al.*, 2000; LICITRA *et al.*, 2002).

2.3 SINAIS E SINTOMAS DO CÂNCER ANAL

O carcinoma de ânus é geralmente representado, na sua fase inicial, por um pequeno nódulo superficialmente ulcerado, que pode ser sentido no ânus ou na parte posterior da vagina. Tumores do canal inferior podem crescer com padrões expansivos, e o envolvimento do orifício anal, bem como do reto distal é comum. Ao contrário, os carcinomas do reto raramente mostram extensão submucosa até o ânus (ACKERMAN e DEL REGATO, 1962; LICITRA *et al.*, 2002).

As manifestações clínicas do câncer anal são frequentemente tardias e, em geral, estão relacionadas ao tamanho e extensão do tumor. Os sintomas do câncer anal não são específicos, sendo comum sangramento retal, prurido e desconforto anal. Sangramento retal é o sinal mais comum do câncer anal, ocorrendo em 45% dos pacientes (RYAN *et al.*, 2000; LICITRA *et al.*, 2002; SHRIDHAR *et al.*, 2015).

Outros sintomas incluem fezes de calibre fino, alterações nos movimentos intestinais, tenesmo não aliviado pela evacuação, dor retal e sensação de uma massa no canal anal. Sintomas como dor durante a defecação, corrimento anal ou mudança de hábitos intestinais sugerem lesões maiores; incontinência e fístula reto-vaginal são geralmente encontrados em casos mais avançados (LICITRA *et al.*, 2002; SHRIDHAR *et al.*, 2015).

A associação frequente de sintomas de câncer anal com doença de Paget, leucoplasia, hemorroidas, fissuras e fístulas, torna o diagnóstico difícil; sendo que 70 a 80% dos casos de câncer anal são inicialmente diagnosticados como condições benignas. Cerca de 20% dos pacientes não apresenta sintomas ao diagnóstico. Por todas estas razões, a maioria dos pacientes (60 a 70% dos casos de tumores) apresenta doença avançada ao diagnóstico (RYAN *et al.*, 2000; LICITRA *et al.*, 2002; SHRIDHAR *et al.*, 2015).

2.4 NEOPLASIA INTRAEPITELIAL ANAL (NIA)

As lesões intraepiteliais do canal anal são geralmente diagnosticadas utilizando-se uma modificação da classificação das Neoplasias Intraepiteliais Cervicais (NIC) utilizada para diagnóstico das lesões cervicais (IARC WORKING GROUP ON THE EVALUATION OF CARCINOGENIC RISKS TO HUMANS, 1995). O termo neoplasia intraepitelial anal (NIA) foi introduzido em 1986 por Fenger e Nielsen, quando os autores observaram que o carcinoma invasivo anal, à semelhança do carcinoma de colo uterino, parece ser precedido por um estágio pré-canceroso associado ao HPV (FENGER e NIELSEN, 1986; DARRAGH *et al.*, 2012).

A NIA é definida como a presença de alterações nucleares no epitélio sem o comprometimento da membrana basal e, embora não comprovado, o seu tratamento poderia prevenir a progressão para câncer (GINGELMAIER *et al.*, 2010). A maioria das lesões se situa na linha pectínea, na zona de transição entre o epitélio colunar do reto e o epitélio escamoso do canal anal (DE RUITER *et al.*, 1994).

A NIA pode ser categorizada histologicamente nos graus 1, 2 e 3, dependendo da avaliação qualitativa e quantitativa de várias características morfológicas como: atipias citológicas, grau de maturação e diferenciação do epitélio escamoso e atividade mitótica. A NIA 1 é caracterizada por uma expansão da camada de células parabasais, com alterações citológicas associadas, como aumento da relação núcleo/citoplasma, hipercromasia e irregularidades na membrana nuclear. A atividade mitótica é mínima e está confinada ao terço inferior do epitélio. A maturação e a diferenciação escamosa são preservadas acima das células parabasais anormais, embora os núcleos possam estar aumentados e minimamente atípicos. Na NIA 2, a expansão anormal de células parabasais se estende até a metade do epitélio. É observado um aumento da atividade mitótica, com a presença de raras figuras de mitose atípicas. A maturação e a diferenciação do epitélio superior estão preservadas. Na NIA 3, a expansão de células parabasais anormais se estende para o terço superior do epitélio. A atividade mitótica está aumentada e figuras de mitose anormais são frequentemente observadas. Pouca ou nenhuma maturação e diferenciação escamosa são observadas (BEAN e CHHIENG, 2010).

Em meados da década de 1990, o termo lesão intraepitelial escamosa anal foi introduzido como alternativa a NIA e foi classificado em 2 graus: lesão intraepitelial anal de baixo grau, que corresponde a alterações compatíveis com o efeito citopático pelo HPV e NIA I; e lesão intraepitelial anal de alto grau, que corresponde às NIA II e III (DARRAGH *et al.*, 2012).

2.5 FATORES DE RISCO

Anteriormente, acreditava-se que o câncer anal era resultado de uma irritação crônica ocasionada por condições benignas, como hemorroidas e fissuras (RYAN *et al.*, 2000). Em vários estudos, no entanto, identificaram-se fatores de risco para o carcinoma anal, dentre eles infecção pelo HPV, infecção pelo HIV, contagem baixa de linfócitos CD4, histórico de doenças sexualmente transmissíveis e de câncer cervical, tabagismo, alcoolismo, uso de drogas injetáveis, sexo anal receptivo e imunossupressão (PALEFSKY *et al.*, 1997b; NADAL *et al.*, 2007; URONIS e BENDELL, 2007; TANDON *et al.*, 2010). Uma breve revisão sobre alguns destes fatores está relacionada abaixo.

2.5.1 Práticas Sexuais

Vários estudos epidemiológicos têm ligado práticas sexuais ao risco de câncer anal. Para os homens, foi observado maior risco para o câncer anal naqueles que: nunca haviam sido casados; tiveram mais de 15 parceiros sexuais ao longo da vida; não eram exclusivamente heterossexuais; e praticavam sexo anal receptivo. Para as mulheres, o risco para o câncer anal foi maior para aquelas que: tiveram mais de 15 parceiros ao longo da vida; iniciaram precocemente a atividade sexual; e praticavam intercurso anal (DALING *et al.*, 1982; PETERS e MACK, 1983; DALING *et al.*, 1987; HOLLY *et al.*, 1989; FRISCH *et al.*, 1997; DALING *et al.*, 2004; GUIMARÃES *et al.*, 2011; MELO *et al.*, 2014).

2.5.2 História de Doenças Sexualmente Transmissíveis

A infecção pelo HPV é o fator de risco mais significativo para o desenvolvimento do carcinoma escamoso anal. Além disso, é a infecção transmitida sexualmente mais comum, sendo que aproximadamente 75% de adultos sexualmente ativos vão adquirir um ou mais tipos de HPV genital durante a sua vida. Este vírus é capaz de induzir lesões de pele ou mucosa, as quais mostram frequentemente um crescimento limitado e em geral regridem espontaneamente (FEDERAÇÃO BRASILEIRA DAS SOCIEDADES DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA, 2002; PALEFSKY, 2006; DUARTE *et al.*, 2010). Porém, assim como no câncer cervical, a persistência do vírus é um risco conhecido para o desenvolvimento de lesões de alto grau que, caso não sejam tratadas, têm alto potencial de progressão para carcinoma invasivo (DARRAGH e WINKLER, 2011). O HPV pode ser detectado em 80 a 90% dos pacientes com carcinoma anal de células escamosas (FRISCH *et al.*, 1999; DALING *et al.*, 2004; ANDERSON *et al.*, 2008; DE VUYST *et al.*, 2009; TANDON *et al.*, 2010).

Outras doenças sexualmente transmissíveis podem contribuir para o desenvolvimento do câncer anal. Foi demonstrado, em estudos anteriores, que mulheres com câncer anal eram mais propensas a serem soropositivas para *Chlamydia trachomatis* e para o vírus herpes simples tipo 2, bem como terem história de verrugas anais, verrugas genitais ou gonorréia. Entre os homens, observou-se um risco significativamente elevado de câncer anal em associação com uma história de verrugas anais, sífilis, gonorréia ou hepatite (DALING *et al.*, 1987; HOLLY *et al.*, 1989; FRISCH *et al.*, 1997; DALING *et al.*, 2004). Tandon e colaboradores (2010) encontraram uma associação significativa entre citologia anal anormal e a presença de outras doenças sexualmente transmissíveis além das infecções por HPV e por HIV.

2.5.3 Tabaco

O estado de fumante ativo é apontado como fator de risco para o câncer anal em diversos estudos, independentemente da prática sexual. Também foi observado que o risco para o câncer diminuiu após a cessação do tabagismo (DALING *et al.*, 1987; HOLLY *et al.*, 1989; DALING *et al.*, 1992; PALEFSKY *et al.*, 1994; DALING *et al.*, 2004; MELO *et al.*, 2014). A nicotina não é uma substância carcinogênica, entretanto muitos dos seus efeitos biológicos, como alteração dos mecanismos de regulação do ciclo celular e a apoptose em diversos tipos de células, bem como a estimulação da proliferação, angiogênese e invasão em vários sistemas e modelos, poderia promover a progressão do câncer (WRIGHT *et al.*, 1993; NORDENVALL *et al.*, 2013). Além disso, o uso de cigarros tem sido relacionado à depressão do sistema imune (POPPE *et al.*, 1995; DALING *et al.*, 2004).

2.5.4 Imunossupressão

Pacientes que recebem terapia imunossupressora crônica após transplante de órgãos apresentam risco aumentado para o desenvolvimento de diversos tipos de carcinomas, incluindo o de canal anal. Este aumento provavelmente se deve à infecção crônica pelo HPV (RYAN *et al.*, 2000). Foi observado um aumento de 100 vezes na incidência de tumores anogenitais em receptores de transplante renal em comparação com a população em geral (BLOHME e BRYNGER, 1985; PENN, 1986).

Em outro estudo, foi avaliada a associação entre uso de corticóides e câncer anal e foi observado maior risco para o desenvolvimento de câncer em pacientes que fazem uso dessa medicação (DALING *et al.*, 2004).

2.5.5 Vírus da Imunodeficiência Humana

O HIV é um retrovírus pertencente à família Lentiviridae, que apresenta como característica um genoma de RNA que, para multiplicar-se, necessita da enzima transcriptase reversa, responsável pela transcrição do RNA viral para uma cópia DNA, permitindo assim a integração ao genoma do hospedeiro. O HIV infecta células que possuem o marcador de superfície CD4, como macrófagos e, principalmente, os linfócitos T auxiliares (ou linfócitos T CD4). O efeito predominante da infecção pelo HIV é a depleção dos linfócitos T CD4+, mas também leva ao comprometimento da imunidade conferida pelas células B e macrófagos. O HIV diferencia-se em tipos 1 e 2, sendo que o HIV-1 é o mais patogênico e o mais prevalente no mundo e o HIV-2 é endêmico na África Ocidental, disseminando-se pela Ásia (CHINEN e SHEARER, 2002; LAZZAROTTO *et al.*, 2010).

É difícil estabelecer a associação entre câncer anal e infecção pelo HIV, pois pacientes HIV positivos frequentemente apresentam infecção por um ou mais subtipos de HPV. Se o HIV estivesse diretamente associado ao câncer anal, poderia se esperar uma diminuição na incidência deste câncer após a introdução da TARV (URONIS e BENDELL, 2007). Porém, em estudos populacionais, demonstrou-se que a incidência do câncer anal continua aumentando mesmo após introdução da TARV em 1996 (BOWER *et al.*, 2004; CHIAO *et al.*, 2005; DIAMOND *et al.*, 2005; CHATURVEDI *et al.*, 2009). Acredita-se que o aumento da sobrevivência dos pacientes HIV positivos proporcionado pelo tratamento medicamentoso, aumentou a incidência das neoplasias anais devido a uma maior exposição dos pacientes ao HPV (CHIAO *et al.*, 2005; COUPLÉE *et al.*, 2012).

O efeito da TARV nas lesões anogenitais associadas ao HPV ainda é um tema de intenso debate. Estudos mostram pouco efeito da TARV na prevalência de NIA (PIKETTY *et al.*, 2004; WILKIN *et al.*, 2004; PALEFSKY *et al.*, 2005). E em um estudo, não se observou nenhum efeito regressivo do emprego da TARV sobre lesões intraepiteliais de alto grau (PALEFSKY *et al.*, 2001a).

A importância da imunodepressão e da infecção pelo HIV pode ser demonstrada pelos dados epidemiológicos do câncer anal, antes mais frequente em mulheres acima da quinta década da vida, porém com aumento de incidência em homens com idades entre 30 e 40 anos (NADAL *et al.*, 2009).

Em estudos com pacientes HIV positivos, detectou-se risco quase 37 vezes maior para o câncer anal em homens em relação à população em geral, bem como risco cinco vezes maior de câncer cervical, e sete vezes maior de câncer anal, em mulheres, em relação à população em geral (PALEFSKY, 2006).

Em estudos anteriores, a displasia anal foi detectada pelo exame citológico anal em 41 a 97% de homens HIV positivos e em 14 a 28% de mulheres HIV positivas (CHIAO *et al.*, 2006). Outro estudo mostrou ainda a presença de lesões intraepiteliais de alto grau em 72% dos indivíduos HIV positivos, homo ou bissexuais, e em 36% dos homens HIV positivos que negaram sexo anal receptivo (PIKETTY *et al.*, 2003).

O desenvolvimento de lesões intraepiteliais escamosas de alto grau (HSIL) na região anal parece estar inversamente relacionado à contagem de linfócitos CD4 (URONIS e BENDELL, 2007). Sugere-se que portadores do vírus HIV com contagens de linfócitos T CD4 inferiores a 500/mm³ deveriam ser submetidos a rastreamento com citologia anal (NADAL e MANZIONE, 2005).

2.6 HPV E ONCOGÊNESE

2.6.1 O Vírus

O papilomavírus humano é classificado na família *Papillomaviridae*, gênero *Papillomavirus*. São vírus não envelopados, de simetria icosaédrica, com capsídeo composto por 72 capsômeros e um genoma de ácido desoxirribonucléico (DNA) de fita dupla circular, constituído de aproximadamente 8.000 pares de base (pb) (FERRAZ *et al.*, 2012).

O genoma do HPV possui regiões codificadoras de proteínas, conhecidas como *Open Reading Frames* (ORF) e uma região não-codificadora, a qual tem sido referida como *Long Control Region* (LCR), ou *Upper Regulatory Region* (URR). Nessa região reguladora não codificadora, existem sequências estimuladoras e repressoras da transcrição viral, além da origem da replicação. As ORF são organizadas em região *early* (E), composta pelos genes E1, E2, E4, E5, E6, E7, e região *late* (L), composta pelos genes L1 e L2 (Figura 2) (BURD, 2003; MUÑOZ *et al.*, 2006; FERRAZ *et al.*, 2012).

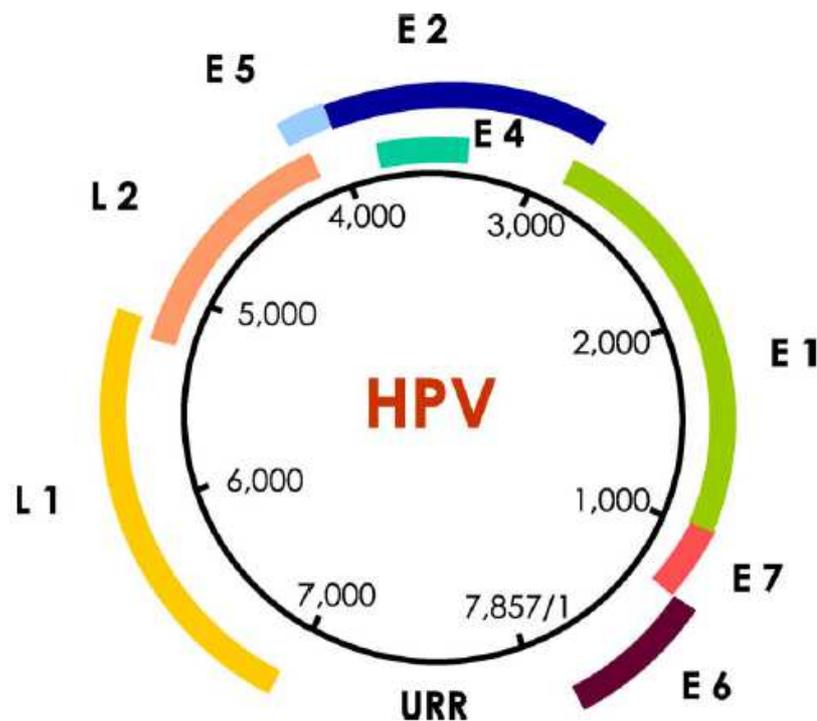


FIGURA 2 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO GENOMA DO HPV
 FONTE: MUÑOZ *et al.* (2006).

No Quadro 1 estão listadas as funções das proteínas codificadas por estes genes da região L e E. Os produtos dos genes E1, E2, E4, E5, E6 e E7, estão envolvidos na replicação viral e oncogênese, enquanto a região L codifica as proteínas estruturais do capsídeo viral (BURD, 2003; MUÑOZ *et al.*, 2006).

Proteína Viral	Função
E1	Controle da replicação viral Recrutamento de polimerases e proteínas acessórias Atividade de helicase
E2	Auxílio do processo de replicação viral Regulação da transcrição dos genes precoces Recrutamento de polimerases e proteínas acessórias
E4	Desestabilização do citoesqueleto de queratina Maturação e liberação das partículas virais
E5	Prevenção da acidificação endossomal Ligação a receptores de fatores de crescimento Redução da expressão de moléculas de HLA de classe I
E6	Alteração da atividade de proteínas que controlam proliferação, apoptose, adesão e crescimento celular Indução da degradação de p53 e de outras proteínas
E7	Alteração da atividade de proteínas que controlam proliferação, apoptose, adesão e crescimento celular Indução da degradação de pRb e de outras proteínas
L1	Principal componente do capsídeo viral
L2	Proteína secundária do capsídeo viral

QUADRO 1 - FUNÇÃO DAS PROTEÍNAS DE HPV

FONTE: RABACHINI E SICHERO (2012).

NOTA: As proteínas E6 e E7 apresentam papel oncogênico através da indução da degradação da proteína 53 e proteína do retinoblastoma. HLA – Antígeno Leucocitário Humano; pRb = proteína do retinoblastoma; p53 = proteína 53.

Há mais de 200 tipos de papilomavírus reconhecidos, classificados em tipos, subtipos e variantes com base em sua homologia de DNA. Dentre os que acometem o ser humano, mais de 100 tipos já foram isolados e sequenciados. Destes, mais de 40 tipos acometem a mucosa anogenital (DE VILLIERS *et al.*, 2004; BERNARD, 2005; RABACHINI e SICHERO, 2012).

Os diferentes tipos de HPV têm tropismo por diferentes tecidos e são categorizados como cutâneos ou mucosos. Os cutâneos são epidermotrópicos e infectam principalmente a pele das mãos e dos pés e se manifestam formando verrugas. Os mucosos infectam o revestimento da boca, garganta, trato respiratório ou epitélio anogenital e manifestam-se através de condilomas planos e acuminados (GROSS e BARRASSO, 1999; BURD, 2003)

Os tipos genitais de HPV podem ser classificados, segundo o risco que conferem ao desenvolvimento de lesões neoplásicas, em HPV de alto e de baixo risco. Os de baixo risco são geralmente encontrados em condilomas vulvogenitais e

os de alto risco são associados a lesões intraepiteliais escamosas de alto grau e ao câncer cervical. Foram classificados como HPV de alto risco os tipos: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 e 59; sendo que os tipos 26, 53, 66, 68, 73 e 82 poderiam também ser considerados de provável alto risco. Os tipos de HPV considerados de baixo risco são: 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 e CP6108 (MUÑOZ *et al.*, 2003; MUÑOZ *et al.*, 2006).

Assim como as lesões cervicais, as lesões anais geralmente estão associadas aos tipos 6, 11, 16 ou 18. O HPV 16 parece estar mais frequentemente associado ao câncer anal e já foi detectado em aproximadamente 70% dos casos, em alguns estudos realizados (DALING *et al.*, 2004; DE VUYST *et al.*, 2009).

2.6.2 Patogênese e Papel Oncogênico do HPV

A carcinogênese é um processo de múltiplas etapas, que envolve tanto mudanças genéticas quanto epigenéticas, culminando com a ativação de proto-oncogenes e/ou inativação de genes supressores de tumor (JACOB *et al.*, 2002). A passagem da célula pelas diversas fases do ciclo celular é realizada de forma rígida por genes controladores do ciclo. Uma célula maligna difere de uma célula normal, principalmente pela sua independência desse controle, sendo necessário um acúmulo de mutações nos cromossomos para tal transformação (KISSELJOV, 2000).

A transmissão do HPV ocorre na maioria das vezes por via sexual e é extremamente comum (MOSCICKI *et al.*, 2006). Tanto o colo do útero como o canal anal apresentam zonas de transformação, regiões onde ocorre a substituição do epitélio glandular pelo epitélio metaplásico escamoso. Nessas regiões existe maior facilidade para o HPV acessar as camadas de células basais, inserindo-se nas mesmas e podendo causar infecção (DARRAGH e WINKLER, 2011).

A infecção inicial por HPV ocorre nas células progenitoras localizadas nas camadas basais do epitélio escamoso estratificado, e o vírus só alcançará essas

células na presença de microtraumatismos ou soluções de continuidade da pele ou mucosa do hospedeiro (FEHRMANN e LAIMINS, 2003; MOODY e LAIMINS, 2010).

O ciclo de vida produtivo do HPV é dependente da diferenciação celular (THOMAS *et al.*, 1999). Após a entrada do HPV na célula, o genoma viral se estabiliza na forma de elementos extracromossômicos no núcleo. Nesta fase, há replicação e o número de cópias virais aumenta para aproximadamente 50 por célula. Ao se dividirem, essas células infectadas distribuem equitativamente o DNA viral entre as células filhas. Algumas das células filhas migram da camada basal e iniciam o programa de diferenciação celular. As demais células filhas continuam dividindo-se na camada basal e servem de reservatório de DNA viral para as posteriores divisões celulares (STUBENRAUCH e LAIMINS, 1999).

As células suprabasais infectadas pelo HPV sofrem diferenciação, porém, algumas células vão entrar novamente na fase S nas camadas superiores do epitélio para replicar os genomas de HPV, em um processo chamado de amplificação. Este processo é seguido pela síntese das proteínas do capsídeo, montagem do vírion e liberação (MOODY e LAIMINS, 2010).

Em lesões pré-cancerosas, o DNA do HPV persiste em um estado epissomal, enquanto na maioria das lesões de alto grau, o genoma se encontra integrado ao genoma do hospedeiro (Figura 3) (RIVOIRE *et al.*, 2001; MOODY e LAIMINS, 2010). A diferença de potencial oncogênico observada entre os HPV de alto e baixo risco pode ser devida, em parte, pela maior capacidade dos HPV de alto risco em integrar o DNA no genoma hospedeiro (KESSIS *et al.*, 1996).

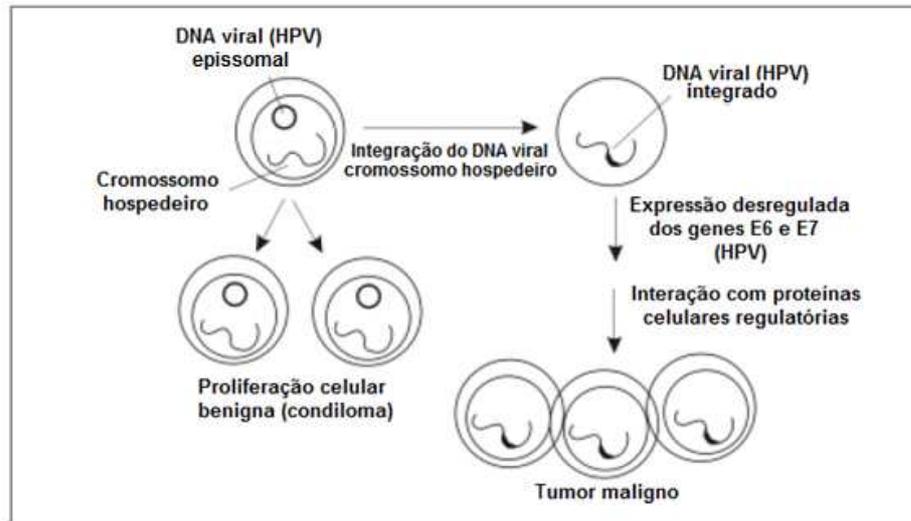


FIGURA 3 - REPLICAÇÃO VIRAL DO HPV EM CÉLULA HOSPEDEIRA E TUMORIGÊNESE
 FONTE: RIVOIRE *et al.* (2001).

No caso de tumores malignos, a integração do DNA viral ocorre em razão da clivagem em região específica dos genes E1/E2 (SOUTO *et al.*, 2005; FERRAZ *et al.*, 2012).

O gene E2 codifica uma proteína de ligação do DNA, a qual atua no controle da transcrição e replicação, e entre várias outras funções, inibe a transcrição dos oncogenes E6 e E7, tendo então um papel inibitório na carcinogênese induzida pelo HPV (LEE *et al.*, 2000). A proteína de E2 se une ao DNA na região não codificadora adjacente ao promotor de transcrição (*TATA box*) de E6/E7. Com esse impedimento espacial, os fatores transcricionais não se ligam, inibindo-se assim, a expressão dos genes. Como consequência da perda do controle transcricional exercido pelo gene E2, há uma superexpressão das oncoproteínas de E6 e E7 do HPV, responsáveis pelo início e manutenção do processo que leva ao câncer (BECHTOLD *et al.*, 2003; SOUTO *et al.*, 2005; FERRAZ *et al.*, 2012; RABACHINI e SICHERO, 2012).

A proteína E6 forma complexo com a proteína 53 (p53), a qual está envolvida nas vias de reparo ao dano do DNA, levando a uma interrupção do ciclo celular na fase G1 ou induzindo a apoptose. Por esta atividade de supressão do crescimento tumoral, a p53 tem sido chamada de “guardiã do genoma”. A sua degradação e inativação resulta em aumento da instabilidade genética e acúmulo das mutações oncogênicas (GROSS e BARRASSO, 1999; FERRAZ *et al.*, 2012).

A proteína E7 do HPV de alto risco forma complexos com a proteína do retinoblastoma (pRB). Em condições normais, a pRB interage com o fator de transcrição celular E2F na fase G1 do ciclo celular. Tal interação inibe a transcrição induzida por E2F dos genes celulares envolvidos na duplicação do DNA. Para entrar na fase S, a pRB é fosforilada, o que leva à desintegração do complexo pRB/E2F e progressão do ciclo celular. A inativação da pRB pela proteína viral E7 causa a liberação do fator de transcrição E2F que passa a ser ativo em todas as fases do ciclo celular, levando ao crescimento celular desordenado das células tumorais HPV-positivas (GROSS e BARRASSO, 1999; RABACHINI e SICHERO, 2012).

A ação combinada das proteínas E6 e E7 resulta na anulação de muitos pontos de checagem do ciclo celular, o que, em células persistentemente infectadas com HPV, leva ao acúmulo de mutações celulares ao longo do tempo e consequente progressão para câncer (MOODY e LAIMINS, 2010).

O período de latência entre a infecção primária e o desenvolvimento do câncer é extremamente variável, sugerindo que fatores adicionais estão envolvidos no processo oncogênico, como, por exemplo, comportamento sexual de risco, estado imunológico, predisposição genética, estado nutricional, tabagismo, nível socioeconômico e a concomitância com outras infecções sexualmente transmissíveis (MOUGIN *et al.*, 2001; MOSCICKI *et al.*, 2006; GIRALDO *et al.*, 2008).

2.6.3 Associação HPV/HIV

Dentre os vários agentes etiológicos que causam doenças na região anal em pacientes HIV positivos, o HPV é o mais comum (WIELAND e PFISTER, 1997; MANZIONE *et al.*, 2004). Em vários estudos foi demonstrado que indivíduos HIV positivos têm uma maior prevalência de infecções anogenitais pelo HPV, independentemente de suas práticas sexuais. Em homens homo e bissexuais o HPV foi detectado na região anal em 51 – 93% dos indivíduos HIV positivos e em 17 – 36% dos HIV negativos; e, para as mulheres HIV positivas e negativas, em 56% – 76% e 31% – 42%, respectivamente (CAUSSY *et al.*, 1990; PALEFSKY *et al.*, 1994;

BREESE *et al.*, 1995; PALEFSKY *et al.*, 1997b; SUN *et al.*, 1997; PALEFSKY *et al.*, 2001b). Este resultado era esperado, pois um dos fatores de risco para infecção pelo HPV é o número de parceiros sexuais, sendo que o mesmo se aplica à infecção pelo HIV (PALEFSKY, 2006).

Em estudo realizado em indivíduos com NIA 2 e 3, foi observada uma prevalência significativamente maior de infecção por HPV em indivíduos HIV positivos (96,7%) do que em HIV negativos (90,1%). Os tipos de HPV mais prevalentes foram os tipos 16 e 18. Além disso, infecções do tipo múltipla foram mais frequentemente detectadas em indivíduos HIV positivos, e muitos tipos de HPV foram detectados apenas em indivíduos HIV positivos (PALEFSKY *et al.*, 1994; DE VUYST *et al.*, 2009).

Em vários estudos, foi observada clara relação entre a diminuição progressiva dos níveis de CD4 e o aumento da detecção dos subtipos de HPV no ânus e no colo de útero, e que a imunossupressão avançada pode estar associada com aumento da replicação do HPV. Estas evidências sugerem que uma fração substancial das infecções pelo HPV pode estar relacionada a uma reativação de um subtipo previamente adquirido (BREESE *et al.*, 1995; SUN *et al.*, 1997; STRICKLER *et al.*, 2005; PALEFSKY, 2006; ROSITCH *et al.*, 2012).

A NIA também foi encontrada com maior prevalência em homens e mulheres HIV positivos (CRITCHLOW *et al.*, 1995; PALEFSKY *et al.*, 1998a; PALEFSKY *et al.*, 1998b; HOLLY *et al.*, 2001; DURANTE *et al.*, 2003). Porém, a prevalência do HPV em lesões anogenitais de pacientes HIV positivos não é suficiente para explicar a grande proporção de NIA neste grupo (WIELAND e PFISTER, 1997; MANZIONE *et al.*, 2004).

Tal como acontece com a infecção pelo HPV, níveis mais baixos de CD4 estão associados a um risco aumentado para desenvolvimento de neoplasias intraepiteliais anogenitais, o que sugere que a supressão imune relacionada ao HIV, refletida pela contagem de linfócitos T CD4, tem um papel importante na patogênese da doença (PALEFSKY *et al.*, 1998b).

À medida que progride a infecção pelo HIV, perde-se a imunidade específica contra o HPV, aumentando seus níveis e desenvolvendo os diferentes estágios de NIA. Além disso, as proteínas E6 e E7, expressas pelos sorotipos 16 e 18 do HPV,

são capazes de induzir instabilidade do genoma, ao degradar supressores tumorais como p53 e pRb. Ao ocorrerem mutações genéticas, pode-se estimular a progressão de NIA independentemente do grau de imunossupressão. Por este motivo, a TARV tem pouco ou nenhum efeito na progressão da NIA (CHIN-HONG e PALEFSKY, 2002; PALEFSKY, 2006).

Em contraste, a relação entre a imunossupressão avançada e o câncer invasivo não é tão aparente. A análise desses dados sugere que as últimas fases da história natural dos cânceres associados ao HPV, ou seja, a progressão para o câncer, não são muito influenciadas pelo sistema imunológico (GOEDERT *et al.*, 1998; FRISCH *et al.*, 2000).

O desenvolvimento da NIA e a progressão para o câncer invasivo são claramente processos multifatoriais em indivíduos HIV positivos. Atualmente, não há evidências de que o HPV se comporte de forma diferente no hospedeiro HIV positivo. A principal diferença entre indivíduos HIV positivos e HIV negativos é que, entre os primeiros, as lesões são mais propensas a persistir, dada a resposta imunológica atenuada. Parece provável que a perda da resposta imune ao HPV é um fator chave no aumento da prevalência e incidência da neoplasia intraepitelial nesses indivíduos (PALEFSKY, 2006).

2.6.4 Epidemiologia da Infecção pelo HPV

Alguns subtipos de HPV, nos últimos anos, têm sido responsabilizados pelo desenvolvimento de malignidade nas regiões que comumente infectam, compreendendo, na mulher, períneo, vulva, vagina, colo de útero e região anal; e nos homens, pênis, uretra, bolsa escrotal e região anal (SOUTO *et al.*, 2005).

A infecção genital pelo HPV é considerada a doença sexualmente transmissível mais frequente em todo o mundo (SATTERWHITE *et al.*, 2013). A prevalência mundial estimada da infecção pelo HPV é de cerca de 440 milhões, sendo 291 milhões em mulheres (MALIK *et al.*, 2014).

Dados de vigilância abrangentes não estão disponíveis para a infecção pelo HPV. Estima-se que aproximadamente 6 a 7 milhões de novas infecções por HPV ocorrem nos Estados Unidos anualmente, representando aproximadamente 72% de todos os novos casos de doenças sexualmente transmissíveis no país (WEINSTOCK *et al.*, 2004; SATTERWHITE *et al.*, 2013). No Brasil, estima-se que haja 9 a 10 milhões de infectados pelo HPV e que, a cada ano, 700 mil casos novos surjam (GIRALDO *et al.*, 2008).

O risco de aquisição da infecção por HPV durante a vida para homens e mulheres sexualmente ativos é de no mínimo 50%. Aos 50 anos, ao menos 80% das mulheres terão adquirido a infecção genital pelo HPV em alguma fase da vida (GIRALDO *et al.*, 2008)

Em geral, a prevalência da infecção pelo HPV varia significativamente com a idade, atingindo o pico em mulheres jovens de 20 – 24 anos de idade (HARIRI *et al.*, 2011). Em torno de 80% das mulheres jovens que contraem o HPV, as lesões têm resolução espontânea em 12 a 18 meses (HO *et al.*, 1998; FRANCO *et al.*, 1999)

Os homens são acometidos mundialmente por mais de 30.000 casos de carcinomas de pênis, ânus, orofaringe e cavidade oral associados ao HPV. Nos últimos anos, tem-se observado um aumento importante dos casos de câncer anal, principalmente em homens que mantêm relações sexuais com homens. Um grupo considerado de altíssimo risco para esta doença é o dos infectados por HIV (PARKIN e BRAY, 2006; GIRALDO *et al.*, 2008).

Existem poucas evidências sobre a epidemiologia da infecção anal pelo HPV em mulheres. Mulheres HIV positivas ou negativas apresentaram maior prevalência do DNA do HPV na região anal do que na região genital (WILLIAMS *et al.*, 1994; MELBYE *et al.*, 1996; PALEFSKY *et al.*, 2001b).

Com o advento das vacinas profiláticas contra os tipos de HPV 6, 11, 16 e 18, espera-se que ocorra uma proteção contra tumores do trato anogenital e suas lesões precursoras (DE VUYST *et al.*, 2009). De acordo com a meta-análise realizada por De Vuyst *et al.* (2009), aproximadamente 80% dos casos de carcinoma anal podem vir a ser evitados a partir da vacinação contra o HPV. Estudos recentes têm testado sua eficácia em grupos considerados de risco, onde já foi observada

redução da infecção persistente por esses subtipos de HPV em pacientes não expostos previamente (PALEFSKY *et al.*, 2011).

2.7 RASTREIO DO CARCINOMA ANAL E SEUS PRECURSORES

A prevenção e a detecção precoce do câncer anal têm importante papel na sobrevida dos pacientes (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2014). Um estudo revelou que pacientes que receberam um diagnóstico de doença local apresentaram uma taxa de sobrevida em 5 anos de 78%; aqueles que receberam um diagnóstico de doença regional apresentaram uma taxa de 56%; e aqueles com metástase distante, de 18% (JOHNSON *et al.*, 2004).

As três principais sociedades profissionais envolvidas no tratamento do câncer na Europa, a Sociedade Européia de Oncologia Médica (ESMO), a Sociedade Européia de Oncologia Cirúrgica (ESSO) e a Sociedade Européia de Radioterapia e Oncologia (ESTRO), reuniram-se para elaborar em conjunto as diretrizes de prática clínica para o diagnóstico, tratamento e acompanhamento de câncer anal. Porém, de acordo com estas sociedades, nenhum estudo randomizado controlado demonstrou a vantagem da triagem utilizando a citologia anal e anoscopia de alta resolução nas populações de alto risco (GLYNNE-JONES *et al.*, 2014).

Pelas diretrizes da ESMO-ESSO-ESTRO, o diagnóstico do câncer anal deve ser realizado com base na obtenção da história clínica do paciente, para avaliação da presença de sintomas e fatores predisponentes, e através do exame clínico, com a realização da proctoscopia, que permite o estadiamento clínico preciso da doença, além de facilitar a biópsia. O diagnóstico do câncer anal é feito através da confirmação histológica (GLYNNE-JONES *et al.*, 2010; GLYNNE-JONES *et al.*, 2014).

A incidência de câncer cervical diminuiu consideravelmente nas últimas décadas, com grande parte do declínio atribuível ao rastreamento por citologia cervical (PALEFSKY *et al.*, 1997a; GIBB e MARTENS, 2011; NATIONAL CANCER

INSTITUTE, 2015). O sucesso do rastreio do câncer do colo do útero tem conduzido a sua utilização como um modelo para o rastreio do câncer anal em grupos de alto risco. O modelo do seguimento das lesões anais (Figura 4) baseia-se numa tríade compreendendo: citologia anal para detecção de lesões precoces; encaminhamento dos pacientes para realização da nova subespecialidade da colposcopia para avaliação do canal anal e região perianal, chamada de anuscopia de alta resolução; e confirmação histológica (PARK e PALEFSKY, 2010; DARRAGH e WINKLER, 2011).

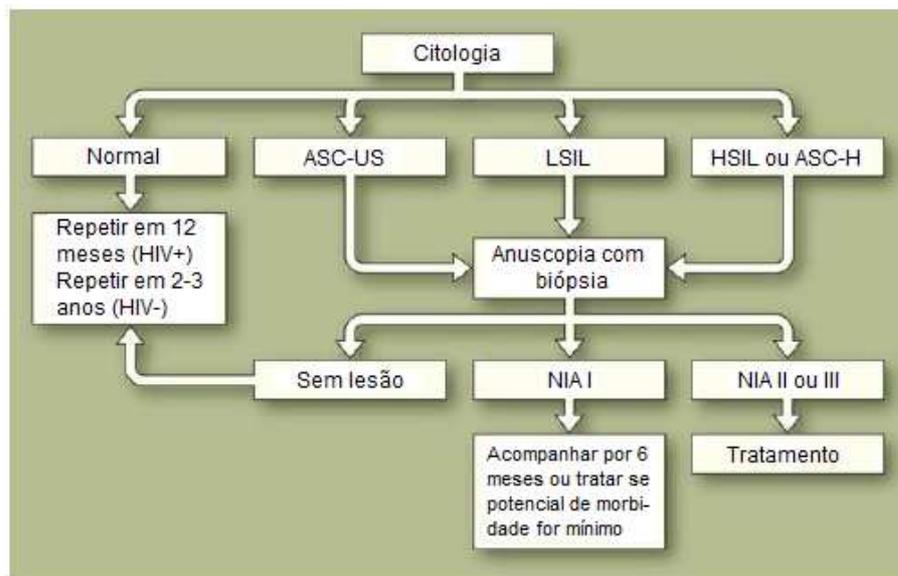


FIGURA 4 - PROTOCOLO PARA O RASTREAMENTO DE LESÕES INTRAEPITELIAIS ANAIS
FONTE: ADAPTADO DE PARK & PALEFSKY, 2010.

NOTA: ASC-US – Células atípicas de significado indeterminado; LSIL – Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau; HSIL – Lesão intraepitelial escamosa de alto grau; ASC-H – Células escamosas atípicas não se pode excluir lesão de alto grau; NIA – Neoplasia intraepitelial anal.

Mesmo que não seja possível executar este rastreamento, os pacientes de alto risco devem receber, no mínimo, um exame de toque retal anual. Embora não existam dados sobre o desempenho do toque retal na detecção de câncer anal, é um exame de fácil execução e baixo custo, que oferece o benefício de detectar o câncer anal em um estágio ainda tratável (PARK e PALEFSKY, 2010; DARRAGH e WINKLER, 2011). Acredita-se que o auto-exame de toque retal pode, se realizado regularmente pelos pacientes, ser tão eficaz quanto a abordagem baseada na citologia (FOX, 2009).

Embora não existam estudos randomizados que comprovem a eficácia dessa estratégia, o rastreamento do câncer anal vem sendo discutido e incentivado nos grupos considerados de risco ao desenvolvimento das NIA (DARRAGH e WINKLER, 2011). Diretrizes do Serviço de Saúde Pública dos EUA para o tratamento de infecções oportunistas em indivíduos HIV positivos indicam que, apesar do rastreamento citológico do carcinoma anal ainda não ter sido formalmente indicado, a citologia anal deve ser considerada para homens e mulheres HIV positivos. Pacientes com qualquer grau de anormalidade citológica anal deveriam ser encaminhados para a anoscopia de alta resolução (US PUBLIC HEALTH SERVICE *et al.*, 2002). Em 2007, o Instituto de AIDS do Departamento de Saúde Pública do Estado de Nova York recomendou a realização anual do exame de toque retal para todos os pacientes HIV positivos, e exame citológico anal para os pacientes que se encaixam em um destes grupos: homens que praticam sexo com homens, qualquer paciente com uma história de condilomas anais e mulheres com histologia vulvar ou de colo uterino anormal (NEW YORK STATE DEPARTMENT OF PUBLIC HEALTH AIDS INSTITUTE, 2007).

2.7.1 Anuscopia de Alta Resolução e Biópsia Dirigida

A anoscopia de alta resolução (HRA) é usada para determinar a presença, extensão ou ausência de lesões subclínicas, guiar biópsias e também permite o tratamento direto das lesões, com remoção de lesões intraepiteliais de alto grau. Para aumentar a sensibilidade na triagem de lesões neoplásicas anais, este método deve ser utilizado em conjunto com a citologia (MAIA *et al.*, 2014).

A HRA utiliza os mesmos princípios e procedimentos básicos da colposcopia cervical, com aplicação de ácido acético e lugol sobre a superfície do canal anal, para detectar lesões acetobranças suspeitas. O colposcópico fornece ampliação e uma fonte de luz forte para facilitar a identificação de lesões potenciais e orientá-las para a biópsia (DARRAGH e WINKLER, 2011; PALEFSKY, 2012).

Apesar de suas limitações, o exame histopatológico ainda é considerado o padrão-ouro para o diagnóstico de lesões displásicas e invasivas. Porém, este resultado depende da habilidade do médico em discernir quais lesões devem ser amostradas para o diagnóstico histológico (JAY, 2011; MAIA *et al.*, 2014).

Como técnica, a HRA é mais desafiadora do que a colposcopia cérvico-vaginal tradicional e requer treinamento extensivo e experiência para obter melhores resultados. Isto se deve principalmente à topografia acidentada da região anal; obscurecimento de lesões devido a hemorroidas, dobras, fezes ou muco; bem como lesões estarem localizadas na base de dobras e glândulas anais. Consequentemente, uma longa curva de aprendizado é normalmente necessária antes de se tornar plenamente competente nesta técnica (PALEFSKY, 2012).

A anoscopia geralmente apresenta resultados correlacionados com os resultados histopatológicos. Taxas de sensibilidade e especificidade de anoscopia variam muito na literatura, uma vez que este ainda é um método muito subjetivo. Taxas de sensibilidade variam de 59 a 100% e de especificidade de 19 a 66% (MATHEWS *et al.*, 2004; COSTA E SILVA *et al.*, 2008; GIMENEZ *et al.*, 2011). Um estudo recente mostrou que a adição de biópsia aleatória a HRA aumentou significativamente o número de HSIL identificadas (SILVERA *et al.*, 2014).

As limitações do HRA incluem necessidade de equipamento especial, dependência de um operador e divulgação limitada na comunidade médica (MAIA *et al.*, 2014). Sua disponibilidade ainda é limitada devido ao reduzido número de clínicos que realizam tal procedimento, o que representa um obstáculo significativo para iniciar o rastreamento do câncer anal (DARRAGH e WINKLER, 2011).

Devido à alta prevalência da NIA em certas populações, e também ao fato de que um único resultado negativo para a citologia tem um valor preditivo negativo pobre em populações com alta prevalência de doença, alguns pesquisadores têm defendido o uso da HRA como um teste de rastreio primário. Em um estudo, o uso direto de HRA teve o menor custo total e foi a estratégia mais custo-efetiva. No entanto, dada a disponibilidade insuficiente de HRA, a utilização da citologia para fazer a triagem de indivíduos HRA e biópsia pode ser a melhor abordagem atual para identificar a doença na população em situação de risco (CHIN-HONG *et al.*, 2008; PARK e PALEFSKY, 2010; LAM *et al.*, 2011).

2.7.2 Citologia Anal

A citologia foi proposta como uma potencial ferramenta de rastreamento de lesões anais devido à semelhança citomorfológica entre canal anal e o colo do útero. Devido ao risco do surgimento de tumores anais e à possibilidade de detecção das lesões precursoras, os esfregaços citológicos anais estão sendo utilizados para auxiliar no diagnóstico (LYTWYN *et al.*, 2005; NADAL e MANZIONE, 2005). A citologia é um teste de rastreio e não fornece diagnóstico definitivo. Portanto, é usada principalmente para determinar a necessidade de se encaminhar para a HRA (JAY, 2011).

A citologia oferece duas vantagens sobre a anoscopia: 1) É uma técnica simples, necessitando apenas de um breve treinamento para obtenção de amostras adequadas; 2) Permite a amostragem de uma grande área, com o mínimo de desconforto do paciente e sem anestesia (SCHOLEFIELD *et al.*, 1998).

Avaliou-se o uso da citologia anal e encontrou-se valores de sensibilidade e especificidade que variaram de 42 a 98% e de 16 a 96%, respectivamente (DE RUITER *et al.*, 1994; FRIEDLANDER *et al.*, 2004; ARAIN *et al.*, 2005; CHIAO *et al.*, 2006; NADAL *et al.*, 2007). Estas variações podem ser explicadas pela diferença no tamanho das amostras, prevalência da doença na população estudada e definição de critérios para positividade (BEAN e CHHIENG, 2010). A sensibilidade da citologia para detecção de lesões intraepiteliais anais é maior em pacientes infectados pelo HIV. Por outro lado, a especificidade é maior naqueles não infectados pelo HIV (PALEFSKY *et al.*, 1997a; BERRY *et al.*, 2009).

A citologia é um método sensível, porém resultados da análise citológica anal podem não se correlacionar bem com a histologia (MATHEWS *et al.*, 2004; ARAIN *et al.*, 2005; BEAN e CHHIENG, 2010). Mathews e colaboradores (2004) relataram uma concordância de 74,7% entre os dois métodos, com um índice *Kappa* de 0,36. Estes resultados são comparáveis aos de estudos comparando a citologia cervical com a histologia, que mostraram concordâncias de 64 a 91% e índices *Kappa* de 0,18 a 0,65 (DIBONITO *et al.*, 1993; MAYEAUX JUNIOR *et al.*, 1995; FITTIPALDI *et al.*, 2010).

Ao interpretar estes resultados, devemos levar em conta também a subjetividade da histologia, que está sujeita a erros de amostragem e medição (MATHEWS *et al.*, 2004). Em muitos estudos, a histologia apresentou baixa a moderada reprodutibilidade interobservadores (índices *Kappa* variando de 0,17 a 0,70) (CARTER *et al.*, 1994; COLQUHOUN *et al.*, 2003; LYTWYN *et al.*, 2005). Lytwyn *et al.* (2005), avaliando a concordância entre 4 patologistas, encontraram ainda, para a citologia anal, coeficientes *Kappa* de 0,49 a 0,59. Esta variação de reprodutibilidade interobservadores para exame citológico anal é semelhante à relatada para a citologia cervical (*Kappa* de 0,44 a 0,70) (COCCHI *et al.*, 1997; STOLER e SCHIFFMAN, 2001).

Além disso, o sucesso do rastreamento do câncer anal deve ser baseado na repetição dos testes ao longo do tempo. Palefsky *et al.* (1997a) mostraram que a sensibilidade para a detecção de lesões anais aumentou de 69% para 81% após 2 anos de triagem subsequentes.

Em dois estudos realizados nos Estados Unidos, foi avaliado o custo-benefício da citologia anal no rastreamento de homens homo e bissexuais, portadores ou não do HIV, e verificaram que a triagem a cada 2 ou 3 anos pode ser vantajosa e trazer benefícios à expectativa de vida dos pacientes (GOLDIE *et al.*, 1999; GOLDIE *et al.*, 2000). Em contraste, em outro estudo realizado no Reino Unido a triagem de homens homo e bissexuais não teve uma boa relação custo-benefício. Esta discrepância se deve, provavelmente, às menores taxas de incidência do câncer anal no Reino Unido em comparação com os EUA (KARNON *et al.*, 2008). Outros grupos que poderiam ser rastreados incluem todos os indivíduos HIV positivos, mulheres com histórico de displasia ou câncer cervical e pacientes transplantados (URONIS e BENDELL, 2007).

2.7.2.1 Coleta

Assim como na citologia cervical, a técnica para coleta do material é ponto crítico para qualidade da amostra para representar a morfologia de todo o epitélio. A

instrução do paciente também se faz etapa importante para boa amostragem. Deve-se orientar os indivíduos que serão submetidos à coleta de material anal a evitar o uso de duchas diretas na região, bem como a prática de sexo anal receptivo nas 24 horas que antecedem o exame. Quanto ao posicionamento, a posição de litotomia dorsal é tipicamente usada. O decúbito lateral esquerdo tem sido preferido para mulheres que também estão sendo submetidas a um exame pélvico (JAY, 2011; DARRAGH e WINKLER, 2012).

Estudos sugerem que a utilização de *swab* de poliéster é melhor tolerada pelos pacientes, em comparação com a de escova citológica, que pode causar desconforto e sangramentos. O uso da escova citológica tem representado papel secundário em relação à citologia anal, apesar de poder conferir melhores resultados de leituras citológicas. *Swabs* de algodão, por sua vez, absorvem as células, dificultando a liberação destas na lâmina ou em meio líquido, por isto devem ser evitados (COSTA E SILVA *et al.*, 2005; JAY, 2011).

Nadal e colaboradores (2009) compararam a coleta de material anal com escovas citológicas introduzidas a 2 e a 4 cm, e concluíram que a coleta foi mais eficiente com a escova introduzida mais profundamente.

Para amostragem de células, o instrumento de coleta é inserido no canal anal e girado lentamente enquanto se mantém pressão nas paredes do canal. As células são rapidamente colocadas em lâmina para a citologia convencional ou em meio líquido (BEAN e CHHIENG, 2010).

Amostras podem ser coletadas com ou sem auxílio de um anuscópio para observação da mucosa, sendo que, em um estudo no qual se comparou estas duas formas de coleta, encontrou-se maior número de amostras satisfatórias no segundo caso. O uso do anuscópio pode prejudicar o acesso ao epitélio escamoso próximo à zona de transformação ou ainda pode causar uma descamação do epitélio, contribuindo para diminuir a quantidade de células encontradas (VAJDIC *et al.*, 2005).

O canal anal é mais fácil de ser amostrado de forma cega do que o colo do útero e tanto os pacientes como os profissionais são capazes de obter boas amostras para citologia (CHIN-HONG *et al.*, 2008). Já foi demonstrada, em estudos anteriores, alta adequabilidade das amostras anais obtidas por autocoleta, embora

as taxas de amostras insatisfatórias sejam ligeiramente mais altas para amostras autocoletadas, em relação às obtidas por clínicos. Contudo, a sensibilidade para detecção de neoplasia intraepitelial anal é comparável entre as duas formas de coleta (CRANSTON *et al.*, 2004; LAMPINEN *et al.*, 2006b). Além disso, Chin-Hong *et al.* (2008) mostraram que 80% dos homens com pouca ou nenhuma experiência com rastreamento por citologia anal foram capazes de coletar uma amostra adequada para interpretação na primeira tentativa.

O procedimento de autocoleta do material anal foi considerado, pelos participantes de um estudo, como sendo privado (93%), seguro (100%), e fácil de realizar (100%). A maioria dos participantes (92%) afirmaram que usariam o método de autocoleta de amostras anais novamente e que preferem colher o seu próprio material. Assim sendo, a autocoleta pode aumentar a acessibilidade e aceitabilidade do rastreamento das lesões intraepiteliais anais, principalmente em grupos de risco que apresentam maior sensibilidade a tal método (SHIRAMIZU *et al.*, 2012).

2.7.2.2 Preparo da amostra

Amostras podem ser preparadas pela citologia convencional (CC) ou pela citologia em meio líquido (CML). Na CML a amostragem é similar à convencional. Entretanto, visando diminuir a presença de artefatos, a amostra é dispersa em uma solução preservante. A amostra é preparada centrifugando-se esta suspensão e transferindo-se as células para uma lâmina. Tanto a CC, como a CML, necessitam de coloração pelo método de Papanicolaou (DUPREE *et al.*, 1998; DARRAGH e WINKLER, 2012).

2.7.2.3 Adequabilidade da amostra

Os critérios para definir se um esfregaço é ou não satisfatório são baseados no Sistema Bethesda 2001. A celularidade para citologia convencional deve ser de no mínimo 2 a 3 mil células escamosas, não queratinizadas, bem preservadas e não obscurecidas por artefatos. Para a CML, deve haver ao menos 1 a 2 células escamosas por campo em maior aumento para amostras de ThinPrep® e 3 a 6, para amostras de SurePath®. Amostras compostas em sua maioria por escamas sem núcleos ou obscurecidas por material fecal é considerada insatisfatória para avaliação (SOLOMON e NAYAR, 2004; PEREIRA *et al.*, 2010).

Em estudos de amostras anais, nos quais se comparou as duas metodologias, ambas as preparações produziram diagnósticos semelhantes. Além disso, a CML reduz a presença de fatores de obscurecimento, como material fecal, bactérias e artefatos de secagem, e as amostras podem ainda ser utilizadas para estudos moleculares (SHERMAN *et al.*, 1995; DARRAGH *et al.*, 1997).

Assim como para as amostras cervicais, se houver a presença de células anormais, as amostras devem ser reportadas como satisfatórias para avaliação. Além disso, presença de células metaplásicas ou colunares indica que a zona de transformação foi alcançada, e deve ser reportada. Contudo, a ausência destas células não é necessária para avaliação da amostra (BEAN e CHHIENG, 2010).

Palefsky e colaboradores (1997a) avaliaram o desempenho da citologia anal com relação à presença ou ausência de células colunares, e observaram que houve pouca alteração na sensibilidade e especificidade da citologia quando esfregaços sem células colunares foram excluídos da análise.

As causas mais comuns de amostras insatisfatórias para avaliação incluem: celularidade insuficiente, predomínio de escamas anucleadas e contaminação com material fecal. Pobre preservação celular em esfregaços de citologia convencional também pode produzir um resultado negativo. A variável mais comumente associada com esfregaços insatisfatórios é a profundidade na qual o instrumento de amostragem é introduzido no canal anal. O maior número de casos com material insatisfatório foi encontrado em estudos nos quais as amostras foram coletadas a

uma profundidade de 1,5 a 2 cm (NADAL *et al.*, 2009; HERÁCLIO *et al.*, 2011; DARRAGH e WINKLER, 2012).

2.7.2.4 Interpretação

Em uma amostra de citologia anal normal são observadas células escamosas superficiais e intermediárias, células metaplásicas e células colunares retais. Ao contrário das amostras ginecológicas, amostras anais frequentemente apresentam abundantes células escamosas anucleadas, um componente normal que surge a partir da coleta de amostras da porção mais distal e queratinizada do canal anal (DARRAGH e WINKLER, 2011).

A análise da citologia anal é mais trabalhosa do que a citologia cervical. Isso ocorre devido ao grande número de escamas anucleadas, quantidade de bactérias no fundo da lâmina e presença de matéria fecal, o que dificulta a avaliação do esfregaço, principalmente pelo método convencional (CARDINAL *et al.*, 2014).

Embora organismos também possam ser observados em amostras anais, a citologia anal não deve ser considerada uma ferramenta precisa para o diagnóstico de infecção. Alguns microrganismos são observados de forma semelhante à citologia cervical, como a *Candida spp.* e efeitos citopáticos do Herpes vírus, do citomegalovírus e do HPV. Outros são exclusivos do trato gastrointestinal, como amebas, cistos e ovos de larvas (DARRAGH e WINKLER, 2012).

Em 2001, o Sistema Bethesda para citopatologia cérvico-vaginal incluiu um apêndice para classificação de amostras de citologia anorretal. Assim como para citologia cervical, as interpretações de citologia anorretal incluem: negativo para lesão intraepitelial ou malignidade (NILM), células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US), células escamosas atípicas não se pode excluir lesão de alto grau (ASC-H), lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL), lesão intraepitelial escamosa de alto grau (HSIL) e carcinoma de células escamosas (SOLOMON e NAYAR, 2004).

Apesar das semelhanças entre lesões intraepiteliais escamosas anais e cervicais, o diagnóstico de displasia anal deve ser mais concentrado em alterações nucleares (FRIEDLANDER *et al.*, 2004; BEAN e CHHIENG, 2010). Além disso, os coilócitos verdadeiros são infreqüentes nos esfregaços anais, mesmo quando a biópsia revela lesão evidente. Isso pode ser explicado pela queratinização citoplasmática dificultando a formação das características perinucleares que distinguem o coilócito. Em contraste com o colo uterino, alterações degenerativas são mais comuns e alterações reativas e reparativas são menos comuns em esfregaços anais. Alterações como paraqueratose e disqueratose, são comumente observadas em esfregaços normais (SCHOLEFIELD *et al.*, 1998; ROBERTS e EKMAN, 2012; CARDINAL *et al.*, 2014).

Em amostras classificadas como LSIL as alterações morfológicas encontradas nos esfregaços anais são alterações nucleares em células escamosas superficiais e intermediárias. Essas alterações nucleares incluem aumento nuclear, geralmente maior do que 3 vezes o tamanho normal do núcleo de uma célula intermediária normal; hiper Cromasia, alterações na cromatina e membrana nuclear irregular. Outras alterações podem incluir queratinização citoplasmática e bi e multinucleação. A presença de coilócitos é indicativa de LSIL, mas não é obrigatória para a sua interpretação (PEREIRA *et al.*, 2010; ROBERTS e EKMAN, 2012).

Em amostras classificadas como ASC-US, as células não apresentam os critérios exigidos para interpretação de LSIL. Neste caso, as células apresentam núcleo de 2 a 3 vezes o tamanho normal do núcleo de uma célula intermediária, leve hiper Cromasia, leve irregularidade na forma nuclear e na distribuição da cromatina (PEREIRA *et al.*, 2010).

Para classificação de HSIL, as células devem apresentar aumento da relação núcleo/citoplasma muito maior que na LSIL. As células anormais são metaplásicas imaturas, escamosas intermediárias ou parabasais, isoladas ou em pequenos grupos. Há aumento do tamanho nuclear, hiper Cromasia, cromatina grosseira e irregularidade da membrana nuclear, os nucléolos estão geralmente ausentes. A presença de células paraqueratóticas atípicas também é comum. Quando não existem critérios suficientes para o diagnóstico de HSIL, a utilização da

classificação ASC-H é apropriada (PEREIRA *et al.*, 2010; DARRAGH e WINKLER, 2012).

O carcinoma escamoso anal é similar ao do colo uterino, com variável número de células malignas, frequentemente com células queratinizadas (ROBERTS e EKMAN, 2012). O carcinoma invasivo é difícil de diagnosticar na citologia anal porque sinais de diátese estão frequentemente ausentes ou podem ser difíceis de distinguir do material fecal (DARRAGH e WINKLER, 2012).

2.8 CONSIDERAÇÕES

O emprego do rastreamento do câncer anal através da citologia teve seu início estimulado pela similaridade etiológica e patológica das lesões anais com as lesões cervicais (DARRAGH e WINKLER, 2011). Entretanto, alguns autores questionam o real benefício do rastreamento do câncer anal, devido à falta de evidência da diminuição da mortalidade por este câncer e também pela falta de padronização das ferramentas utilizadas para rastreamento e tratamento deste câncer (CZOSKI-MURRAY *et al.*, 2010; READ e FAIRLEY, 2011; GRULICH *et al.*, 2012). Com base nisto, este trabalho visou comparar os métodos citológicos convencional e em meio líquido no rastreio de lesões intraepiteliais anais, com o objetivo de padronizar a sua utilização para a prevenção e controle do câncer anal.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Estudar aspectos técnicos e citomorfológicos na comparação entre os métodos convencional e em meio líquido para o exame de citologia anal.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) Testar o emprego de citologia convencional e de citologia em meio líquido em amostras de mucosa anal de indivíduos considerados saudáveis e de portadores de HIV.

b) Avaliar comparativamente amostras de portadores e não portadores do HIV quanto à presença de microrganismos, tipos celulares, alterações citológicas anais, bem como em relação à categorização e classificação do exame citológico anal.

c) Avaliar o desempenho das metodologias empregadas de acordo com critérios de adequação das amostras e com a presença de tipos celulares, microrganismos e alterações reativas, degenerativas, pré-neoplásicas e neoplásicas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 Amostra

As amostras de mucosa anal para este estudo foram obtidas de indivíduos adultos subdivididos em: a) Grupo controle - voluntários do Curso de Farmácia e do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Paraná e funcionários do Hospital Osvaldo Cruz – Curitiba, PR, que não apresentavam diagnóstico ou suspeita clínica de infecção pelo HIV (n=50); b) Grupo HIV – pacientes HIV positivos atendidos no Hospital Osvaldo Cruz - Curitiba, PR.

O grupo controle foi composto por 52 voluntários, sendo que 35 indivíduos pertenciam ao sexo feminino (67,3%) e 17, ao masculino (32,7%), com idades entre 18 e 84 anos, com médias e desvios padrão de $36,2 \pm 13,1$ para os homens e $42,2 \pm 15,5$ para as mulheres. O grupo HIV foi composto por 50 pacientes HIV positivos, sendo 22 indivíduos do sexo feminino (44,0%) e 28, do sexo masculino (56,0%), com idades entre 21 e 72 anos. As médias e desvios padrão foram de $40,2 \pm 9,6$ anos para os homens e de $41,9 \pm 11,6$ anos para as mulheres.

Os indivíduos participantes da pesquisa ou seus responsáveis legais foram conscientizados a respeito da importância deste estudo e convidados a assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexos 1 e 2), aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, com número 980.958 e CAAE 38458314.5.0000.0102 (Anexo 3), de forma a manifestarem sua concordância em participar.

4.1.2 Critérios de Exclusão

Os critérios de exclusão foram os seguintes para os grupos: a) Grupo controle: Indivíduos com diagnóstico ou que apresentem sinais ou sintomas de infecção por HIV, como: perda excessiva de peso, náuseas, infecções recorrentes, fadiga, febre, diarreia e suores noturnos; b) Grupo HIV: Indivíduos não portadores do HIV.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Abordagem dos Indivíduos Sujeitos da Pesquisa

Grupo controle – a abordagem aos alunos foi feita por meio de cartazes afixados em diferentes murais do prédio do Curso de Farmácia da UFPR, convidando-os a participarem da pesquisa, evitando assim possíveis constrangimentos aos acadêmicos. Os cartazes esclareciam que os que desejassem participar deveriam entrar em contato com os pesquisadores. Os voluntários receberam explicações a respeito da importância deste estudo para a sistematização e aplicação de novas metodologias em citologia clínica, que possam vir a contribuir para o diagnóstico do câncer e de outras doenças que acometam a região anal. Em seguida, assinaram o TCLE modelo 1 (Anexo 1) e responderam ao Instrumento de Avaliação na forma de entrevista para sua identificação e sobre seus hábitos, situação sócio-econômica, possíveis queixas clínicas e uso de medicamentos (Anexo 4).

Grupo HIV – os pacientes foram orientados em relação aos objetivos da pesquisa e, após explicação, assinaram o TCLE modelo 2 (Anexo 2) e responderam ao Instrumento de Avaliação.

4.2.2 Coleta do Material Anal

Existem divergências na literatura quanto à coleta do material anal, e se fez necessária uma padronização da mesma, com o objetivo de averiguar um método eficiente e bem tolerado pelos pacientes. A coleta foi realizada de acordo com o recomendado no estudo de Vajdic e colaboradores (2005), sem o auxílio de anuscópio. O instrumento de coleta padronizado foi o *swab* de rayon (COSTA E SILVA *et al.*, 2005), inserido no canal anal a uma profundidade de 4 cm (NADAL *et al.*, 2009).

4.2.2.5 Coleta do material do grupo HIV

A coleta do material em indivíduos HIV positivos foi realizada por profissional treinado. Os participantes da pesquisa, após explicação sobre a inocuidade da coleta, foram orientados a deitarem em uma maca em posição fetal, expondo a região anal. Em seguida, para raspagem de mucosa anal, foi introduzido um *swab* de rayon (Rayswab®) 4 cm adentro do orifício, girando-o 360° em torno de seu eixo e retirando-o do canal com movimento em espiral.

O material citológico foi depositado em lâmina de microscopia, rolando-se o *swab* em várias faixas longitudinais, de forma a preencher a lâmina. A lâmina com o material foi rapidamente acondicionada em um frasco plástico porta-lâminas cilíndrico com tampa hermética, contendo álcool etílico 95% como solução fixadora, durante no mínimo 30 minutos e no máximo sete dias. O *swab* contendo o material restante foi acondicionado em meio líquido Sirius®, durante no mínimo 30 minutos e no máximo sete dias, para realização da citologia em meio líquido. Cada recipiente foi adequadamente identificado e transportado para estudo citológico no Laboratório de Citologia Clínica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná.

4.2.2.6 Coleta do material do grupo controle

Os participantes da pesquisa foram devidamente instruídos a realizarem a autocoleta, sendo que, além da explanação verbal, foi entregue aos mesmos um folheto contendo instruções para autocoleta (ANEXO 5). O próprio participante da pesquisa, em uma posição de sua preferência que lhe permita acesso ao ânus, introduziu o swab 4 cm adentro do canal anal, girando-o 360° em torno de seu eixo e retirando-o do canal com movimento em espiral.

O material citológico foi depositado em lâmina de microscopia, rolando-se o swab em várias faixas longitudinais, de forma a preencher a lâmina. A lâmina com o material foi acondicionada em um frasco plástico porta-lâminas cilíndrico com tampa hermética, contendo álcool etílico 95% como solução fixadora, durante no mínimo 30 minutos e no máximo sete dias. O swab contendo o material restante foi acondicionado em meio líquido Sirius[®], durante no mínimo 30 minutos e no máximo sete dias, para realização da citologia em meio líquido.

Os participantes da pesquisa foram instruídos a entregar o material no Laboratório de Citologia Clínica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, onde foi realizada a conferência e identificação deste material, para então se proceder ao estudo citológico.

4.2.3 Preparo do Material para Citologia em Meio Líquido

As amostras de citologia em meio líquido foram processadas por homogeneização em agitador tipo vórtex durante 20 segundos. Retirando-se o swab, o material foi então transferido para um tubo com fundo cônico com capacidade para 15 mL e centrifugado a 1500 rpm durante 5 minutos, desprezando-se o sobrenadante por inversão. Em seguida, o sedimento foi ressuspenso por homogeneização em vórtex, confeccionando-se o esfregaço por espalhamento de 50 µl do material em forma circular, com o auxílio de ponteira descartável de pipeta

automática e secagem ao ar. O material foi fixado em etanol 95% durante 30 minutos (DA SILVA, 2014).

4.2.4 Coloração e Montagem das Lâminas

Cada lâmina previamente fixada foi corada pelo método de Papanicolaou (Newprov®), de acordo com o QUADRO 2. As lâminas coradas foram mantidas imersas em xilol até o momento do preparo. Após adição de 2 gotas de Entelan®, a lâmina foi coberta com lamínula 24x60 mm e submetida a secagem por 24 horas em capela de exaustão.

Cuba	Reativo	Tempo
1	Etanol a 80%	2 minutos
2	Etanol a 70%	2 minutos
3	Etanol a 50%	2 minutos
4	Água destilada	2 minutos
5	Hematoxilina de Harris*	45 segundos
6	Água corrente	10 minutos
7	Etanol a 50%	2 minutos
8	Etanol a 70%	2 minutos
9	Etanol a 80%	2 minutos
10	Orange G*	2 minutos
11	Etanol absoluto	2 minutos
12	Etanol absoluto	2 minutos
13	Eosina Amarelada 36*	2 minutos
14	Etanol absoluto	2 minutos
15	Etanol absoluto	2 minutos
16	Etanol absoluto	2 minutos
17	Xilol	2 minutos
18	Xilol	2 minutos

QUADRO 2 - COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU MODIFICADA, SEGUNDO NEWPROV

4.2.5 Análise Citológica

Realizou-se análises microscópicas para avaliar: adequabilidade e qualidade das amostras; presença de células escamosas superficiais, intermediárias e parabasais, células metaplásicas, células colunares, leucócitos polimorfonucleares, histiócitos e hemácias; intensidade e tonalidade da coloração do citoplasma e do núcleo; distribuição e granulosidade da cromatina; relação núcleo/citoplasma; presença de alterações reativas, degenerativas, pré-neoplásicas ou neoplásicas; presença de microrganismos normais e patológicos.

A análise citológica dos esfregaços foi realizada por dois citologistas, de forma independente. Em casos de discordâncias interobservadores, um terceiro citologista avaliou o esfregaço e a interpretação foi definida por consenso. Utilizou-se para as análises os critérios citomorfológicos da literatura (CIBAS e DUCATMAN, 1996; BIBBO, 1997; MEISELS e MORIN, 1997; SOLOMON e NAYAR, 2004; KOSS e MELAMED, 2005).

4.2.5.7 Adequação da amostra

A adequabilidade dos esfregaços analisados foi avaliada de acordo com os seguintes critérios: aspectos de fixação, coloração do núcleo e citoplasma, celularidade, formato das células, visualização da estrutura da cromatina, presença de artefatos de coloração, sobreposição celular e obscurecimento por material fecal e leucócitos. Para cada um desses itens, foram atribuídas as seguintes classificações: satisfatório ótimo, satisfatório regular e insatisfatório (DA SILVA, 2014).

Amostras insatisfatórias foram relatadas e quantificadas para cada metodologia utilizada na coleta do material citológico.

4.2.5.8 Tipos celulares

Relatou-se a presença de células escamosas superficiais, intermediárias, parabasais e basais, escamas anucleadas hiperqueratóticas, células colunares, células metaplásicas, leucócitos polimorfonucleares, histiócitos e hemácias, avaliando-se sua quantidade em cruces (raras, 1+, 2+ ou 3+), para estabelecer comparações entre as metodologias empregadas, em relação aos tipos celulares encontrados. A semi-quantificação das células foi realizada da seguinte forma: raras, quando foram observadas poucas células na lâmina; 1+, para poucas células por campo; 2+, para quantidade moderada de células por campo, e; 3+, para muitas células por campo.

4.2.5.9 Microrganismos

A análise da presença de microrganismos foi realizada quantificando-se a presença de cocos e bacilos em cruces (+, ++ ou +++) e relatando-se a presença de estruturas fúngicas, efeitos citopáticos de Herpes vírus e de HPV. Comparou-se a detecção dos microrganismos nas diferentes metodologias de coleta e entre os grupos analisados.

4.2.5.10 Alterações citológicas

Analisou-se a presença de alterações reativas, reparativas, degenerativas, pré-neoplásicas e neoplásicas como: pseudoeosinofilia, metacromasia, vacuolização, halo perinuclear, grânulos querato-hialinos, apagamento de bordos citoplasmáticos, coilocitose, hiperqueratose, paraqueratose, homogenização da cromatina, espessamento de bordos nucleares, cariorréxis, edema nuclear,

binucleação, multinucleação, cariopicnose, cariólise, citólise, hipercromasia, aumento da relação núcleo/citoplasma, contorno irregular do núcleo, pleomorfismo celular, anisonucleose, padrão anormal de agrupamentos celulares, cariomegalia, distribuição irregular da cromatina, espessamento irregular da membrana nuclear, mitoses anormais, canibalismo, disqueratose e diátese tumoral. Comparou-se a detecção das alterações nas diferentes metodologias de coleta e nos dois grupos analisados.

4.2.5.11 Elaboração dos laudos citológicos

Para categorização das amostras foram avaliados os tipos celulares presentes, a presença de microrganismos e de alterações reativas, displásicas e neoplásicas, como pode ser observado no Anexo 6.

Para as amostras satisfatórias para avaliação, os achados citológicos foram classificados como negativo para lesão intraepitelial ou malignidade, células escamosas atípicas de significado indeterminado, células escamosas atípicas não se pode excluir lesão de alto grau, lesão intraepitelial escamosa de baixo grau, lesão intraepitelial escamosa de alto grau, ou carcinoma de células escamosas, à semelhança do que é preconizado pelo Sistema Bethesda para citologia cervical (SOLOMON e NAYAR, 2004). Considerou-se como anormalidade citológica, qualquer achado citológico diferente de NILM. Os resultados obtidos foram comparados de acordo com a metodologia de coleta empregada e de acordo com os grupos analisados.

4.2.6 Análise Estatística

Para a realização dos testes estatísticos foram utilizados os programas Microsoft Excel e BioEstat 5.0. Os grupos de estudo e os resultados da citologia anal

convencional e em meio líquido foram comparados com as respostas comportamentais ou entre as próprias lesões observadas. As diferenças entre duas proporções foram analisadas pelo teste Z para duas proporções para amostras independentes. Proporções em populações com 2 ou mais atributos foram analisados pelo teste qui-quadrado e teste de Haberman para resíduos padronizados em tabelas de contingências (HABERMAN, 1973; PEREIRA, 1999). Para testar concordância entre os diagnósticos da CC e CML foi utilizado o coeficiente Kappa, interpretado da seguinte forma: $k \leq 0$, pobre; $k=0,01$ a $0,20$, leve; $k = 0,21$ a $0,40$, considerável; $k= 0,41$ a $0,60$, moderada; $k = 0,61$ a $0,80$, substancial; $k = 0,81$ a 1 , quase perfeita (LANDIS e KOCH, 1977). A significância estatística foi estabelecida em $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

Os resultados do estudo de células de mucosa anal pelas metodologias de citologia convencional e em meio líquido estão divididos em: caracterização dos sujeitos da pesquisa; descrição e comparação dos achados citológicos pelos métodos convencional e em meio líquido; e análise da relação entre características dos sujeitos da pesquisa e alterações citológicas.

5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS SUJEITOS DA PESQUISA

5.1.1 Caracterização de Idade, Sexo e Condições Sócio-comportamentais dos Participantes

A distribuição dos participantes da pesquisa segundo a faixa etária pode ser observada no Gráfico 1.

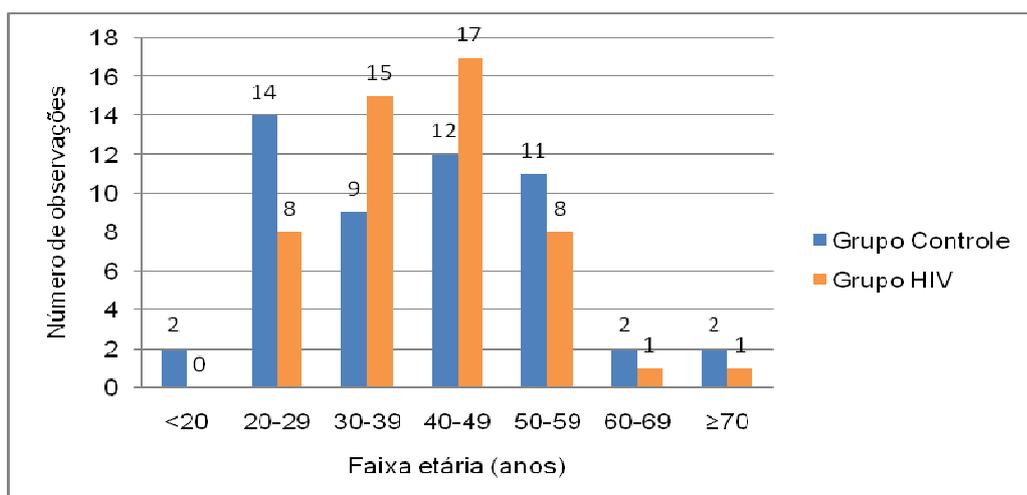


GRÁFICO 1 - DISTRIBUIÇÃO POR FAIXA ETÁRIA DOS INDIVÍDUOS DO GRUPO CONTROLE (N=52) E DO GRUPO HIV (N=50)

A distribuição da frequência dos sujeitos da pesquisa segundo seu estado civil está demonstrada na Tabela 1. Entre os grupos estudados, aproximadamente 46% dos indivíduos do grupo controle não tinham companheiros fixos; e, do grupo HIV, 74% não o tinham; sendo que esta diferença foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

TABELA 1 – CARACTERIZAÇÃO DOS GRUPOS CONTROLE E HIV, DE ACORDO COM O ESTADO CIVIL.

Estado civil	Grupo controle		Grupo HIV	
	N	%	N	%
Solteiro	18	34,6	32	64,0
Casado	23	44,2	6	12,0
Divorciado	3	5,8	4	8,0
União estável	5	9,6	7	14,0
Viúvo	3	5,8	1	2,0
TOTAL	52	100	50	100

No Gráfico 2, pode-se observar a distribuição dos participantes da pesquisa segundo o grau de escolaridade. A grande maioria dos pacientes HIV positivos estudados concluiu apenas o ensino fundamental, enquanto no grupo controle, 48% dos indivíduos iniciaram ou completaram o ensino superior. A diferença entre os dois grupos foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

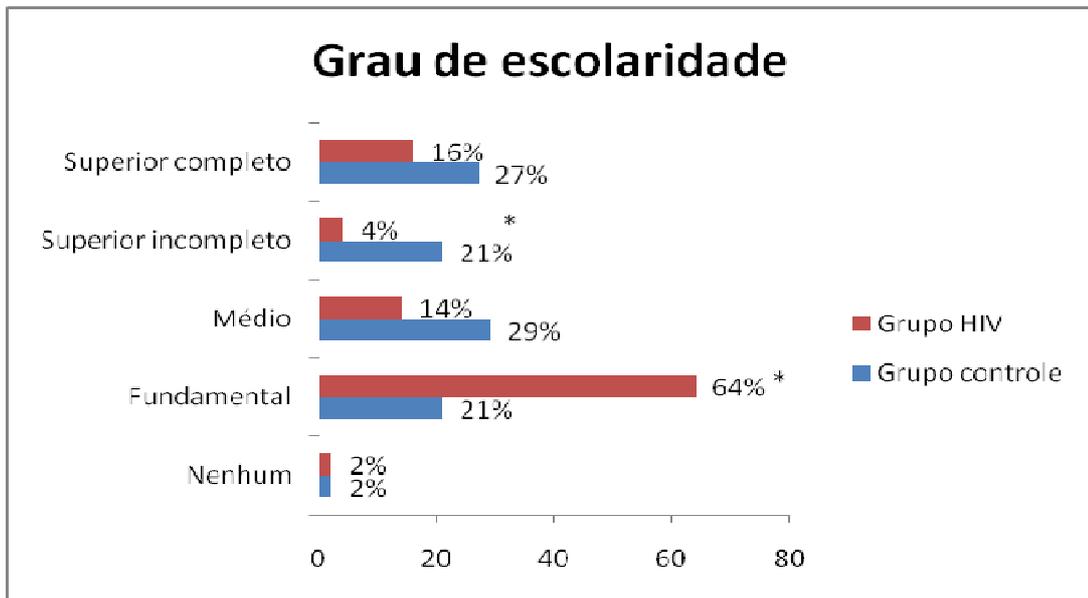


GRÁFICO 2 - GRAU DE ESCOLARIDADE RELATADO PELOS INDIVÍDUOS AVALIADOS NO GRUPO CONTROLE (N=52) E NO GRUPO HIV (N=50)

NOTA: * Diferença significativa na frequência dos grupos ($p < 0,05$).

A distribuição das frequências de faixas salariais nos grupos estudados está demonstrada no Gráfico 3. Houve diferenças significativas nas frequências de faixas salariais entre os grupos ($p < 0,05$).

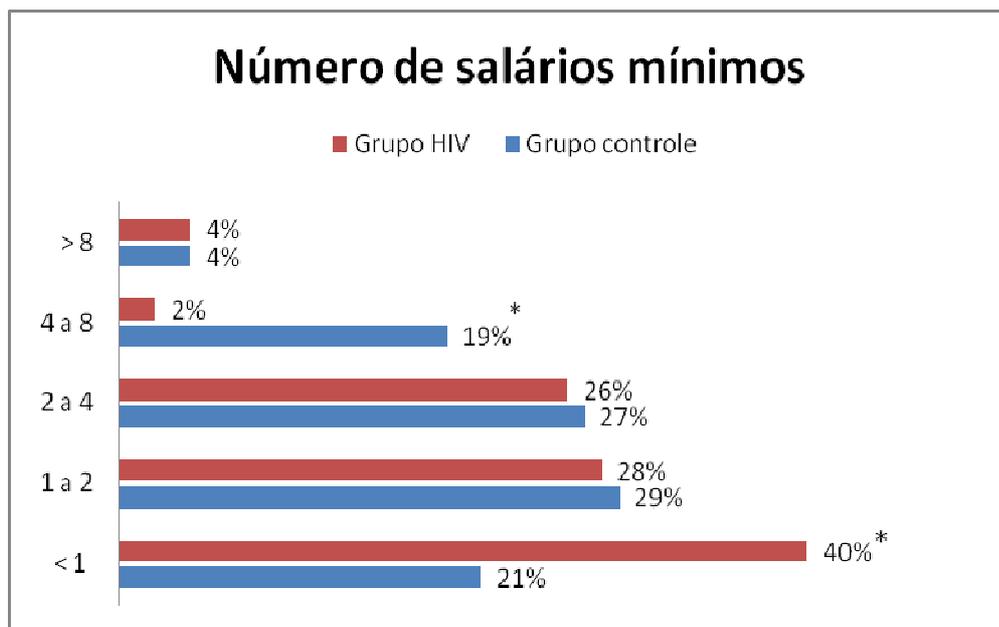


GRÁFICO 3 – CARACTERIZAÇÃO DOS GRUPOS CONTROLE (N=52) E HIV (N=50) DE ACORDO COM AS FAIXAS SALARIAIS RELATADAS EM NÚMERO DE SALÁRIOS MÍNIMOS

NOTA: * Diferenças significativas nas frequências dos grupos ($p < 0,05$).

5.1.2 Relatos Sobre Hábitos de Risco, Condições Clínicas e Cuidados com a Saúde

Entre os pacientes do grupo HIV, 56% afirmaram ser tabagistas; 32% tinham história de alcoolismo; e, 28% relataram já ter feito uso de alguma droga ilícita. No grupo controle, 17% eram tabagistas; 10% tinham história de alcoolismo; e, 4% tinham usado algum tipo de droga ilícita. A diferença entre os grupos foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$) para todos os resultados.

Os pacientes HIV positivos foram questionados também sobre o uso da terapia antirretroviral antes do período do internamento, sendo que 33 (64%) afirmaram tomar os medicamentos e 17 (34%), ter abandonado o tratamento ou nunca tê-lo iniciado.

Com relação às práticas sexuais (Gráfico 4), foi relatado um comportamento de maior risco no grupo HIV, em comparação ao grupo controle, em relação ao número de parceiros desde o início da atividade sexual ($p < 0,05$). Porém, a prática do sexo anal receptivo foi semelhante entre os grupos ($p = 0,564$), sendo relatada por 13 (26%) indivíduos HIV positivos e 11 (21%), do grupo controle. Destes, 54,5% e 69,2%, respectivamente, eram homens que praticam sexo com outros homens.

Quando questionados se tiveram anteriormente alguma doença sexualmente transmissível (DST), apenas 3 pessoas do grupo controle responderam positivamente, enquanto 18 pessoas do grupo HIV relataram uma ou mais DST anteriores (Tabela 2). Essa diferença entre os grupos foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

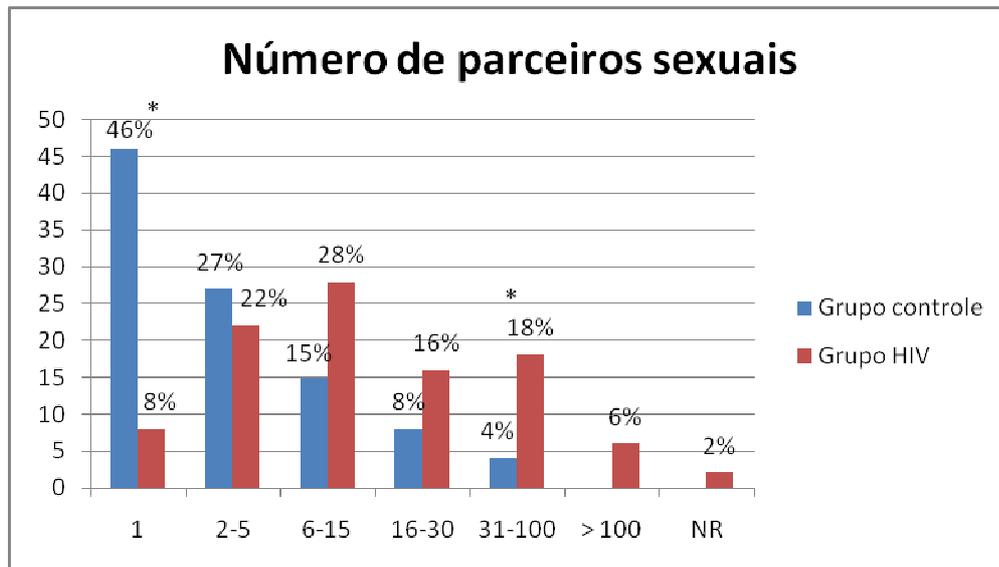


GRÁFICO 4 - DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS DO NÚMERO DE PARCEIROS SEXUAIS DURANTE A VIDA, RELATADOS NOS GRUPOS CONTROLE (N=52) E HIV (N=50)

NOTA: NR – Não responderam. * Diferença significativa na frequência dos grupos ($p < 0,05$).

TABELA 2 - RELATOS DE DOENÇAS SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS DOS INDIVÍDUOS DOS GRUPOS CONTROLE (N=52) E HIV (N=50)

	Grupo controle		Grupo HIV	
	N	%	n	%
Não tiveram DST	49	94	30	60
HPV	3	6	6	12
Sífilis	-	-	6	12
Gonorreia	-	-	3	6
Herpes genital	-	-	1	2
Hepatite C	-	-	1	2
Hepatite B	-	-	1	2
Não sabem informar qual DST	-	-	4	8
Não responderam à questão	-	-	2	4

NOTA: Alguns pacientes do grupo HIV relataram mais de uma DST.

5.1.3 Relatos Sobre Funcionamento do Trato Gastrointestinal

Para avaliação do trânsito intestinal e da consistência das fezes levou-se em consideração o que cada participante considerava o seu normal, visto que muitos pacientes portadores de HIV relataram mudanças do comportamento intestinal quando internados. O resultado da frequência da distribuição dos participantes quanto à avaliação do trânsito intestinal está demonstrada na Tabela 3. Houve diferença estatística entre os grupos avaliados ($p < 0,05$), sendo que mais indivíduos do grupo controle relataram evacuar mais de uma vez ao dia, enquanto mais indivíduos do grupo HIV relataram evacuar menos de 3 vezes por semana.

TABELA 3 - AVALIAÇÃO DO TRÂNSITO INTESTINAL DOS INDIVÍDUOS DOS GRUPOS CONTROLE (N=52) E HIV (N=50), DE ACORDO COM SEUS RELATOS

Trânsito intestinal	Grupo controle		Grupo HIV	
	n	%	n	%
Mais de uma evacuação ao dia	9*	17,3	2*	4,0
Uma evacuação ao dia	19	36,5	22	44,0
Evacuações em dias alternados	18	34,6	12	24,0
Menos de 3 evacuações por semana	6*	11,6	14*	28,0

NOTA: * Diferença significativa na frequência dos grupos ($p < 0,05$).

Quando questionados sobre o uso frequente de laxantes, 3 (5,8%) dos indivíduos do grupo controle informaram que faziam uso dos mesmos. Desses, 2 relataram evacuar menos de três vezes na semana e 1, evacuar em dias alternados. Do grupo HIV, 5 (10%) admitiram fazer uso de laxantes, sendo que 3 haviam relatado constipação, 1 disse evacuar em dias alternados e 1, evacuar todos os dias. A distribuição da frequência dos participantes, segundo relatos sobre a consistência das fezes, é demonstrada no Gráfico 5; sendo que não houve diferença significativa entre os grupos ($p=0,125$).

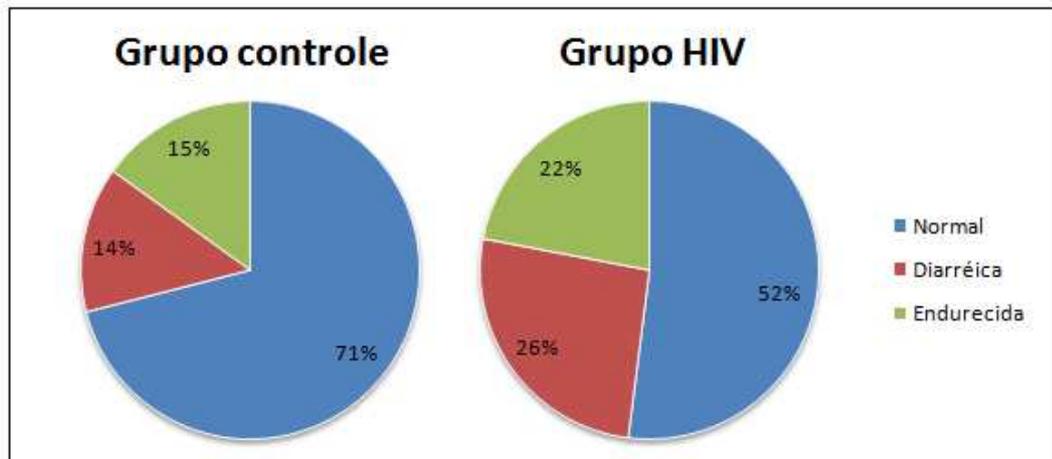


GRÁFICO 5 - CONSISTÊNCIA HABITUAL DAS FEZES RELATADA PELOS PARTICIPANTES DOS GRUPOS CONTROLE (N=52) E HIV (N=50)

Em cada grupo avaliado, 5 participantes relataram uma intolerância parcial ou total à lactose e 1 participante do grupo controle relatou intolerância ao glúten.

Os participantes foram questionados sobre a presença de alguns sinais e sintomas de doenças que poderiam estar afetando o trato gastrointestinal. Não houve diferença estatisticamente significativa de acordo com o relato de sintomas entre os grupos ($p=0,994$), sendo que, 51,9% dos indivíduos do grupo controle e 52,0%, do grupo HIV, relataram a presença de algum dos sintomas citados (Tabela 4). O sintoma mais relatado pelos pacientes foi a presença de hemorroidas.

TABELA 4 - FREQUÊNCIAS DE RELATOS DE SINTOMAS DE POSSÍVEIS DOENÇAS QUE PUDESSEM ACOMETER O TRATO GASTROINTESTINAL

Sinais ou sintomas	Grupo controle		Grupo HIV	
	n	%	n	%
Dor associada à defecação	4	7,7	6	12
Alteração na forma das fezes	5	9,6	0	0
Alteração na frequência das evacuações	8	15,4	12	24
Alteração na consistência das fezes	9	17,3	7	14
Sangue visível nas fezes	4	7,7	6	12
Sensação de evacuação incompleta	10	19,2	5	10
Hemorroidas	18	34,6	13	26

NOTA: Alguns participantes relataram a presença de mais de um sintoma. Grupo controle n=52 e grupo HIV n=50.

5.2 DESCRIÇÃO E COMPARAÇÃO DOS ACHADOS CITOLÓGICOS PELOS MÉTODOS CONVENCIONAL E EM MEIO LÍQUIDO

5.2.1 Avaliação da Adequação da Amostra

No grupo HIV, foram consideradas insatisfatórias 2 (4%) amostras, pelas duas metodologias empregadas, ambas devido à baixa celularidade; enquanto no grupo controle foram 10 (19,2%) das amostras analisadas pela citologia convencional e 11 das amostras analisadas por citologia em meio líquido (21,2%). Após novo contato com participantes do grupo controle cujas amostras foram consideradas insatisfatórias, 5 deles aceitaram realizar nova coleta, para a qual foram novamente instruídos. Nesta repetição, todas as amostras foram classificadas como satisfatórias.

O Gráfico 6 apresenta a avaliação da adequabilidade e da qualidade de amostras citológicas de mucosa anal dos grupos controle e HIV, pelos métodos de citologia convencional e em meio líquido. Não houve diferença significativa entre os critérios de adequação quando se comparou grupo controle e grupo HIV ($p > 0,05$). Quando as metodologias utilizadas foram comparadas, observou-se maior número de amostras satisfatórias regulares para os quesitos obscurecimento por material fecal e estrutura da cromatina, utilizando-se a citologia convencional ($p < 0,05$).

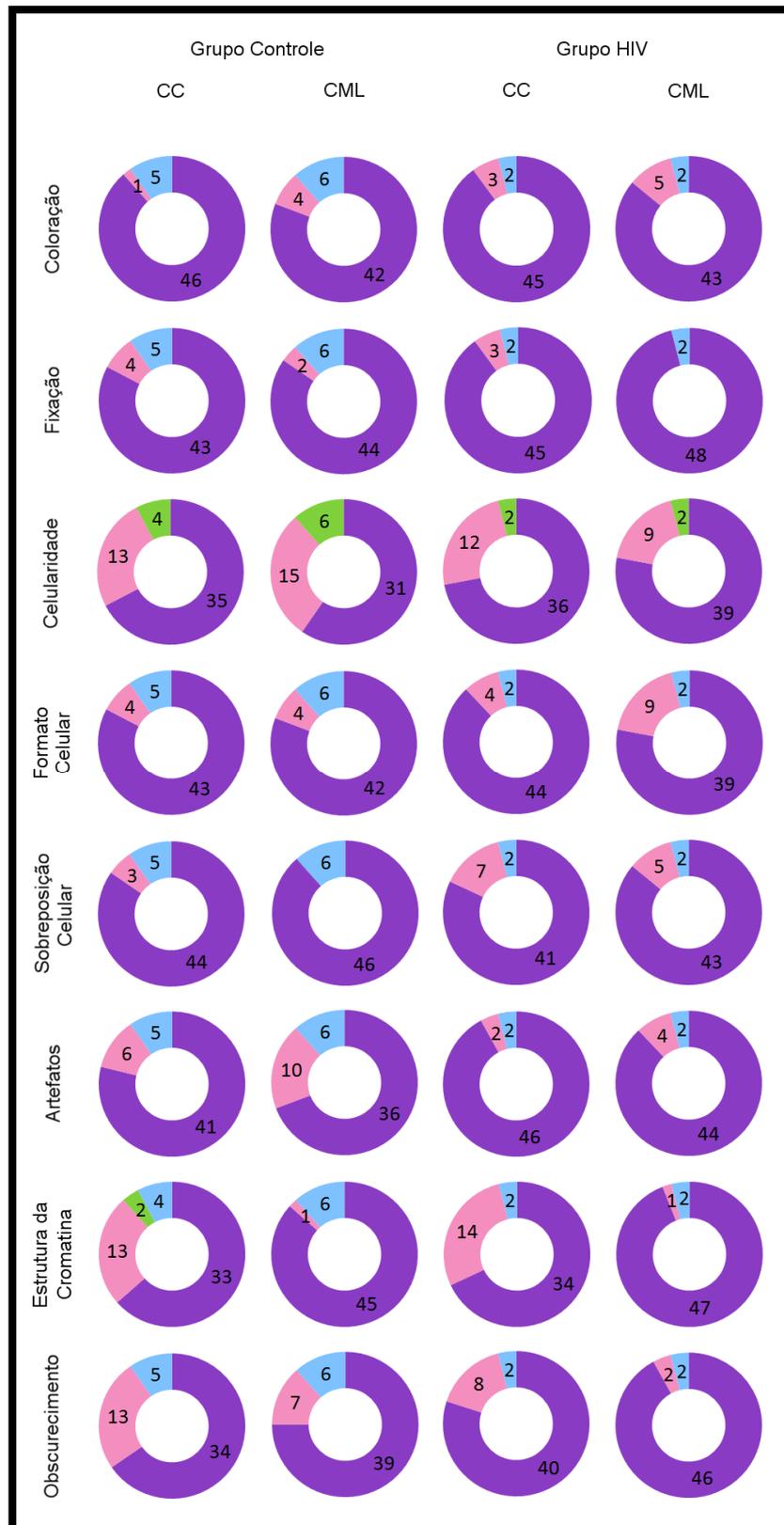


GRÁFICO 6 - AVALIAÇÃO DA ADEQUABILIDADE DE AMOSTRAS CITOLÓGICAS DE MUCOSA ANAL POR CITOLOGIA CONVENCIONAL E EM MEIO LÍQUIDO

NOTA: Frequência ■ satisfatório ótimo ■ satisfatório regular ■ insatisfatório ■ não avaliado

A Figura 5 apresenta fotomicrografias do material citológico anal de um mesmo indivíduo, processado pelos métodos convencional e em meio líquido. No aumento de 100X, é possível observar o fundo sujo na citologia convencional (Figura 5A) e o fundo mais limpo na citologia líquida (Figura 5B). As células na citologia convencional se mostraram mais degeneradas, e com maior dificuldade na observação da estrutura da cromatina, como pode ser observado no aumento de 400X (Figura 5C e 5E). Em contrapartida, nas células processadas em meio líquido, a estrutura da cromatina foi melhor observada, porém as células se apresentaram mais deformadas, com mais pleomorfismo celular (Figura 5D e 5F).

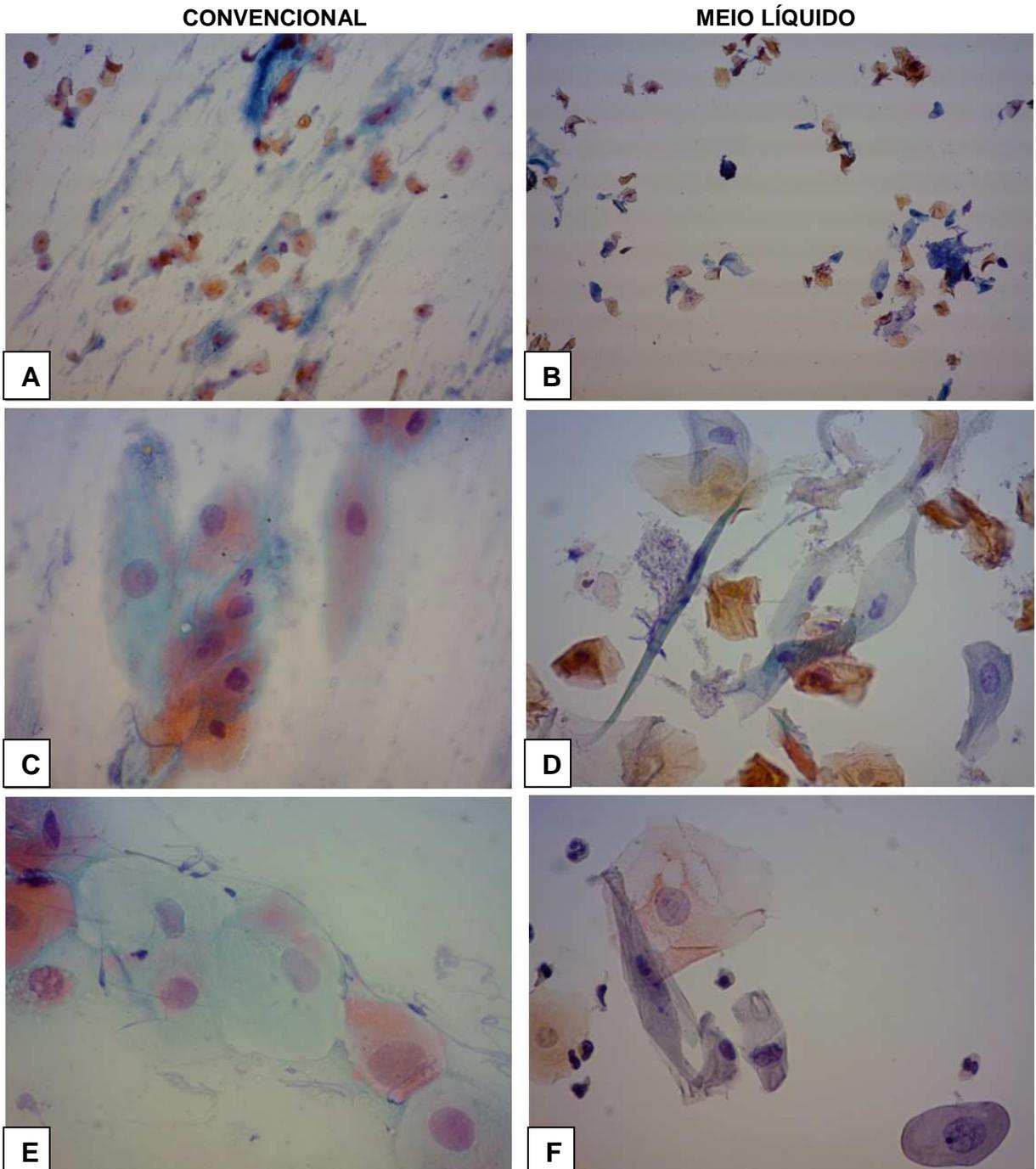


FIGURA 5 - FOTOMICROGRAFIAS DE MATERIAL CITOLÓGICO ANAL PELA METODOLOGIA CONVENCIONAL E EM MEIO LÍQUIDO

NOTA: 5A e 5B – Aumento de 100x; 5C a 5F – Aumento de 400x.

FONTE: A autora.

5.2.2 Distribuição dos Achados Citológicos Segundo a Metodologia Empregada

O Gráfico 7 apresenta os resultados da presença de células escamosas, células metaplásicas, células colunares, leucócitos polimorfonucleares, histiócitos e hemácias, observados na leitura citológica de amostras de mucosa anal pelos métodos de citologia convencional e em meio líquido. Devido aos achados de presença significativa de escamas anucleadas hiperqueratóticas nas amostras de mucosa anal, indicou-se sua presença separadamente das células superficiais.

Comparando-se a presença dos tipos celulares pelas metodologias convencional e em meio líquido, apenas houve diferença estatística para as hemácias ($p < 0,05$), que foram observadas em amostras do grupo HIV pela citologia convencional, mas não pela citologia em meio líquido. Comparando-se a presença dos tipos celulares entre os grupos controle e HIV, não houve diferença estatisticamente significativa entre estes grupos com relação às células escamosas superficiais, intermediárias, parabasais, colunares, e polimorfonucleares; porém as células metaplásicas foram mais observadas no grupo HIV pela citologia em meio líquido, em comparação com o grupo controle ($p < 0,05$) e os histiócitos foram mais observados no grupo HIV, em comparação com o grupo controle, pela citologia convencional ($p < 0,05$).

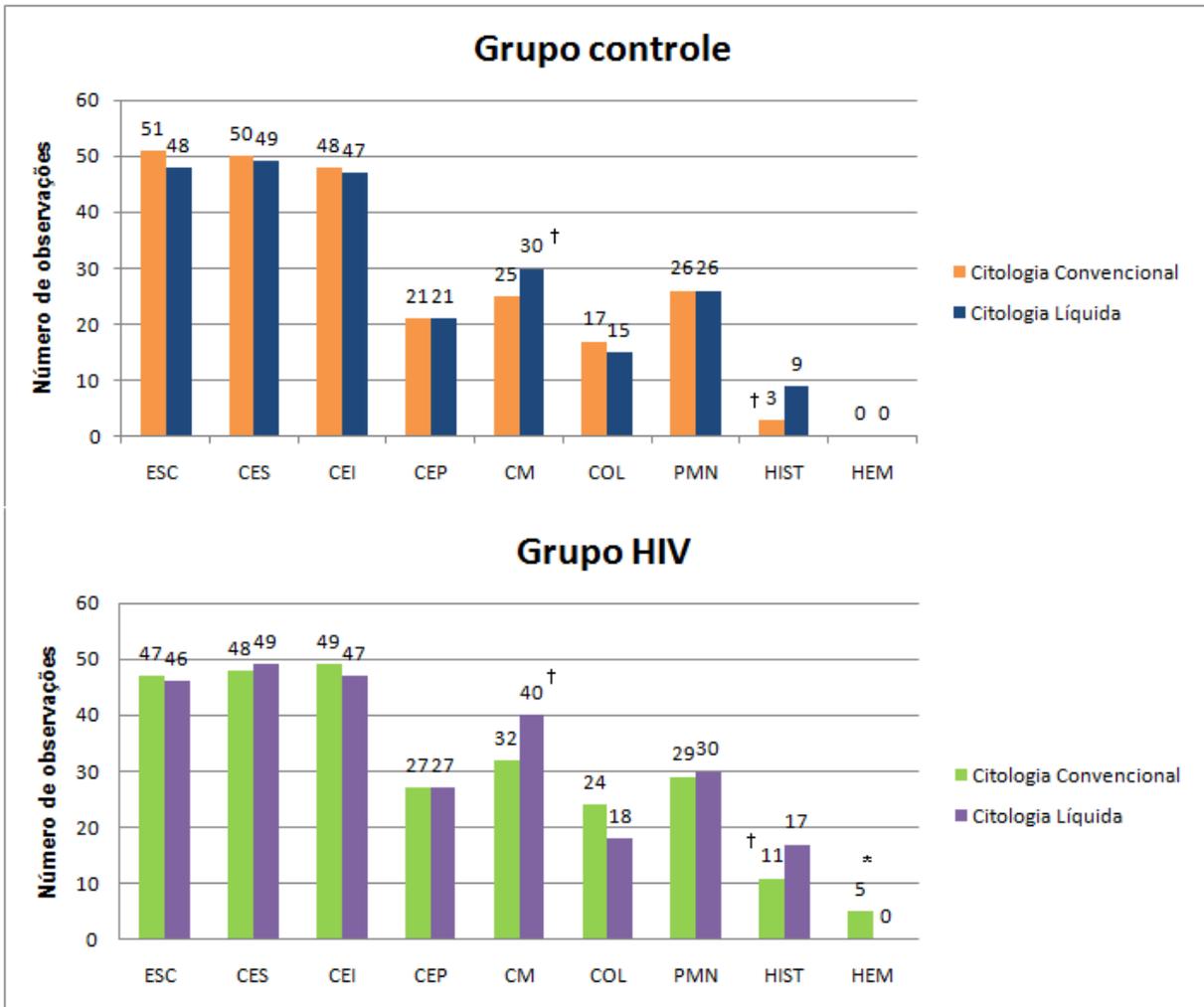


GRÁFICO 7 - PRESENÇA DE TIPOS CELULARES EM AMOSTRAS DE MATERIAL ANAL NOS GRUPOS CONTROLE (N=52) E HIV (N=50)

NOTA: ESC – Escamas anucleadas hiperqueratóticas; CES – Células escamosas superficiais; CEI – Células escamosas intermediárias; CEP – Células escamosas parabasais; CM – Células metaplásicas; COL – Células colunares; PMN – Leucócitos Polimorfonucleares; HIST – Histiócitos; HEM – Hemácias. * Diferença significativa do número de observações pelas metodologias convencional e em meio líquido ($p < 0,05$). † Diferença significativa do número de observações entre os grupos ($p < 0,05$).

A distribuição das amostras segundo a semiquantificação dos tipos celulares observados nas amostras de mucosa anal está demonstrada nos Gráficos 8 e 9.

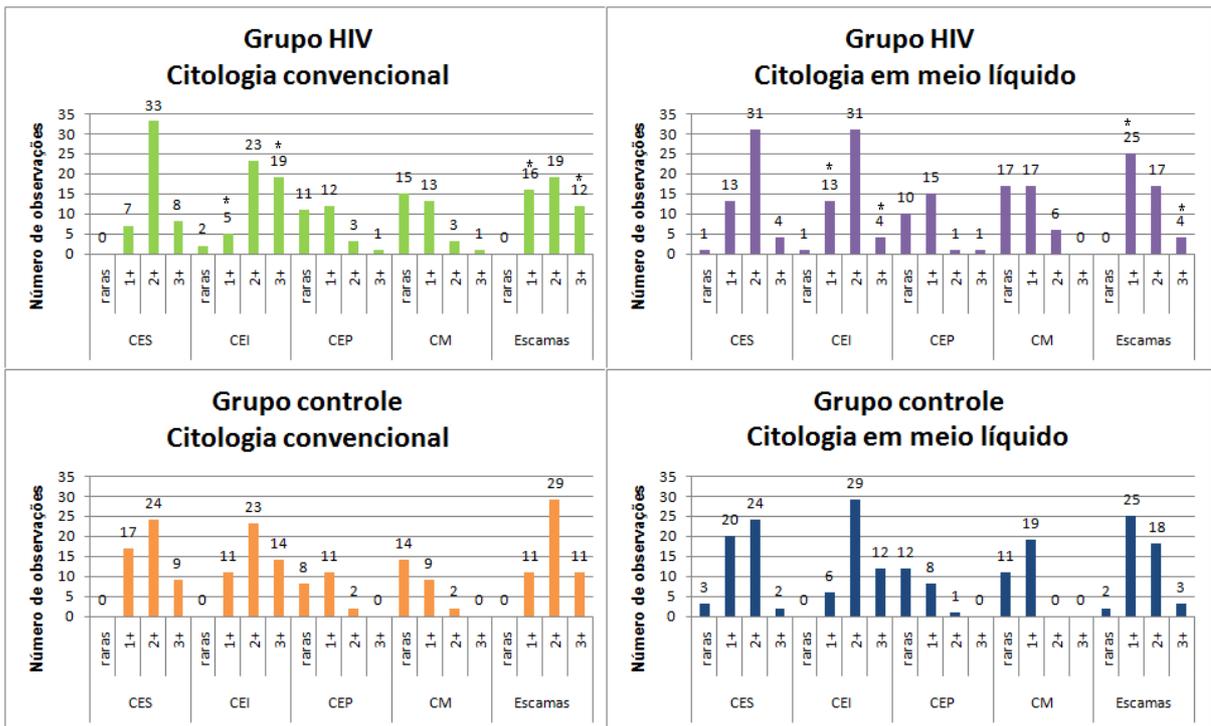


GRÁFICO 8 – SEMIQUANTIFICAÇÃO DOS TIPOS CELULARES EM AMOSTRAS DE MUCOSA ANAL AVALIADAS PELO MÉTODO CONVENCIONAL E LÍQUIDO NOS GRUPOS CONTROLE (N=50) E HIV (N=50)

NOTA: CES – Células escamosas superficiais; CEI – Células escamosas intermediárias; CEP – Células escamosas parabasais; CM – Células metaplásicas. Raras - poucas células na lâmina; 1+ - poucas células por campo; 2+ - quantidade moderada de células por campo; 3+ - muitas células por campo. * Diferença significativa do número de observações pelas metodologias ($p < 0,05$).

As células escamosas superficiais, intermediárias e escamas anucleadas foram observadas em menor quantidade na citologia em meio líquido, em relação à citologia convencional, enquanto as células metaplásicas foram observadas em quantidade maior na CML. Porém, essa diferença só foi significativa ($p < 0,05$), no grupo HIV, para células escamosas intermediárias, escamas e polimorfonucleares. Enquanto no grupo controle, a diferença foi significativa apenas para a quantidade de escamas anucleadas observadas. Para as demais células não houve diferença estatística nas quantidades observadas pelas diferentes metodologias.

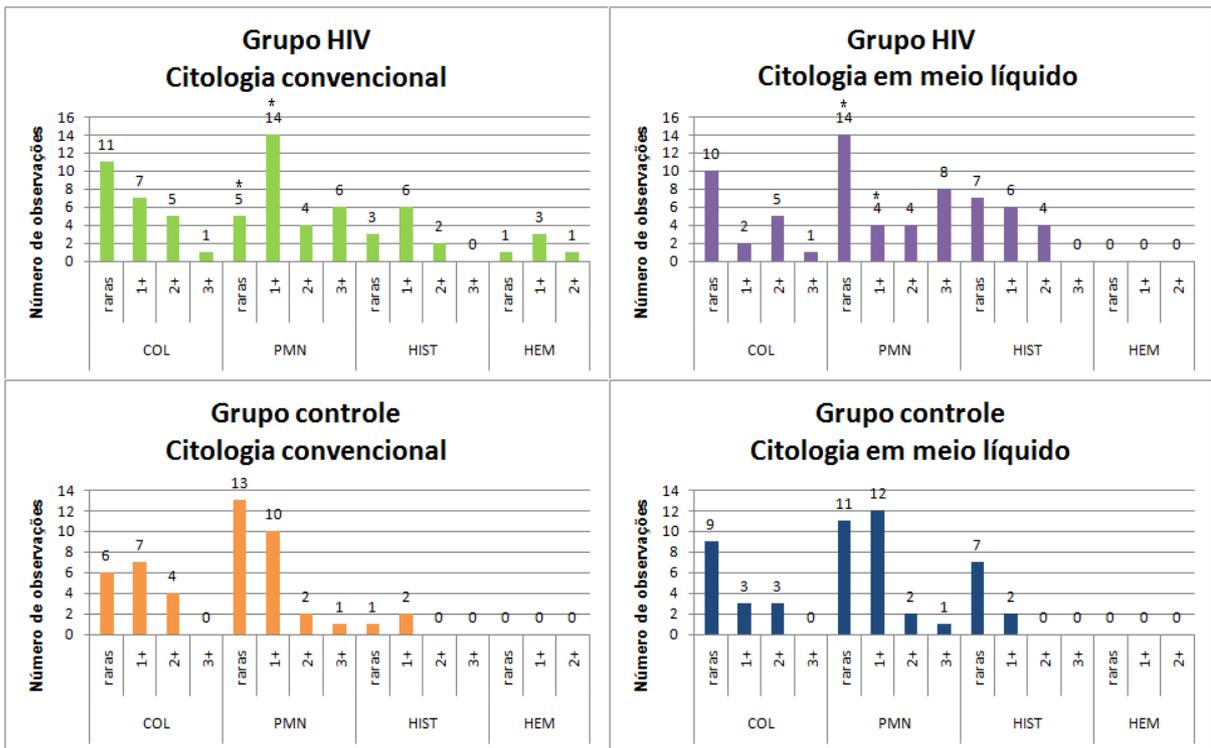


GRÁFICO 9 – SEMIQUANTIFICAÇÃO DAS CÉLULAS COLUNARES, LEUCÓCITOS E HEMÁCIAS EM AMOSTRAS DE MUCOSA ANAL AVALIADAS PELOS MÉTODOS CONVENCIONAL E EM MEIO LÍQUIDO NOS GRUPOS CONTROLE (N=52) E HIV (N=50)

NOTA: COL – Células colunares; PMN – Leucócitos Polimorfonucleares; HIST – Histiócitos; HEM – Hemácias. Raras - poucas células na lâmina; 1+ - poucas células por campo; 2+ - quantidade moderada de células por campo; 3+ - muitas células por campo. *Diferença significativa do número de observações pelas metodologias (p < 0,05).

As Figuras 6 e 7 apresentam fotomicrografias de alguns dos tipos celulares encontrados em amostras do mesmo indivíduo pelos métodos convencional e em meio líquido.

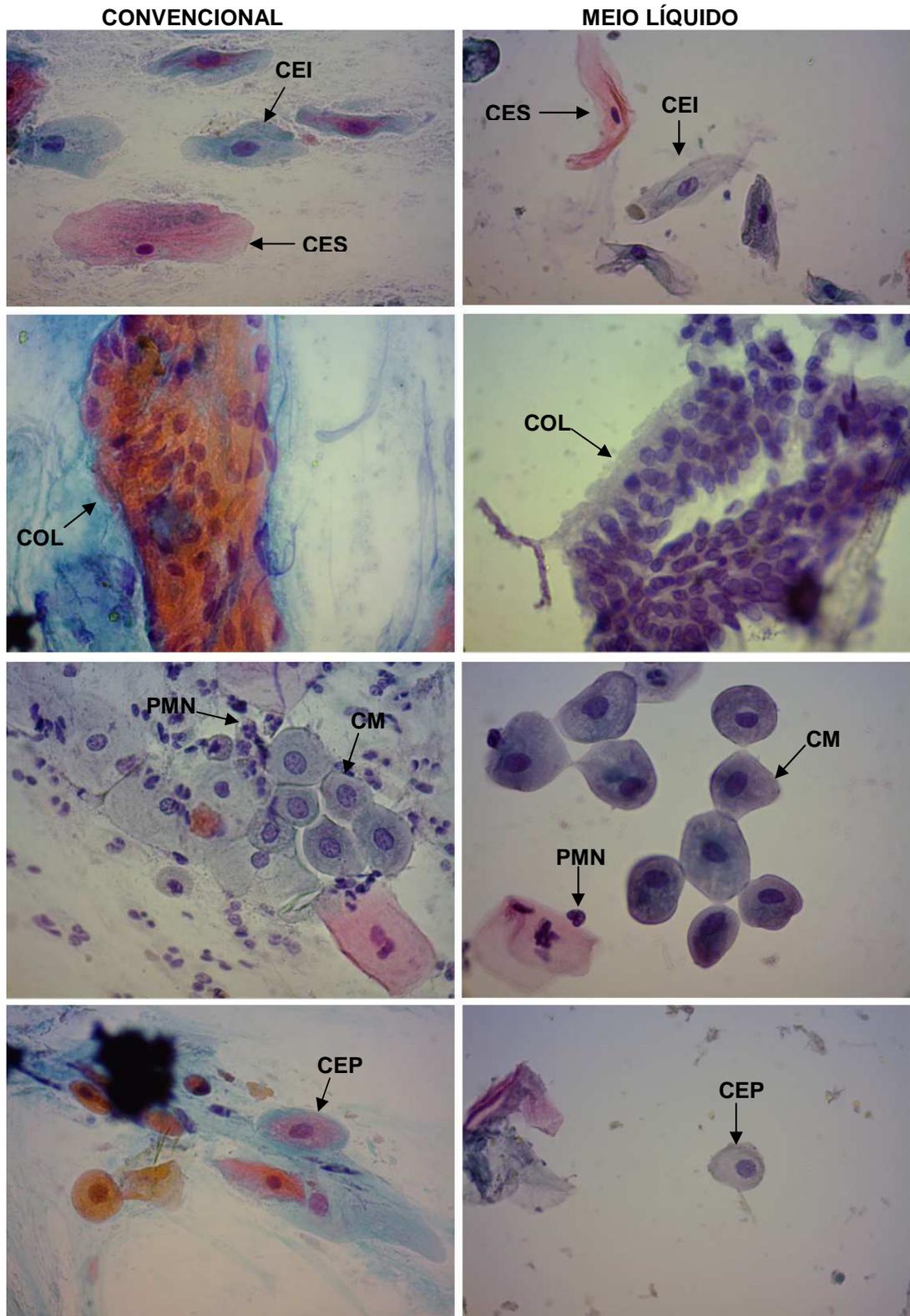


FIGURA 6 - FOTOMICROGRAFIAS DE TIPOS CELULARES OBSERVADOS EM MATERIAL CITOLÓGICO ANAL PELA METODOLOGIA CONVENCIONAL E EM MEIO LÍQUIDO

NOTA: CES – Células escamosas superficiais; CEI – Células escamosas intermediárias; CEP – Células escamosas parabasais; CM – Células metaplásicas; COL – Células colunares; PMN – Leucócitos Polimorfonucleares.

FONTE: A autora.

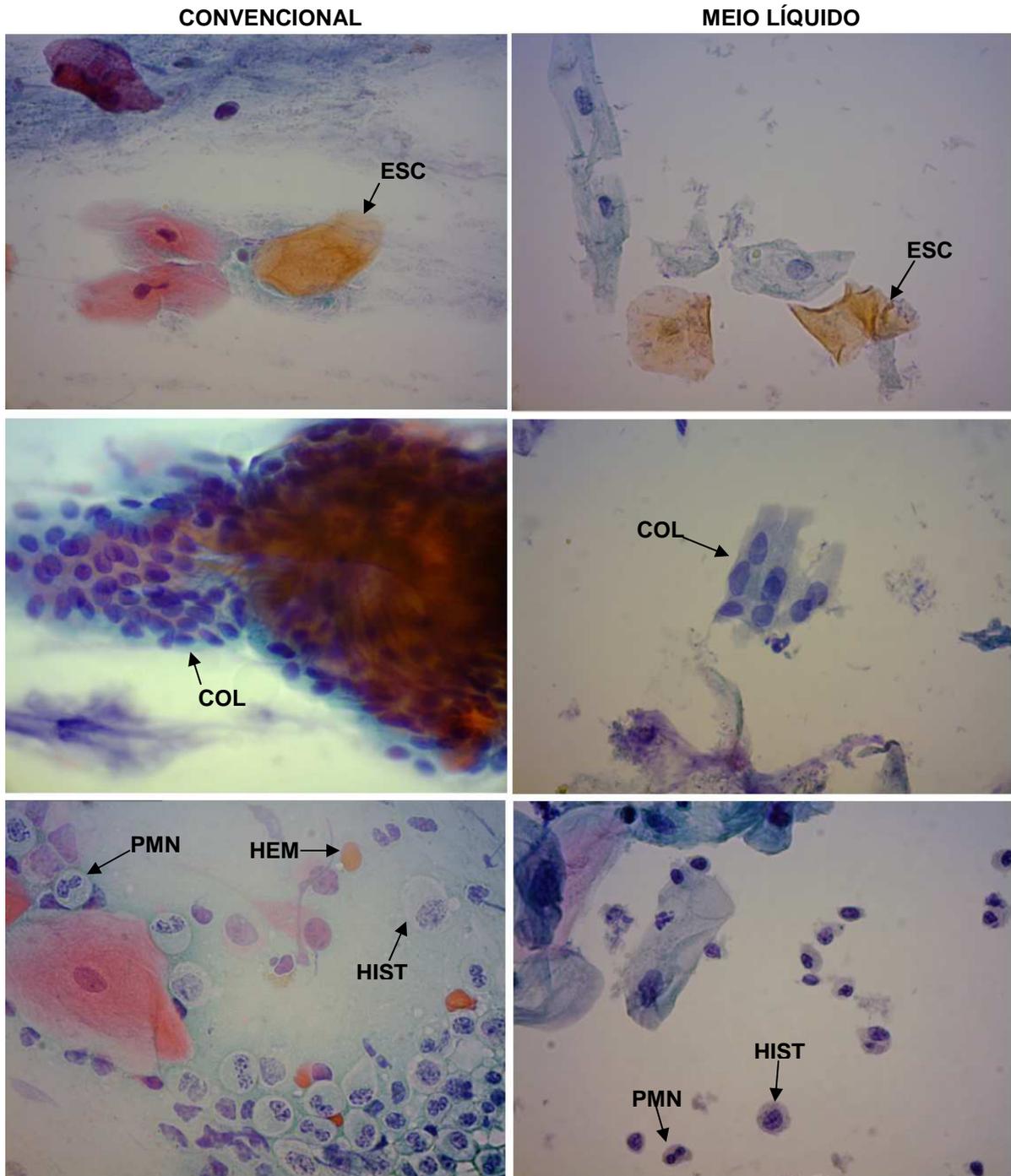


FIGURA 7 - FOTOMICROGRAFIAS DE TIPOS CELULARES OBSERVADOS EM MATERIAL CITOLÓGICO ANAL PELA METODOLOGIA CONVENCIONAL E EM MEIO LÍQUIDO
 NOTA: ESC – Escamas anucleadas hiperqueratóticas; COL – Células colunares; PMN – Leucócitos polimorfonucleares; HEM – Hemácias; HIST – Histiócitos.
 FONTE: A autora.

A Tabela 5 representa comparações entre coleta pelo método convencional e em meio líquido em relação à presença de alterações reativas, reparativas e degenerativas em células de material anal. É possível observar que quase todas as amostras apresentaram alterações, em especial pseudoeosinofilia, metacromasia, apagamentos de bordos citoplasmáticos, hiperqueratose e edema nuclear.

TABELA 5 - PRESENÇA DE ALTERAÇÕES REATIVAS, REPARATIVAS E DEGENERATIVAS EM CÉLULAS DE MATERIAL ANAL PELOS MÉTODOS CONVENCIONAL E EM MEIO LÍQUIDO NOS GRUPOS CONTROLE (N=52) E HIV (N=50)

Alterações	Grupo HIV		Grupo Controle	
	CC	CML	CC	CML
Pseudoeosinofilia	48	46	47	45
Metacromasia	48	46	48	43
Vacuolização citoplasmática	19[†]	19	10[†]	11
Halo perinuclear	12	19	11	14
Grânulos querato-hialinos	25[†]	18[†]	11[†]	8[†]
Apagamento de bordos citoplasmáticos	32*	19*	32	21
Coilocitose	1	2	0	0
Hiperqueratose	48	40	46	42
Paraqueratose	18[†]	12	9[†]	6
Homogeneização de cromatina	4	1	0	0
Espessamento de bordos nucleares	4*	15*[†]	2	3[†]
Cariorréxis	5	8	4	11
Edema nuclear	43[†]	42[†]	36[†]	28[†]
Binucleação	10[†]	18[†]	3[†]	4[†]
Multinucleação	0	3	0	0
Cariopicnose	25*	43*	33	45
Multinucleação com amoldamento	1	2	0	0
Cariólise	25*[†]	47*	38[†]	48
Citólise	7	4	5	4

NOTA: CC – Citologia convencional; CML – Citologia em meio líquido. * Diferença significativa na frequência entre as metodologias analisadas ($p < 0,05$). [†] Diferença significativa na frequência entre os grupos avaliados ($p < 0,05$).

Comparando-se a presença de alterações citológicas de acordo com a metodologia empregada, observa-se que, no grupo HIV, alterações nucleares como espessamento de bordos nucleares, cariopicnose e cariólise, foram mais observadas em amostras de citologia em meio líquido; enquanto o apagamento de bordos

citoplasmáticos foi mais observado em amostras convencionais. Estes resultados foram estatisticamente significativos ($p < 0,05$). No grupo controle esta diferença entre as metodologias foi observada em menor grau e não teve significância estatística.

Comparando-se a presença de alterações reativas e degenerativas entre os grupos HIV e controle (Tabela 5), observou-se, no grupo HIV, maior número de amostras com presença de grânulos querato-hialinos, edema nuclear e binucleação com ambas as metodologias, bem como de vacuolização citoplasmática e paraqueratose pela CC e de espessamento de bordos nucleares, pela CML. No grupo controle, foram observados mais casos com presença de cariólise pela CC. Com relação às outras alterações, não houve diferenças estatísticas entre os grupos avaliados.

Na Tabela 6, é possível comparar a presença de alterações pré-neoplásicas e neoplásicas em amostras de mucosa anal nas metodologias utilizadas e nos grupos avaliados. Destaca-se a presença de alterações como hipercromasia, cariomegalia e pleomorfismo celular.

Quando se comparou as metodologias, o pleomorfismo celular foi mais observado na CML, porém essa diferença não foi significativa ($p > 0,05$) em nenhum dos grupos de estudo (Tabela 6).

Comparando-se os grupos, hipercromasia e cariomegalia foram observados em maior número de casos do grupo HIV ($p < 0,05$). Também o pleomorfismo celular foi mais observado no grupo HIV, mas essa diferença só foi significativa quando se comparou os resultados da CML (Tabela 6).

Todas as outras alterações foram observadas apenas no grupo HIV, com exceção do aparecimento de distribuição irregular da cromatina em um único caso do grupo controle.

TABELA 6 - PRESENÇA DE ALTERAÇÕES PRÉ-NEOPLÁSICAS E NEOPLÁSICAS EM CÉLULAS DE MATERIAL ANAL PELOS MÉTODOS CONVENCIONAL E EM MEIO LÍQUIDO NOS GRUPOS CONTROLE (N=52) E HIV (N=50)

Alterações	Grupo HIV		Grupo Controle	
	CC	CML	CC	CML
Hipercromasia	23 [†]	32 [†]	12 [†]	12 [†]
Cariomegalia	20 [†]	21 [†]	4 [†]	4 [†]
Aumento da relação núcleo/citoplasma	6	8	-	-
Distribuição irregular da cromatina	4	8	-	1
Contorno irregular do núcleo	3	2	-	-
Espessamento irregular da membrana nuclear	1	1	-	-
Nucléolos aberrantes	1	1	-	-
Mitoses anormais	1	1	-	-
Pleomorfismo celular	22	35 [†]	19	25 [†]
Canibalismo	1	-	-	-
Anisonucleose	2	3	-	-
Disqueratose	5	3	-	-
Padrão anormal de grupamentos celulares	1	-	-	-
Diátese tumoral	1	-	-	-

NOTA: CC – Citologia convencional; CL – Citologia em meio líquido. [†] Diferença significativa na frequência entre os grupos avaliados ($p < 0,05$).

5.2.3 Avaliação dos Microrganismos

A distribuição das amostras segundo a presença e semiquantificação dos microrganismos observados nas amostras de mucosa anal está demonstrada no Gráfico 10. Não houve diferenças entre as metodologias e os grupos avaliados.

Observou-se a presença de 1+ a 2+ de cocos e bacilos na maioria das amostras dos dois grupos e pelas duas metodologias.

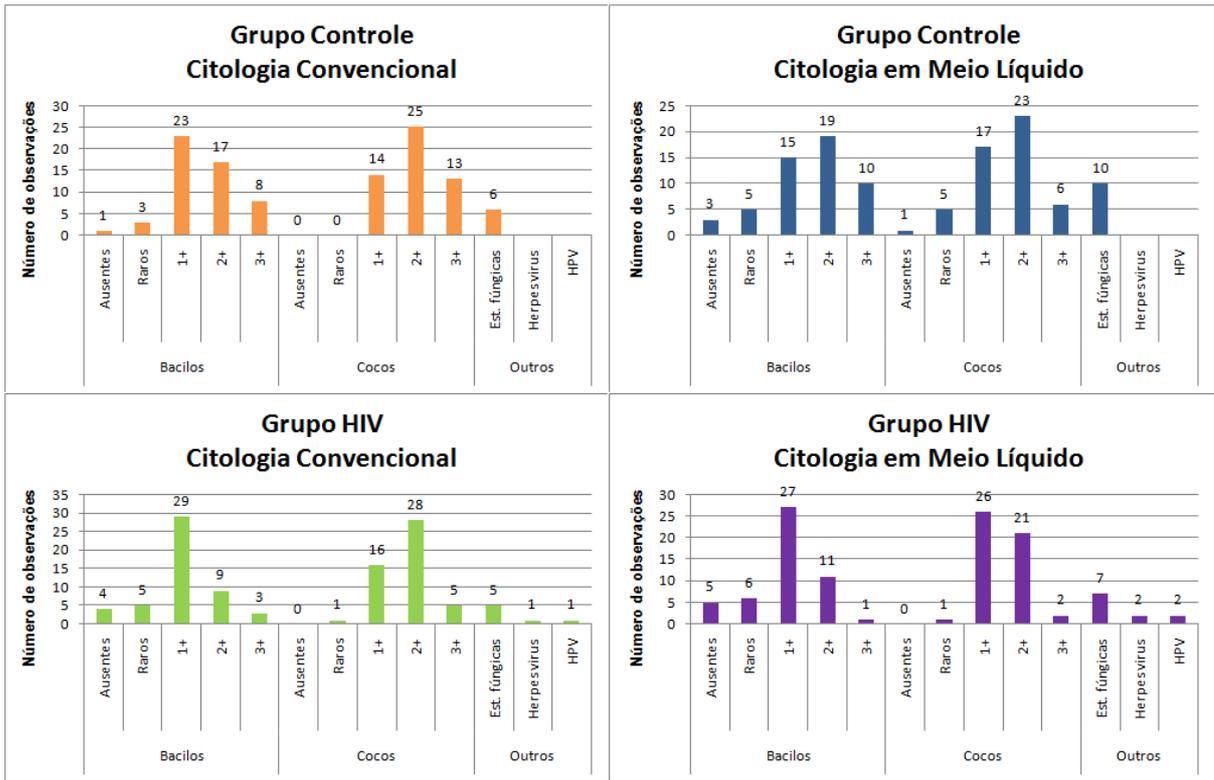


GRÁFICO 10 - SEMIQUANTIFICAÇÃO DOS MICRORGANISMOS EM AMOSTRAS DE MUCOSA ANAL AVALIADAS PELO MÉTODO CONVENCIONAL E LÍQUIDO NOS GRUPOS CONTROLE (N=50) E HIV (N=50)

NOTA: Ausentes – não foram observadas bactérias na lâmina. Raras - poucas bactérias na lâmina; 1+ - poucas bactérias por campo; 2+ - quantidade moderada de bactérias por campo; 3+ - muitas bactérias por campo.

A Figura 8 apresenta fotomicrografias dos microrganismos e efeitos citopáticos de vírus que foram observados em amostras citológicas anais.

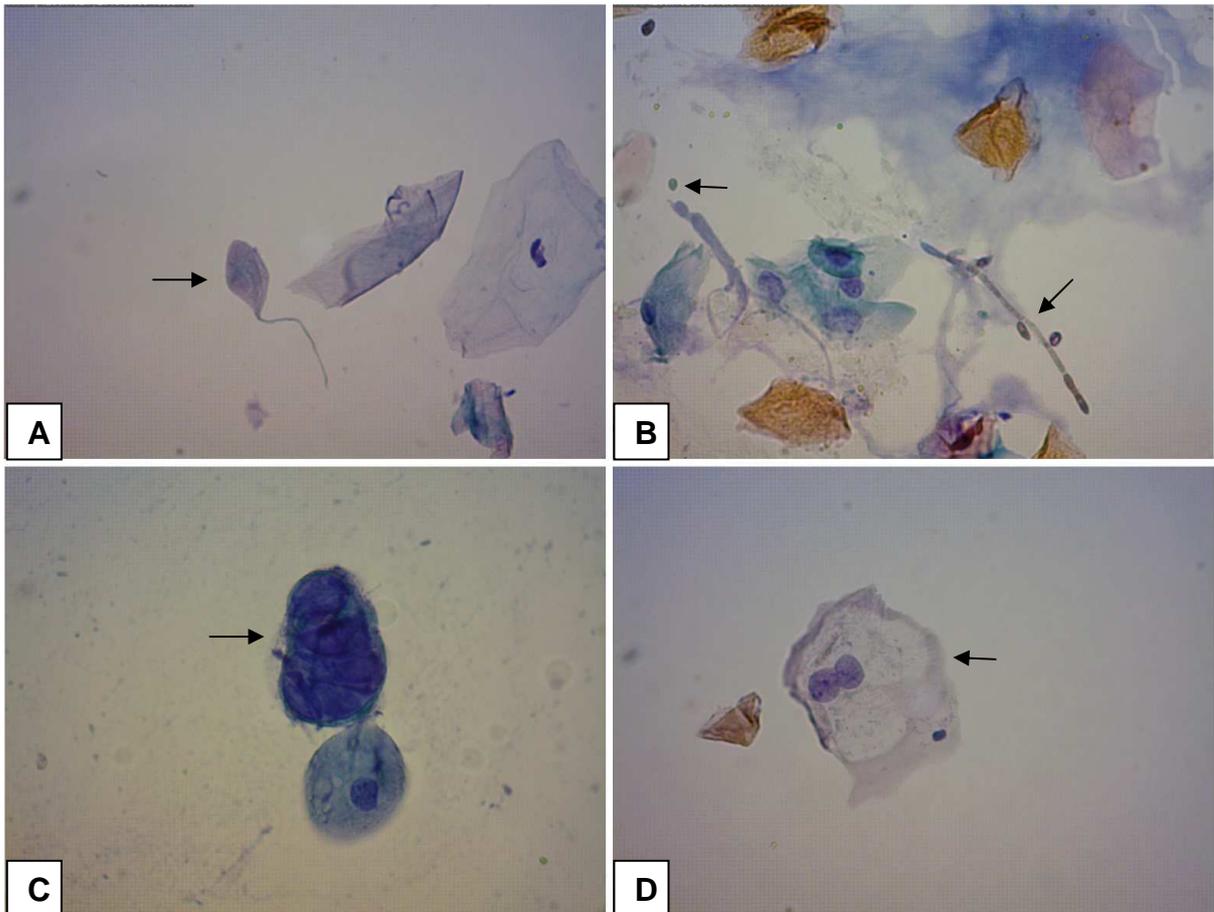


FIGURA 8 - FOTOMICROGRAFIAS DE MICRORGANISMOS E EFEITOS CITOPÁTICOS OBSERVADOS EM MATERIAL CITOLÓGICO ANAL

NOTA: Figura 8A - possível protozoário intestinal; 8B - pseudo-hifas e células leveduriformes; 8C - efeito citopático do vírus Herpes simples; 8D - efeito citopático do HPV.

FONTE: A autora.

5.2.4 Avaliação do Resultado da Análise Citológica

As 102 amostras de citologia anal foram avaliadas por dois métodos citológicos, a citologia convencional e a citologia em meio líquido. Para cada método utilizado, foram realizadas as análises morfológicas e a categorização e classificação do laudo.

Em relação aos achados na citologia anal, quadros interpretados como negativo para lesão intraepitelial ou malignidade (NILM) foram observados em todos os esfregaços do grupo controle com amostras satisfatórias para avaliação, tanto

pela metodologia convencional, como pela citologia em meio líquido. Foi observada positividade em 22% dos casos do grupo HIV, empregando-se como metodologia a citologia convencional, e 20% quando a citologia em meio líquido foi empregada. A classificação das amostras categorizadas como positivas está demonstrada na Tabela 7. Não houve diferença significativa quanto à positividade entre as metodologias utilizadas. Porém, quando se comparou os grupos HIV e controle, foi observada positividade significativamente maior no grupo HIV ($p=0,002$).

TABELA 7 - CATEGORIZAÇÃO DAS AMOSTRAS SATISFATÓRIAS, SEGUNDO OS GRUPOS DE ESTUDO DEFINIDOS E A METODOLOGIA EMPREGADA

Categorização	Grupo HIV				Grupo controle			
	CC		CML		CC		CML	
	n	%	n	%	n	%	N	%
NILM	37	74	38	76	47	90	46	88
ASC-US	7	14	5	10	-	-	-	-
ASC-H	1	2	-	-	-	-	-	-
LSIL	2	4	3	6	-	-	-	-
HSIL	1	2	2	4	-	-	-	-
Insatisfatórias	2	4	2	4	5	10	6	12

NOTA: Grupo HIV n=50; Grupo controle n=52. NILM – Negativo para lesão intraepitelial ou malignidade; ASC-US – Células escamosas atípicas de significado indeterminado; ASC-H – Células escamosas atípicas de significado indeterminado não se pode excluir HSIL; LSIL – Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau; HSIL – Lesão intraepitelial escamosa de alto grau. CC – Citologia convencional; CML – Citologia em meio líquido.

No grupo controle, apenas uma amostra diferiu na interpretação entre as duas metodologias, sendo esta classificada como NILM na CC e insatisfatória na CML (Tabela 7). A concordância entre os dois métodos utilizados, neste grupo, apresentou significância estatística ($p < 0,001$) com teste Kappa de 0,90 (quase perfeita) e intervalo de confiança de 95% (0,628 a 1,000).

No grupo HIV, foi observada concordância entre as duas metodologias empregadas em 92% das amostras, como mostra a Tabela 8. A concordância entre os dois métodos utilizados apresentou significância estatística ($p < 0,001$) com teste Kappa de 0,81 (quase perfeita) e intervalo de confiança de 95% (0,626 a 0,990).

TABELA 8 - CONCORDÂNCIA ENTRE AS INTERPRETAÇÕES CITOLÓGICAS DO GRUPO HIV PELA CITOLOGIA CONVENCIONAL E EM MEIO LÍQUIDO

	CML							Total
	NILM	ASC-US	ASC-H	LSIL	HSIL	Insat.		
CC	NILM	37	0	0	0	0	0	37
	ASC-US	1	5	0	1	0	0	8
	ASC-H	0	0	0	1	0	0	1
	LSIL	0	0	0	1	1	0	2
	HSIL	0	0	0	0	1	0	1
	Insat.	0	0	0	0	0	2	2
	Total	38	5	0	3	2	2	50

NOTA: CC – Citologia convencional; CML – Citologia em meio líquido; Insat. – Amostras insatisfatórias.

Em 4 amostras não houve concordância entre as interpretações citológicas em amostras de citologia convencional e em meio líquido (Tabela 9).

TABELA 9 - CLASSIFICAÇÕES DOS CASOS DE DISCORDÂNCIA NO GRUPO HIV, DE ACORDO COM A METODOLOGIA EMPREGADA

Amostra n°	Citologia convencional	Citologia em meio líquido
13	ASC-H	LSIL
14	ASC-US	NILM
37	ASC-US	LSIL
49	LSIL	HSIL

NOTA: NILM – Negativo para lesão intraepitelial ou malignidade; ASC-US – Células escamosas atípicas de significado indeterminado; ASC-H – Células escamosas atípicas de significado indeterminado não se pode excluir HSIL; LSIL – Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau; HSIL – Lesão intraepitelial escamosa de alto grau.

A Figura 9 apresenta fotomicrografias das alterações citológicas encontradas no grupo HIV, no mesmo indivíduo, pelas metodologias convencional e em meio líquido. As Figuras 9A e 9B mostram alterações características de ASC-US; 9C e 9D, alterações características de LSIL; 9E e 9F coilócitos; 9G e 9H alterações correspondentes a HSIL.

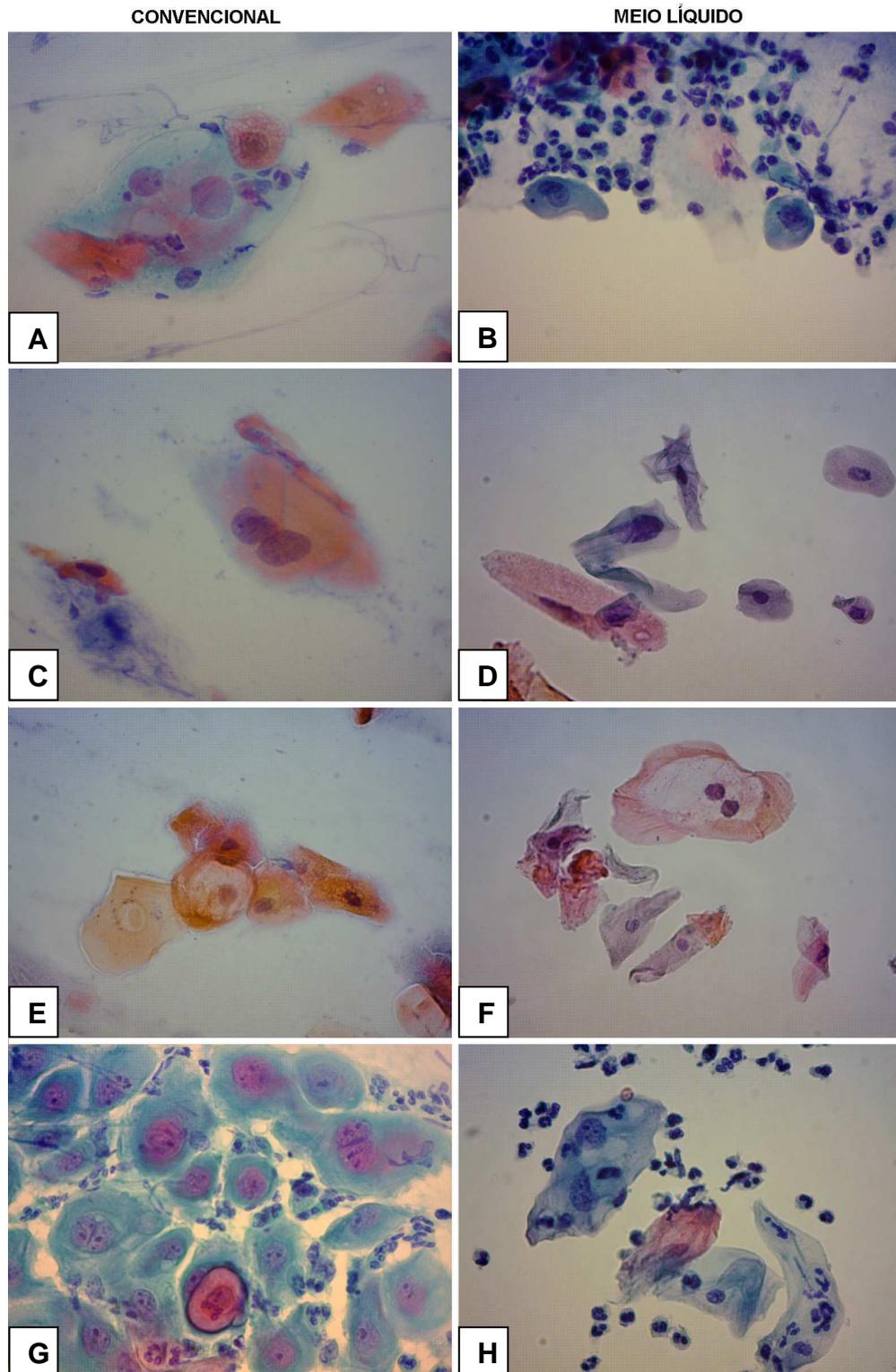


FIGURA 9 - FOTOMICROGRAFIAS DAS ALTERAÇÕES CITOLÓGICAS ENCONTRADAS EM PACIENTES HIV POSITIVOS PELAS METODOLOGIAS CONVENCIONAL E EM MEIO LÍQUIDO

NOTA: Figuras 9A e 9B mostram alterações características de ASC-US; 9C e 9D, alterações características de LSIL; 9E e 9F coilócitos; 9G e 9H alterações correspondentes a HSIL.

FONTE: A autora

5.3 ANÁLISE DA RELAÇÃO ENTRE CARACTERÍSTICAS SÓCIO-COMPORTAMENTAIS E ATÍPIAS CITOLÓGICAS

Na Tabela 10 é estabelecida comparação entre os dados obtidos nas entrevistas, tanto dos indivíduos que apresentaram resultado citológico negativo (NILM) do grupo controle (n=47) e do grupo HIV (n=37), quanto de indivíduos HIV positivos que apresentaram anormalidades citológicas (n=11).

Comparando-se indivíduos HIV positivos e do grupo controle com categorização NILM observou-se, no grupo HIV, número significativamente maior daqueles que se declararam tabagistas, alcoolistas, com maior número de parceiros sexuais ao longo da vida, com histórico de DST anteriores; bem como número significativamente menor dos que relataram ter companheiro(a) fixo(a). Além disso, houve diferença significativa em relatos sobre o trânsito intestinal, sendo mais freqüente os de mais de uma evacuação ao dia no grupo controle e os de menos de 3 vezes na semana no grupo HIV (Tabela 10).

Foram observadas as mesmas diferenças em relação ao número de tabagistas, bem como de relatos de alcoolismo, companheiros fixos, parceiros ao longo da vida e DST anteriores, quando se comparou resultados de NILM do grupo controle com anormalidades citológicas do grupo HIV. Além disso, houve número significativamente maior de indivíduos HIV positivos com anormalidades citológicas que relataram a presença de sangue nas fezes.

Quando se comparou indivíduos do grupo HIV com NILM e com anormalidades citológicas em relação a possíveis fatores de risco ou indicações clínicas, houve diferença estatística apenas nos casos em que havia relato de sangue nas fezes. O mesmo aconteceu quando se comparou indivíduos com anormalidades citológicas do grupo HIV com aqueles que tiveram resultados NILM de ambos os grupos.

TABELA 10 – ASSOCIAÇÃO ENTRE CARACTERÍSTICAS SÓCIO-COMPORTAMENTAIS E A PRESENÇA DE ANORMALIDADES CITOLÓGICAS EM INDIVÍDUOS DOS GRUPOS CONTROLE E HIV

				Valor de p			
	NILM Controle (n=47)	NILM HIV (n=37)	ANC HIV (n=11)	NILM Controle vs. NILM HIV	NILM Controle vs. ANC HIV	NILM HIV vs. ANC HIV	NILM (Controle e HIV) vs. ANC
Idade (Média/DP)	41,3 ± 15,0	41,5 ± 11,0	38,9 ± 9,3				
Sexo (n)							
- Masculino	13 (27,7)	22 (59,5)	4 (36,4)	0,003*	0,568	0,177	0,737
- Feminino	34 (72,3)	15 (40,5)	7 (63,6)	0,003*	0,568	0,177	0,737
Tem companheiro fixo [n(%)]	25 (53,2)	11 (29,7)	2 (18,2)	0,031*	0,036*	0,449	0,116
Tabagismo [n(%)]	8 (17,0)	21 (56,8)	6 (54,5)	0,000*	0,009*	0,897	0,196
Alcoolismo [n(%)]	4 (8,5)	11 (29,7)	4 (36,3)	0,012*	0,016*	0,677	0,149
Sexo anal [n(%)]	10 (21,3)	11 (29,7)	3 (27,3)	0,374	0,668	0,875	0,870
N° parceiros [n(%)]							
- 1 a 15	42 (89,4)	23 (62,2)	6 (54,5)	0,003*	0,006*	0,650	0,101
- Mais de 15	5 (10,6)	13 (35,1)	5 (45,5)	0,007*	0,006*	0,535	0,080
- Não respondeu	-	1 (2,7)	-				
DST [n(%)]	2 (4,3)	17 (45,9)	4 (36,3)	0,000*	0,002*	0,574	0,317
- HPV	2 (4,3)	4 (10,8)	2 (18,2)	0,247	0,101	0,516	0,215
Trânsito intestinal [n(%)]							
Mais de uma evacuação ao dia	9 (19,1)	1 (2,7)	-	0,021*			
Uma evacuação ao dia	15 (21,9)	16 (43,3)	5 (45,5)	0,285	0,395	0,897	0,583
Evacuações em dias alternados	17 (36,2)	8 (21,6)	4 (36,3)	0,148	0,990	0,322	0,655
Menos de 3 evacuações na semana	6 (12,8)	12 (32,4)	2 (18,2)	0,029*	0,639	0,361	0,804
Consistência das fezes [n(%)]							
Normal	32 (68,1)	21 (56,8)	5 (45,5)	0,285	0,160	0,509	0,259
Diarréica	7 (14,9)	9 (24,3)	2 (18,2)	0,275	0,786	0,670	0,945
Endurecida	8 (17,0)	7 (18,9)	4 (36,3)	0,822	0,154	0,227	0,149
Sintomas [n(%)]	26 (55,3)	16 (43,3)	8 (72,7)	0,272	0,291	0,086	0,156
- Dor associada à defecação	4 (8,5)	5 (13,5)	1 (9,1)	0,462	0,951	0,697	0,869
- Alteração na forma das fezes	4 (8,5)	-	-	-	-	-	-
- Alteração na frequência das evacuações	7 (14,9)	8 (21,6)	3 (27,3)	0,424	0,328	0,695	0,454
- Alteração na consistência das fezes	9 (19,1)	5 (13,5)	1 (9,1)	0,491	0,427	0,697	0,517
- Sangue nas fezes	3 (6,4)	2 (5,4)	4 (36,3)	0,851	0,006*	0,006*	0,001*
- Hemorroidas	18 (38,3)	7 (18,9)	5 (45,5)	0,054	0,662	0,074	0,292
- Sensação de evacuação incompleta	9 (19,1)	3 (8,1)	2 (18,2)	0,151	0,941	0,337	0,732

NOTA: NILM – Negativo para lesão intraepitelial ou malignidade; ANC – Anormalidades citológicas. Anormalidades citológicas incluem todas as classificações diferentes de NILM.* Diferença significativa (p < 0,05).

6 DISCUSSÃO

O diagnóstico precoce de doenças, principalmente o câncer, oferece possibilidades de resultados concretos na vida dos pacientes, tanto no aumento das possibilidades de cura, quanto na qualidade de vida. Assim, estudos visando o desenvolvimento e o aprimoramento de metodologias para rastreamento de doenças são bastante interessantes para os sistemas públicos de saúde (DA SILVA, 2014).

A eleição do tema “rastreamento das lesões precursoras do câncer do canal anal” ocorreu por se observar aumento considerável desse câncer em um determinado grupo populacional considerado de risco (DARRAGH e WINKLER, 2011). Para tanto, julgou-se adequada a escolha de indivíduos internados portadores de HIV/AIDS. Entretanto, a literatura é controversa quanto ao seguimento, rastreamento e tratamento das lesões anais (CHIAO *et al.*, 2005; GLYNNE-JONES *et al.*, 2014). A semelhança existente entre o câncer anal e o de colo de útero, tanto histologicamente como anatomicamente, vem incentivando tentativas de rastreamento precoce das neoplasias anais utilizando-se a citologia (FRIEDLANDER *et al.*, 2004).

Em diversos estudos, tem-se descrito a técnica de citologia em meio líquido como um aperfeiçoamento da citologia convencional, no que diz respeito à qualidade de amostras cervicais. Relata-se que, com a citologia em meio líquido, pode-se diminuir o número de amostras insatisfatórias e de resultados equivocados e, ainda, com o material coletado é possível realizar-se testes adicionais, como os de biologia molecular, para detecção do HPV (HUTCHINSON *et al.*, 1999; DOYLE *et al.*, 2006; ZHU *et al.*, 2007).

Desta forma, considerou-se na presente pesquisa comparar o exame citológico convencional e em meio líquido, para a detecção de lesões anais, procurando-se estabelecer a sua eficácia para auxiliar no rastreamento de lesões anais, bem como avaliar a melhor forma de aplicação desses exames.

6.1 DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

No presente estudo, a amostra do grupo controle apresentou maior prevalência de indivíduos do sexo feminino (67,3%). A baixa adesão de homens no grupo controle pode ser justificada pela resistência e constrangimento ao exame que, assim como o exame de toque retal, ainda é considerado por muitos como uma violação à masculinidade. É importante levantar esse aspecto preconceituoso quanto à masculinidade na saúde do homem, pois a resistência ao exame citológico pode levar ao comprometimento dos benefícios do rastreamento do câncer anal, à semelhança do que ocorre com o câncer de próstata (GOMES, 2003; GOMES *et al.*, 2008).

O grupo HIV apresentou uma prevalência ligeiramente maior do sexo masculino (56,0%), comparado ao sexo feminino. É possível que isto ocorra porque existe maior procura pelo rastreamento do câncer anal em homens que apresentam fatores de risco para este tipo de câncer, como a infecção pelo HIV (D'SOUZA *et al.*, 2008; REED *et al.*, 2010). Em estudos anteriores sobre citologia anal, também se observou prevalências maiores de indivíduos do sexo masculino entre pacientes HIV positivos (CONLEY *et al.*, 2010; PATARAPADUNGKIT *et al.*, 2012).

As idades médias foram semelhantes às encontradas por outros autores em estudos de citologia anal. Conley e colaboradores (2010) encontraram uma faixa etária média de 41 anos; Patarapadungkit e colaboradores (2012), de 39 anos; e Phanuphak e colaboradores (2013), de 34 anos.

6.2 HÁBITOS E FATORES DE RISCO

Com relação à presença de fatores de risco, 56% dos pacientes do grupo HIV e 17% do grupo controle afirmaram ser tabagistas; 32% e 10%, respectivamente, relataram história de alcoolismo; e 28% e 4%, respectivamente, haviam feito uso de algum tipo de droga ilícita. No estudo de Guimarães *et al.*

(2011), 36% dos pacientes HIV positivos relataram ser tabagistas; 60%, etilistas; e, 54%, fizeram uso prévio de drogas ilícitas. No estudo de Melo *et al.* (2014), 66% eram tabagistas; 58% etilistas; e 53% fizeram uso prévio de drogas ilícitas.

No presente estudo, 40% do grupo HIV relatou história prévia de DST, como mostra a Tabela 2. Em estudos anteriores, aproximadamente 70% dos indivíduos HIV positivos relataram história prévia de DST (GUIMARÃES *et al.*, 2011; MELO *et al.*, 2014).

Neste estudo, apesar de ter sido encontrado número significativamente maior de indivíduos tabagistas e com história de alcoolismo e DST no grupo HIV, não foi observada relação entre estes fatores e a presença de lesões anais (Tabela 10). A associação significativa destes fatores ao se comparar resultados NILM do grupo controle e anormalidades citológicas no grupo HIV se deve, possivelmente, às diferenças nos comportamentos de risco encontradas entre os grupos, em geral. Indivíduos HIV positivos frequentemente apresentam estilos de vida que envolvem maior exposição a outros cofatores potenciais na carcinogênese induzida pelo HPV (GRULICH *et al.*, 2007). No entanto, não se pode excluir a possibilidade da influência do tabagismo, alcoolismo e uso de drogas ilícitas sobre o desenvolvimento de lesões intraepiteliais anais.

Dados da literatura são contraditórios quanto à relação entre o uso do tabaco e o câncer anal. Gimenez *et al.* (2011) e Chin-Hong *et al.* (2005) não encontraram qualquer associação entre tabagismo e a presença de lesões intraepiteliais anais. Contrariamente, Tseng *et al.* (2003) e Daling *et al.* (2004) relataram associação entre tabagismo e câncer anal.

O papel do uso de drogas alucinógenas na patogênese das lesões intraepiteliais anais também não é claro. Gimenez *et al.* (2011) não encontraram significância estatística entre a presença de lesões e dependência de drogas alucinógenas; enquanto Chin-Hong *et al.* (2005) encontraram evidências para a associação independente do uso de drogas com o risco de lesões anais. Acredita-se que o uso de tais substâncias pode ser indicativo da seleção de parceiros ou para comportamentos que aumentam o risco para o desenvolvimento das lesões anais (CHIN-HONG *et al.*, 2005).

Em relação à prática de coito anal receptivo, nossos dados mostraram que 21,2% dos participantes do grupo controle e 26%, do grupo HIV, relataram que realizavam essa prática. Comparada com estudos anteriores, a frequência de participantes que praticam sexo anal receptiva foi baixa. Conley *et al.* (2010) mostraram que 67% do total de participantes da sua pesquisa praticavam sexo anal receptivo e, entre os homens, a frequência era de aproximadamente 80%. Guimarães *et al.* (2011) revelaram que 77,1% dos homens praticavam sexo com outros homens, e 54,8% haviam praticado intercurso anal receptivo nos 12 meses anteriores à pesquisa. Enquanto isto, no estudo de Frisch *et al.* (1997) a maioria dos homens e mulheres com câncer anal também não praticavam sexo anal.

A prática do sexo anal receptivo foi correlacionada, em estudos anteriores, tanto com a presença de lesões intraepiteliais anais, bem como com a presença de infecção pelo HPV (FRISCH *et al.*, 1997; CONLEY *et al.*, 2010; GUIMARÃES *et al.*, 2011). A história de intercurso anal receptivo é considerada um dos principais fatores de risco associados à infecção pelo HPV (MACHALEK *et al.*, 2012). Porém, em alguns estudos tem sido mostrado que o intercurso anal não é fator necessário para infecção anal pelo HPV e, conseqüentemente, para o desenvolvimento de lesões anais (COUTLÉE *et al.*, 2012). A incidência de HPV de alto risco na região anal de mulheres e homens heterossexuais varia de 5 a 20%. A presença do HPV em pessoas que nunca praticaram sexo anal receptivo pode ser justificada pela utilização do estímulo anal digital, com transferência do HPV da região genital para região anal da própria pessoa ou de seu parceiro (GRULICH *et al.*, 2012).

Em estudo anterior, foram encontradas fortes associações entre o câncer anal e a promiscuidade heterossexual. Grande número de parceiros sexuais ao longo da vida, início precoce da atividade sexual, intercurso anal receptivo, estado civil de solteiro ou divorciado, uma variedade de doenças sexualmente transmissíveis e a promiscuidade sexual do parceiro são todos associados significativamente a um maior risco de câncer anal (FRISCH *et al.*, 1997). O comportamento sexual de maior risco dos indivíduos do grupo HIV no presente estudo, observado pelo maior número de parceiros ao longo da vida (Gráfico 4) e menor número de indivíduos com parceiro fixo (Tabela 1), poderia então estar contribuindo para a ocorrência de anormalidades citológicas neste grupo. Já foi

demonstrado também que a exposição a vários tipos de HPV é um fator de risco real para o aumento da incidência de lesões anais observadas nesses pacientes (GIMENEZ *et al.*, 2011).

6.3 DADOS CLÍNICOS RELEVANTES E USO DA TARV

A terapia antirretroviral é bem difundida em todo o mundo e a maioria dos pacientes com AIDS tem boa adesão a esse tratamento. Em nosso estudo, 64% dos pacientes fazia uso dessas medicações. Guimarães *et al.* (2011), e Conley *et al.* (2010), também observaram que 90% e 78% dos pacientes que estudaram, respectivamente, faziam uso da terapia antirretroviral.

Em dois estudos anteriores, não foi observada nenhuma correlação entre o uso de TARV e a ocorrência de lesões intraepiteliais anais (ABRAMOWITZ *et al.*, 2007; GIMENEZ *et al.*, 2011). Por outro lado, Piketty *et al.* (2004) e Palefsky *et al.* (2001a) relataram elevada prevalência de lesões intraepiteliais anais em pacientes em terapia, o que sugere que a restauração da imunidade pela TARV não está associada com a diminuição da prevalência da infecção por HPV, e os pacientes HIV positivos permanecem em risco para desenvolvimento de carcinoma anal. No presente estudo, observou-se maior uso de terapia antirretroviral entre indivíduos com resultado citológico positivo, em comparação a indivíduos HIV positivos com resultado NILM ($p=0,048$). Entretanto, deve-se considerar a limitação da casuística de casos positivos.

Ainda, no estudo de Gimenez *et al.* (2011), não foi observada associação significativa entre lesão intraepitelial escamosa anal e a presença de doenças anais benignas (como as hemorroidas). Porém, em estudos anteriores houve relação significativa entre câncer anal e a presença de hemorróidas (FRISCH *et al.*, 1994; TSENG *et al.*, 2003). Frisch *et al.* (1994), apesar de terem notado essa associação, não apoiam a visão de que lesões anais benignas causem câncer anal. Enquanto isso, Tseng *et al.* (2003) acreditam que hemorroidas de longa duração podem agir como doenças inflamatórias crônicas, que podem ter a capacidade de evoluir para

carcinomas de células escamosas. Em outro estudo, analisando-se o risco relativo para HSIL, foi encontrado menor risco associado à presença de hemorroidas, embora os autores não tenham reconhecido nenhum mecanismo para este efeito protetor das hemorroidas (PALEFSKY *et al.*, 1998b). No presente estudo, não observamos associação entre relatos de presença de hemorroidas e resultados citológicos alterados (Tabela 10). De fato, o único sinal ou sintoma relatado associado a resultado citológico anormal foi a presença de sangue nas fezes, um sinal comumente associado ao câncer anal.

Não houve associação entre relatos de intolerância à lactose e ao glúten e alterações na avaliação do trato gastrointestinal e com presença de anormalidades citológicas (resultado omitido).

Com relação à avaliação do trânsito intestinal, maior número de indivíduos HIV positivos relatou problemas de constipação (Tabela 3), porém, não houve associação entre este dado e a presença de anormalidades citológicas (Tabela 10). Esta alteração do trânsito intestinal possivelmente está relacionada aos tratamentos e períodos de internação aos quais os pacientes são submetidos. Relatos sobre a consistência das fezes foi semelhante entre os grupos e também não foi associado à presença de anormalidades citológicas.

6.4 CONCORDÂNCIA ENTRE OS MÉTODOS CITOLÓGICOS E DE COLETA

Pelo fato da citologia cervical ter sido padronizada e empregada com muita precedência em relação à citologia anal, há uma tendência natural de se supor que as observações feitas e conclusões retiradas para citologia cervical, também serão válidas para citologia anal. No entanto, como tem sido sugerido por outros autores (FRIEDLANDER *et al.*, 2004; WALTERS *et al.*, 2005), nós também notamos algumas diferenças entre as apresentações citológicas de materiais anais e cervicais.

6.4.1 Adequação das Amostras Segundo as Metodologias Empregadas

A presença excessiva de material fecal, inflamação e bactérias, além da má preservação e da presença de artefatos de secagem, podem contribuir para problemas de observação de células anormais em amostras anais. Estes fatores tendem a ser mais prevalentes em esfregaços convencionais e, assim, a utilização da técnica em meio líquido poderia contribuir para diminuir a quantidade de resultados falso-negativos (SHERMAN *et al.*, 1995; DARRAGH *et al.*, 1997).

No presente estudo, comparando-se a adequabilidade das lâminas preparadas por CML e CC (Gráfico 6), observamos melhora da observação da estrutura da cromatina e diminuição do número de lâminas obscurecidas por fezes nas lâminas preparadas por CML. Sugere-se que a presença do material fecal nas amostras convencionais possa ter prejudicado a visualização da estrutura da cromatina, justificando assim a vantagem da citologia em meio líquido com relação a este fator de adequação. Nos quesitos coloração, fixação, presença de artefatos, celularidade, formato e sobreposição celular, não foram notadas diferenças de interpretação entre as duas metodologias avaliadas.

Apesar de não ter havido diferenças específicas no formato celular e na adequação das amostras, na CML foi observado maior número de amostras com pleomorfismo celular comparando-se com a CC (Tabela 6). Esta diferença entre as duas metodologias pode ter sido causada pelo preparo das amostras em meio líquido, ou seja, pela manipulação das células, em especial durante a centrifugação.

Em estudos anteriores, demonstrou-se índices de insatisfatoriedade de citologia anal de 17 a 24% das amostras para a técnica convencional e de 7 a 17% para citologia em meio líquido (SHERMAN *et al.*, 1995; DARRAGH *et al.*, 1997; ARAIN *et al.*, 2005). Neste estudo encontramos índices de 4% para o grupo HIV para as duas metodologias empregadas e, no grupo controle, de 19,2% para citologia convencional e de 21,2% para citologia em meio líquido.

As diferenças entre os grupos, no que se refere à insatisfatoriedade do material, poderia ser explicada pelo fato de que, no grupo controle, as amostras foram obtidas por autocoleta e, no grupo HIV, por profissional treinado. No entanto,

isso não deve afetar a eficácia do exame citológico obtido através da autocoleta, porque os pacientes podem ser adequadamente treinados para a coleta e, em casos de amostras inadequadas, informados da necessidade de repetir o teste. É importante salientar que o sucesso da autocoleta está diretamente relacionado ao conhecimento do participante de como esta coleta deve ser realizada. Amostras coletadas em um segundo momento, após nova explanação aos participantes, foram todas satisfatórias para avaliação.

Em estudos anteriores, também foram observadas diferenças em relação ao número de amostras insatisfatórias coletadas por profissional (8% e 1%, respectivamente) e por autocoleta (17% e 9%, respectivamente) (CRANSTON *et al.*, 2004; LAMPINEN *et al.*, 2006a).

6.4.2 Achados Citológicos Segundo as Metodologias Empregadas

Com relação à presença dos tipos celulares (Gráfico 7), comparando-se a CC e CML apenas foi observada diferença significativa para as hemácias que, no grupo HIV, foram vistas em 5 amostras convencionais e em nenhuma amostra em meio líquido. Essa ausência de hemácias em amostras de CML, também foi relatada na citologia cervical e foi considerada uma vantagem do método em meio líquido (PEREIRA *et al.*, 2003). Porém, na citologia anal, a não observação das hemácias pode prejudicar a avaliação da lesão anal, podendo representar uma desvantagem para a CML em relação à CC.

Friedlander *et al.* (2004) encontraram células colunares em 92% das amostras de CML e em 33% dos esfregaços convencionais. Porém, o número de amostras preparadas pela citologia convencional era limitado. Sherman *et al.* (1995) também encontraram duas vezes mais células glandulares em amostras de CML do que em amostras convencionais.

No presente estudo, células colunares foram observadas em 32,7% das amostras do grupo controle pela citologia convencional e em 28,8% pela CML. Para o grupo HIV foram observadas em 48% e 36%, respectivamente. Não houve

diferença estatisticamente significativa entre a CML e a CC, e também não houve diferença entre os grupos controle e HIV com relação às células colunares, demonstrando que tanto a coleta realizada por profissional treinado, como a auto-coleta, preparadas por CC e CML, foram igualmente eficientes na amostragem da zona de transição anal.

As células metaplásicas e os histiócitos foram mais observados no grupo HIV, como demonstrado no Gráfico 7. A presença de maior número de células metaplásicas em amostras do grupo HIV pode ser resultado da coleta realizada por profissional, ou ainda devido à tendência de processo inflamatório nestes pacientes, que também justificaria a presença de mais amostras com histiócitos neste grupo. Com relação à presença de outros tipos celulares, não foram observadas diferenças significativas entre as metodologias de coleta empregadas.

Patarapadungkit *et al.* (2012) encontraram células escamosas metaplásicas/colunares em 67,9% dos esfregaços, sendo que estas células estavam presentes em 60,5% dos esfregaços classificados como NILM; 100%, dos classificados como ASC-US; e, 71,42% daqueles com lesões intraepiteliais. A presença destas células foi correlacionada estatisticamente com a chance de detectar lesões anais. Darragh *et al.* (1997) mostraram a importância da presença destas células, demonstrando que amostras contendo componentes da zona de transição detectam NIA cinco vezes mais do que aquelas que não o têm.

Assim como no estudo de Patarapadungkit *et al.* (2012), também neste trabalho se observou a presença de células escamosas anucleadas em quase todas as amostras, o que poderia obscurecer e dificultar a observação de células anormais.

Na semi-quantificação das células (Gráficos 8 e 9), verificou-se menor quantidade de células escamosas superficiais, intermediárias, escamas anucleadas e polimorfonucleares em amostras de CML, quando comparadas com as de CC. Esta diferença na quantidade de células foi possivelmente causada pela utilização do mesmo *swab* usado na confecção do esfregaço convencional, contendo as células remanescentes, para a realização da citologia em meio líquido.

Com relação à presença de alterações celulares (Tabelas 5 e 6), houve diferença significativa entre os grupos controle e HIV quanto à presença de

hipercromasia, cariomegalia, grânulos querato-hialinos, edema nuclear e binucleação. Outras alterações não apresentaram diferenças significativas em suas frequências para os dois grupos, ou então, apresentaram diferença apenas para uma das metodologias utilizadas.

Patarapadungkit *et al.* (2012) observaram a presença de células paraqueratóticas, halos perinucleares e células bi e multinucleadas com frequência 3 vezes maior em amostras com anormalidades celulares do que em amostras classificadas como NILM, e concluíram que estas alterações podem ser indicadores úteis da presença de células anormais. No estudo de Friedlander *et al.* (2004), células paraqueratóticas, embora frequentemente observadas, não foram úteis para a confirmação de lesões anais. Células queratinizadas atípicas são geralmente associadas com suspeita para lesão intraepitelial ou carcinoma em amostras cérvico-vaginais. No entanto, em amostras anais, tais células devem ser interpretadas com cuidado.

Ainda segundo Patarapadungkit *et al.* (2012), coilócitos foram observados em 76,19% de amostras com LSIL e 50% naquelas com HSIL. Friedlander *et al.* (2004) encontraram coilócitos em 21% das amostras positivas e Darragh e colaboradores (1997) não observaram coilócitos, nem mesmo nas amostras com NIA. No presente estudo observamos o efeito citopático do HPV em 2 amostras do grupo HIV, no universo de 11 amostras com anormalidades celulares.

Neste trabalho, os critérios morfológicos adotados são concordantes com os de Sherman *et al.* (1995) e Friedlander *et al.* (2004), de que a interpretação de lesões anais, ou seja, de positividade para anormalidades celulares deve se basear na presença de células não queratinizadas, com relações N/C alteradas e anormalidades nucleares, como hipercromasia, cromatina grosseira e contornos nucleares irregulares.

6.4.3 Microrganismos

Na avaliação citológica de amostras anais, pôde-se observar a presença de microrganismos como bactérias, fungos, alterações citopáticas dos vírus Herpes simples e HPV e ainda indicar a presença de protozoários (Gráfico 10).

Diversos tipos de microrganismos estão presentes no trato intestinal, sendo as bactérias predominantes, principalmente bactérias anaeróbias. Entretanto, fungos também podem estar normalmente habitando o trato gastrointestinal de mamíferos, sendo os dos gêneros *Candida*, *Saccharomyces* e *Cladosporium* particularmente comuns. Alguns protozoários como *Trichomonas hominis*, *Entamoeba hartmanni*, *Endolimax nana* e *Iodamoeba butschlii*, podem ocorrer como comensais (SAXENA e AWASTHI, 2003; BARBOSA *et al.*, 2010; UNDERHILL e ILIEV, 2014).

As duas metodologias empregadas para análise citológica foram igualmente eficazes em demonstrar a presença dos mesmos. Além disso, não foram observadas diferenças entre os grupos estudados quanto à presença de microrganismos (Gráfico 10).

Assim como Darragh e Winkler (2012), concluiu-se no presente estudo que, apesar da citologia anal indicar a presença de cocos, bacilos, protozoários, parasitas, hifas e estruturas leveduriformes, não deve ser considerada uma ferramenta específica de diagnóstico de infecções que acometem a região anal.

6.4.4 Resultados da Análise Citológica

O desempenho da técnica de citologia em meio líquido (CML) tem sido avaliado em vários estudos. Para citologia cervical, foi demonstrado, em vários estudos, que a CML proporciona maior ou, ao menos equivalente precisão em comparação com a citologia convencional. A concordância entre os dois métodos encontrada na literatura é de aproximadamente 90%. Também foi demonstrado

menor número de casos insatisfatórios pela CML quando comparada à CC (HUTCHINSON *et al.*, 1999; ABULAFIA *et al.*, 2003; SCHLEDERMANN *et al.*, 2006; BEERMAN *et al.*, 2009; COSTA *et al.*, 2015). Entretanto, poucos estudos foram adequadamente projetados para comparar esses testes de forma válida e um estudo de revisão sistemática revelou que não há evidências de que a CML reduza o número de lâminas insatisfatórias ou detecte mais lesões de alto grau do que a citologia convencional (DAVEY *et al.*, 2006).

Estudos de comparação da utilização de técnicas de citologia em meio líquido e citologia convencional no rastreamento de lesões anais são mais limitados. Phanuphak *et al.* (2013) revelaram semelhança entre os achados citológicos na CC e CML, mostrando concordância em 62,4% dos casos. Darragh *et al.* (1997) também demonstraram concordância no diagnóstico entre os métodos citológicos em 83,1% dos casos; e Maia *et al.* (2014), em 84,8%. De acordo com alguns autores, a CML, além de mostrar resultados semelhantes em comparação com esfregaços convencionais para citologia anal, proporcionou benefícios adicionais na redução da contaminação bacteriana e fecal (DARRAGH *et al.*, 1997; PHANUPHAK *et al.*, 2013; MAIA *et al.*, 2014). Enquanto isso, para Sherman *et al.* (1995) e Friedlander *et al.* (2004), a detecção de anormalidades é mais eficaz utilizando-se citologia em meio líquido do que citologia convencional. Neste estudo obtivemos uma concordância entre os resultados da CML e CC de 100% dos casos do grupo controle e em 91,7% dos casos do grupo HIV (Tabela 8).

Dentre as 4 amostras do grupo HIV em que houve diferença na classificação entre a CC e CML, embora se tenha observado algumas variações em relação ao grau de positividade, não foi observada qualquer tendência a maior ou menor positividade para qualquer um dos dois tipos de metodologia empregados (Tabela 9).

Comparando-se a sensibilidade da citologia de acordo com o método utilizado para obtenção das amostras, Cranston *et al.* (2004) encontraram sensibilidades semelhantes entre os dois métodos de coleta, e os resultados citológicos não diferiram entre as amostras, indicando que amostras de citologia anal autocoletadas, quando adequadas para a interpretação, têm sensibilidade semelhante à dos espécimes coletados por profissionais experientes. Enquanto isso,

no estudo de Lampinen *et al.* (2006b), apesar da presença de anormalidades citológicas ter sido semelhante entre as amostras obtidas pelas duas metodologias, as interpretações diferiam em muitos casos. No presente estudo, não foi possível fazer esta análise, visto que só realizamos um tipo de coleta para cada grupo.

Com relação à frequência da presença de alterações citológicas, encontramos positividade em aproximadamente 20% das amostras do grupo HIV e em nenhuma amostra do grupo controle (Tabela 7). Resultados semelhantes foram obtidos em um estudo realizado em homens homossexuais, no qual a citologia anal apresentou-se alterada em 29% dos pacientes HIV positivos e em nenhum paciente do grupo HIV negativo (LOWHAGEN *et al.*, 1999). Patarapadungkit *et al.* (2012) encontraram resultados alterados em 26% dos seus pacientes HIV positivos, utilizando CML. Em outros estudos realizados em pacientes HIV positivos, a citologia anal resultou anormal em 39 a 67% da população avaliada. Porém, em alguns estudos foram selecionados pacientes que já apresentavam alguma suspeita clínica, elevando o número de NIA nestes estudos (PALEFSKY *et al.*, 1997b; ANDERSON *et al.*, 2008; CALORE *et al.*, 2010).

Acredita-se que a maior positividade em amostras de pacientes HIV positivos reflete a maior prevalência de NIA observada nesses indivíduos, que estão mais propensos a desenvolver lesões mais graves de NIA, o que potencialmente, pode aumentar a sensibilidade da citologia anal nos mesmos em comparação com indivíduos HIV negativos. Além disso, em estudos anteriores, também foi observada essa diferença de positividade em amostras de indivíduos HIV positivos e HIV negativos, tanto para amostras coletadas por profissionais, como para amostras autocoletadas (CRANSTON *et al.*, 2004; CHIN-HONG *et al.*, 2008).

Apesar da concordância entre os métodos de citologia convencional e em meio líquido ter sido quase perfeita, é necessário reconhecer que houve limitações em relação ao tamanho da amostra, com apenas 11 casos com interpretação de anormalidades celulares. Além disso, este estudo não permite tirar conclusões definitivas sobre a sensibilidade e a especificidade da citologia anal para a detecção de lesões intraepiteliais, uma vez que não se contou com resultados confirmatórios das lesões, como os obtidos por biópsia.

6.5 RASTREAMENTO E CONTROLE DE CÂNCER ANAL E PERSPECTIVAS

Existem vários obstáculos à implementação de um programa de rastreamento por citologia anal em populações de risco. Em primeiro lugar, faltam estudos documentando que o tratamento da NIA reduz a incidência de câncer anal. A realização de tais estudos é dificultada pelo grande número de voluntários necessários, dificuldades na montagem de um grupo controle adequado e o longo período de acompanhamento necessário para avaliar o impacto sobre a incidência do câncer (CRANSTON *et al.*, 2004; CHIAO *et al.*, 2006).

Em segundo lugar, poucos estudos avaliando estratégias de tratamento para displasia anal de alto grau foram realizados e demonstram que os tratamentos atuais têm, na melhor das hipóteses, uma eficácia moderada (CHIAO *et al.*, 2006).

Em terceiro lugar, poucos estudos foram realizados para avaliar a história natural da progressão de neoplasia intraepitelial anal para câncer anal (PALEFSKY *et al.*, 1998b; CHIAO *et al.*, 2006; DE POKOMANDY *et al.*, 2011; TONG *et al.*, 2013). Apesar de ter sido demonstrado por Palefsky *et al.* (1998b) que lesões de baixo grau evoluem para lesões de alto grau em 52% dos homens homo ou bissexuais infectados pelo HIV no prazo de 4 anos após o diagnóstico inicial, Tong e colaboradores (2013) demonstraram que 23,8% das lesões de alto grau regredem espontaneamente, e apenas 1,2% das lesões de alto grau progridem para câncer anal.

Outros obstáculos incluem a escassez de médicos treinados na coleta de amostras de citologia anal, relutância de alguns clínicos para abordar a questão da NIA com seus pacientes, bem como os sentimentos dos pacientes de vergonha e medo de um possível desconforto associado com a coleta de espécimes anais (CRANSTON *et al.*, 2004; CHIN-HONG *et al.*, 2008).

Existe também uma carência de dados sólidos relacionados a custo-efetividade do rastreamento do câncer anal, o que leva à necessidade de estudos longitudinais direcionados ao tema e necessidade de padronização de métodos efetivos para este tipo de rastreamento. Assim sendo, diminuir os custos de realização do exame pode ser fator determinante para a disseminação deste método

diagnóstico em países como o Brasil, em que a priorização de campanhas de combate ao câncer tenha que ser consolidada considerando principalmente fatores econômicos (COSTA E SILVA *et al.*, 2005). A utilização da citologia convencional é mais acessível economicamente em relação à citologia em meio líquido, em especial para programas de rastreamento populacional, sendo o custo da CML quase duas vezes maior que da CC (CAETANO *et al.*, 2006; DA FONSECA *et al.*, 2013). Esta realidade pode ser fator essencial para que a citologia anal seja adotada de forma rotineira na prevenção do câncer anal em populações de risco em nosso país.

No entanto, há que se considerar que a incidência relativamente baixa do câncer anal na população em geral pode não justificar uma possível implantação do exame citológico anal em rastreamentos populacionais, mas que justifica sim o seu rastreamento em populações com risco aumentado, como aquelas de portadores do HIV. Os resultados obtidos neste e em outros trabalhos citados acima apontam para a maior incidência de lesões intraepiteliais em pacientes HIV positivos.

Há necessidade de mais estudos a respeito da prevalência de câncer anal na população, custo-benefício da implementação de tais exames no rastreamento de câncer anal em populações de risco do Brasil, efetividade do exame citológico para o seu diagnóstico e escolha da metodologia mais adequada a ser empregada em estudos populacionais.

7 CONCLUSÃO

A partir da análise comparativa entre o exame citológico anal realizado pelas metodologias convencional e em meio líquido, em indivíduos portadores e não portadores do HIV, pode-se concluir que:

- a) Indivíduos do sexo masculino aceitaram a realização do exame citológico anal com maior facilidade quando apresentavam algum fator de risco para o desenvolvimento do câncer anal, como, por exemplo, a infecção pelo HIV.
- b) Indivíduos HIV positivos apresentaram com maior frequência outros fatores de risco que auxiliam no desenvolvimento de carcinomas, como tabagismo, história de alcoolismo, uso de drogas ilícitas, maior número de parceiros sexuais ao longo da vida e história de doenças sexualmente transmissíveis.
- c) Dentre as alterações gastrintestinais estudadas, apenas a presença de sangue nas fezes teve associação com a ocorrência de anormalidades celulares.
- d) Amostras autocoletadas apresentaram maior taxa de insatisfatoriedade, ocasionadas principalmente pela baixa celularidade. Entretanto, quando satisfatórias, apresentaram qualidade semelhante às amostras coletadas por profissional treinado.
- e) Não houve diferença significativa no número de amostras insatisfatórias ao se comparar citologia em meio líquido e citologia convencional. Porém, amostras de CML apresentaram melhor qualidade quanto à observação da estrutura da cromatina e menos obscurecimento por material fecal.
- f) A presença dos diferentes tipos celulares foi semelhante entre as amostras obtidas pelas duas metodologias utilizadas, com exceção das hemácias, que não foram observadas na CML.

- g) A positividade foi semelhante para amostras preparadas por citologia convencional e em meio líquido. Houve concordância quase perfeita (Kappa) entre os dois métodos, com relação aos achados citológicos.

Em resumo, embora o número de casos no presente estudo seja relativamente limitado, observou-se que a citologia anal, tanto convencional quanto em meio líquido, podem ser utilizadas no rastreamento das lesões precursoras do câncer anal. É importante ressaltar a necessidade do estímulo no treinamento dos citologistas e patologistas na avaliação das alterações citológicas anais, fazendo com que o protocolo para rastreamento das lesões precursoras do câncer anal deixe de ser apenas empregado em pesquisas e se torne rotina difundida entre os diversos centros de referência do país.

REFERÊNCIAS

ABRAMOWITZ, L.; BENABDERRAHMANE, D.; RAVAUD, P.; WALKER, F.; RIOUX, C.; JESTIN, C.; BOUVET, E.; SOULÉ, J.-C.; LEPORT, C.; DUVAL, X. Anal squamous intraepithelial lesions and condyloma in HIV-infected heterosexual men, homosexual men and women: prevalence and associated factors. **AIDS**, v. 21, n. 11, p. 1457-1465, 2007.

ABULAFIA, O.; PEZZULLO, J. C.; SHERER, D. M. Performance of ThinPrep liquid-based cervical cytology in comparison with conventionally prepared Papanicolaou smears: a quantitative survey. **Gynecologic Oncology**, v. 90, n. 1, p. 137-144, 2003.

ACKERMAN, L. V.; DEL REGATO, J. A. Cancer of the anus. In: (Ed.). **Cancer: Diagnosis, Treatment and Prognosis**. 3.ed. Saint Louis: The C. V. Mosby Company, 1962. p.697-705.

ANDERSON, J.; HOY, J.; HILLMAN, R.; GITTLESON, C.; HARTEL, G.; MEDLEY, G.; BASSER, R. Abnormal anal cytology in high-risk human papilloma virus infection in HIV-infected Australians. **Sexually Transmitted Infections**, v. 84, n. 2, p. 94-96, 2008.

ARAIN, S.; WALTS, A. E.; THOMAS, P.; BOSE, S. The anal Pap smear: cytomorphology of squamous intraepithelial lesions. **Cytojournal**, v. 2, n. 4, 2005.

BARBOSA, F. H. F.; DOS SANTOS MARTINS, F.; DE LIMA BARBOSA, L. P. J.; NICOLI, J. R. Microbiota indígena do trato gastrointestinal. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 10, n. 1, p. 78-93, 2010.

BEAN, S. M.; CHHIENG, D. C. Anal-rectal cytology: a review. **Diagnostic Cytopathology**, v. 38, n. 7, p. 538-546, 2010.

BECHTOLD, V.; BEARD, P.; RAJ, K. Human papillomavirus type 16 E2 protein has no effect on transcription from episomal viral DNA. **Journal of Virology**, v. 77, n. 3, p. 2021-2028, 2003.

BEERMAN, H.; VAN DORST, E.; KUENEN-BOUMEESTER, V.; HOGENDOORN, P. Superior performance of liquid-based versus conventional cytology in a population-based cervical cancer screening program. **Gynecologic Oncology**, v. 112, n. 3, p. 572-576, 2009.

BERNARD, H.-U. The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses. **Journal of Clinical Virology**, v. 32S, p. S1-S6, 2005.

BERRY, J. M.; PALEFSKY, J. M.; JAY, N.; CHENG, S.-C.; DARRAGH, T. M.; CHIN-HONG, P. V. Performance characteristics of anal cytology and human papillomavirus testing in patients with high-resolution anoscopy-guided biopsy of high-grade anal intraepithelial neoplasia. **Diseases of the Colon & Rectum**, v. 52, n. 2, p. 239-247, 2009.

BIBBO, M. **Comprehensive cytopathology**. 2.ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1997.

BLOHME, I.; BRYNGER, H. Malignant disease in renal transplant patients. **Transplantation**, v. 39, n. 1, p. 23-25, 1985.

BOWER, M.; POWLES, T.; NEWSOM-DAVIS, T.; THIRLWELL, C.; STEBBING, J.; MANDALIA, S.; NELSON, M.; GAZZARD, B. HIV-associated anal cancer: has highly active antiretroviral therapy reduced the incidence or improved the outcome? **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes** v. 37, n. 5, p. 1563-1565, 2004.

BREESE, P. L.; JUDSON, F. N.; PENLEY, K. A.; DOUGLAS JR, J. M. Anal human papillomavirus infection among homosexual and bisexual men: prevalence of type-specific infection and association with human immunodeficiency virus. **Sexually Transmitted Diseases**, v. 22, n. 1, p. 7-14, 1995.

BURD, E. M. Human papillomavirus and cervical cancer. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 16, n. 1, p. 1-17, 2003.

CAETANO, R.; VIANNA, C. M. D. M.; THULER, L. C. S.; GIRIANELLI, V. R. Custoefetividade no diagnóstico precoce do câncer de colo uterino no Brasil. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, v. 16, n. 1, p. 99-118, 2006.

CALORE, E. E.; NADAL, S. R.; MANZIONE, C. R.; HORTA, S. C.; SANTOS, R. R.; NADAL, L. M. Anal cytology in patients with AIDS. **Diagnostic Cytopathology**, v. 38, n. 4, p. 260-263, 2010.

CARDINAL, L. H.; CARBALLO, P.; LORENZO, M. C.; GARCIA, A.; SUZUKI, V.; TATTI, S.; VIGHI, S.; DIAZ, L. B. A six-year experience with anal cytology in women with HPV in the lower genital tract: utility, limitations, and clinical correlation. **Diagnostic Cytopathology**, v. 42, n. 5, p. 396-400, 2014.

CARTER, P.; SHEFFIELD, J.; SHEPHERD, N.; MELCHER, D.; JENKINS, D.; EWINGS, P.; TALBOT, I.; NORTHOVER, J. Interobserver variation in the reporting of the histopathological grading of anal intraepithelial neoplasia. **Journal of Clinical Pathology**, v. 47, n. 11, p. 1032-1034, 1994.

CATAÑO, J.; JARAMILLO, A.; LÓPEZ, M.; DUQUE, M.; BETANCUR, G.; PELÁEZ, L.; CORREA, L.; ESTRADA, S. Prevalencia de cambios en la citología anal de pacientes VIH positivos para y posibles factores de riesgo asociados. **Infectio**, v. 10, n. 4, p. 214-19, 2011.

CAUSSY, D.; GOEDERT, J. J.; PALEFSKY, J.; GONZALES, J.; RABKIN, C. S.; DIGIOIA, R. A.; SANCHEZ, W. C.; GROSSMAN, R. J.; COLCLOUGH, G.; WIKTOR, S. Z. Interaction of human immunodeficiency and papilloma viruses: association with anal epithelial abnormality in homosexual men. **International Journal of Cancer**, v. 46, n. 2, p. 214-219, 1990.

CHATURVEDI, A. K.; MADELEINE, M. M.; BIGGAR, R. J.; ENGELS, E. A. Risk of human papillomavirus-associated cancers among persons with AIDS. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 101, n. 16, p. 1120-1130, 2009.

CHIAO, E. Y.; KROWN, S. E.; STIER, E. A.; SCHRAG, D. A population-based analysis of temporal trends in the incidence of squamous anal canal cancer in relation to the HIV epidemic. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 40, n. 4, p. 451-455, 2005.

CHIAO, E. Y.; GIORDANO, T. P.; PALEFSKY, J. M.; TYRING, S.; EL SERAG, H. Screening HIV-infected individuals for anal cancer precursor lesions: a systematic review. **Clinical Infectious Diseases**, v. 43, n. 2, p. 223-233, 2006.

CHIN-HONG, P. V.; PALEFSKY, J. M. Natural history and clinical management of anal human papillomavirus disease in men and women infected with human

immunodeficiency virus. **Clinical Infectious Diseases**, v. 35, n. 9, p. 1127-1134, 2002.

CHIN-HONG, P. V.; VITTINGHOFF, E.; CRANSTON, R. D.; BROWNE, L.; BUCHBINDER, S.; COLFAX, G.; DA COSTA, M.; DARRAGH, T.; BENET, D. J.; JUDSON, F.; KOBLIN, B.; MAYER, K. H.; PALEFSKY, J. M. Age-related prevalence of anal cancer precursors in homosexual men: the EXPLORE study. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 97, n. 12, p. 896-905, 2005.

CHIN-HONG, P. V.; BERRY, J. M.; CHENG, S.-C.; CATANIA, J. A.; DA COSTA, M.; DARRAGH, T. M.; FISHMAN, F.; JAY, N.; POLLACK, L. M.; PALEFSKY, J. M. Comparison of patient-and clinician-collected anal cytology samples to screen for human papillomavirus-associated anal intraepithelial neoplasia in men who have sex with men. **Annals of Internal Medicine**, v. 149, n. 5, p. 300-306, 2008.

CHINEN, J.; SHEARER, W. T. Molecular virology and immunology of HIV infection. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 110, n. 2, p. 189-198, 2002.

CIBAS, E. S.; DUCATMAN, B. S. **Cytology: diagnostic principles and clinical correlates**. 1.ed. W.B.Saunders Company, 1996.

COCCHI, V.; CARRETTI, D.; FANTI, S.; BALDAZZI, P.; CASOTTI, M. T.; PIAZZI, R.; PROSPERI, L.; MORSELLI-LABATE, A. M. Intralaboratory quality assurance in cervical/vaginal cytology: evaluation of intercytologist diagnostic reproducibility. **Diagnostic Cytopathology**, v. 16, n. 1, p. 87-92, 1997.

COLQUHOUN, P.; NOGUERAS, J. J.; DIPASQUALE, B.; PETRAS, R.; WEXNER, S. D.; WOODHOUSE, S. Interobserver and intraobserver bias exists in the interpretation of anal dysplasia. **Diseases of the Colon & Rectum**, v. 46, n. 10, p. 1332-1336, 2003.

CONLEY, L.; BUSH, T.; DARRAGH, T. M.; PALEFSKY, J. M.; UNGER, E. R.; PATEL, P.; KOJIC, E. M.; CU-UVIN, S.; MARTIN, H.; OVERTON, E. T.; HAMMER, J.; HENRY, K.; VELLOZZI, C.; WOOD, K.; BROOKS, J. T. Factors associated with prevalent abnormal anal cytology in a large cohort of HIV-infected adults in the United States. **Journal of Infectious Diseases**, v. 202, n. 10, p. 1567-1576, 2010.

CORREA, J. C. C. Cáncer anal en la era del VIH: papel de la citología anal. **Iatreia**, v. 17, n. 4, p. 396-403, 2004.

COSTA E SILVA, I. T. D.; SILVA, F. S. G.; GONÇALVES, R. A.; BARROS, A. D.; CABRAL, C. R. B.; GUIMARÃES, E. L. Citologia anal como método de rastreamento para a detecção precoce do câncer anal: esfregaços com algodão hidrófilo são mesmo insatisfatórios? **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 20, n. 1, 2005.

COSTA E SILVA, I. T. D.; DE LIMA FERREIRA, L. C.; SANTOS GIMENEZ, F.; GONÇALVES GUIMARÃES, R. A.; BOTINELLY FUJIMOTO, L.; BARBOSA CABRAL, C. R.; VENTURIM MOZZER, R.; DE SOUZA ATALA, L. High-resolution anoscopy in the diagnosis of anal cancer precursor lesions in renal graft recipients. **Annals of Surgical Oncology**, v. 15, n. 5, p. 1470-1475, 2008.

COSTA, M.; HERÁCLIO, S.; COELHO, A.; ACIOLY, V.; SOUZA, P.; CORREIA, M. Comparison of conventional Papanicolaou cytology samples with liquid-based cervical cytology samples from women in Pernambuco, Brazil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 48, n. 9, p. 831-838, 2015.

COUtlÉE, F.; DE POKOMANDY, A.; FRANCO, E. L. Epidemiology, natural history and risk factors for anal intraepithelial neoplasia. **Sexual Health**, v. 9, n. 6, p. 547-555, 2012.

CRANSTON, R. D.; DARRAGH, T. M.; HOLLY, E. A.; JAY, N.; BERRY, J. M.; DA COSTA, M.; EFIRD, J. T.; PALEFSKY, J. M. Self-collected versus clinician-collected anal cytology specimens to diagnose anal intraepithelial neoplasia in HIV-positive men. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 36, n. 4, p. 915-920, 2004.

CRITCHLOW, C. W.; SURAWICZ, C. M.; HOLMES, K. K.; KUYPERS, J.; DALING, J. R.; HAWES, S. E.; GOLDBAUM, G. M.; SAYER, J.; HURT, C.; DUNPHY, C. Prospective study of high grade anal squamous intraepithelial neoplasia in a cohort of homosexual men: influence of HIV infection, immunosuppression, and human papillomavirus infection. **AIDS**, v. 9, n. 11, p. 1255-1262, 1995.

CZOSKI-MURRAY, C.; KARNON, J.; JONES, R.; SMITH, K.; KINGHORN, G. Cost-effectiveness of screening high-risk HIV-positive men who have sex with men (MSM) and HIV-positive women for anal cancer. **Health Technology Assessment**, v. 14, n. 53, 2010.

D'SOUZA, G.; COOK, R. L.; OSTROW, D.; JOHNSON-HILL, L. M.; WILEY, D.; SILVESTRE, T. Anal cancer screening behaviors and intentions in men who have

sex with men. **Journal of General Internal Medicine**, v. 23, n. 9, p. 1452-1457, 2008.

DA FONSECA, A. J.; MARTIN, C. N. R.; DE LIMA FERREIRA, L. C.; NETO, G. B. Custo-efetividade das estratégias de prevenção primária e secundária do câncer de colo de útero para o Brasil. **Revista Brasileira de Oncologia Clínica**, v. 9, n. 31, p. 11-17, 2013.

DA SILVA, M. A. B. **Desenvolvimento de meio líquido para amostras de exames citológicos**. 110 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

DALING, J. R.; WEISS, N. S.; KLOPFENSTEIN, L. L.; COCHRAN, L. E.; CHOW, W. H.; DAIFUKU, R. Correlates of homosexual behavior and the incidence of anal cancer. **Journal of the American Medical Association (JAMA)**, v. 247, n. 14, p. 1988-1990, 1982.

DALING, J. R.; WEISS, N. S.; HISLOP, T. G.; MADEN, C.; COATES, R. J.; SHERMAN, K. J.; ASHLEY, R. L.; BEAGRIE, M.; RYAN, J. A.; COREY, L. Sexual practices, sexually transmitted diseases, and the incidence of anal cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 317, n. 16, p. 973-977, 1987.

DALING, J. R.; SHERMAN, K. J.; HISLOP, T. G.; MADEN, C.; MANDELSON, M. T.; BECKMANN, A. M.; WEISS, N. S. Cigarette smoking and the risk of anogenital cancer. **American Journal of Epidemiology**, v. 135, n. 2, p. 180-189, 1992.

DALING, J. R.; MADELEINE, M. M.; JOHNSON, L. G.; SCHWARTZ, S. M.; SHERA, K. A.; WURSCHER, M. A.; CARTER, J. J.; PORTER, P. L.; GALLOWAY, D. A.; MCDUGALL, J. K. Human papillomavirus, smoking, and sexual practices in the etiology of anal cancer. **Cancer**, v. 101, n. 2, p. 270-280, 2004.

DARRAGH, T. M.; JAY, N.; TUPKELEWICZ, B. A.; HOGEBOM, C. J.; HOLLY, E. A.; PALEFSKY, J. M. Comparison of conventional cytologic smears and ThinPrep preparations from the anal canal. **Acta Cytologica**, v. 41, n. 4, p. 1167-1170, 1997.

DARRAGH, T. M.; WINKLER, B. Anal cancer and cervical cancer screening: key differences. **Cancer Cytopathology**, v. 119, n. 1, p. 5-19, 2011.

DARRAGH, T. M.; COLGAN, T. J.; COX, J. T.; HELLER, D. S.; HENRY, M. R.; LUFF, R. D.; MCCALMONT, T.; NAYAR, R.; PALEFSKY, J. M.; STOLER, M. H. The lower anogenital squamous terminology standardization project for HPV-associated lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. **Journal of Lower Genital Tract Disease**, v. 16, n. 3, p. 205-242, 2012.

DARRAGH, T. M.; WINKLER, B. Screening for anal neoplasia: anal cytology - sampling, processing and reporting. **Sexual Health**, v. 9, n. 6, p. 556-561, 2012.

DAVEY, E.; BARRATT, A.; IRWIG, L.; CHAN, S. F.; MACASKILL, P.; MANNES, P.; SAVILLE, A. M. Effect of study design and quality on unsatisfactory rates, cytology classifications, and accuracy in liquid-based versus conventional cervical cytology: a systematic review. **The Lancet**, v. 367, n. 9505, p. 122-132, 2006.

DE POKOMANDY, A.; ROULEAU, D.; GHATTAS, G.; TROTTIER, H.; VÉZINA, S.; COTÉ, P.; MACLEOD, J.; ALLAIRE, G.; HADJERES, R.; FRANCO, E. L. HAART and progression to high-grade anal intraepithelial neoplasia in men who have sex with men and are infected with HIV. **Clinical Infectious Diseases**, v. 0, n. 0, p. 1-8, 2011.

DE RUITER, A.; CARTER, P.; KATZ, D.; KOCJAN, G.; WHATRUP, C.; NORTHOVER, J.; MINDEL, A. A comparison between cytology and histology to detect anal intraepithelial neoplasia. **Genitourinary Medicine**, v. 70, n. 1, p. 22-25, 1994.

DE VILLIERS, E. M.; FAUQUET, C.; BROKER, T. R.; BERNARD, H. U.; ZUR HAUSEN, H. Classification of papillomaviruses. **Virology**, v. 324, n. 1, p. 17-27, 2004.

DE VUYST, H.; CLIFFORD, G. M.; NASCIMENTO, M. C.; MADELEINE, M. M.; FRANCESCHI, S. Prevalence and type distribution of human papillomavirus in carcinoma and intraepithelial neoplasia of the vulva, vagina and anus: a meta-analysis. **International Journal of Cancer**, v. 124, n. 7, p. 1626-1636, 2009.

DEEKEN, J. F.; TJEN-A-LOOI, A.; RUDEK, M. A.; OKULIAR, C.; YOUNG, M.; LITTLE, R. F.; DEZUBE, B. J. The rising challenge of non-AIDS-defining cancers in HIV-infected patients. **Clinical Infectious Diseases**, v. 55, n. 9, p. 1228-1235, 2012.

DIAMOND, C.; TAYLOR, T. H.; ABOUMRAD, T.; BRINGMAN, D.; ANTON-CULVER, H. Increased incidence of squamous cell anal cancer among men with AIDS in the era of highly active antiretroviral therapy. **Sexually Transmitted Diseases**, v. 32, n. 5, p. 314-320, 2005.

DIBONITO, L.; FALCONIERI, G.; TOMASIC, G.; COLAUTTI, I.; BONIFACIO, D.; DUDINE, S. Cervical cytopathology: an evaluation of its accuracy based on cytohistologic comparison. **Cancer**, v. 72, n. 10, p. 3002-3006, 1993.

DOYLE, B.; O'FARRELL, C.; MAHONEY, E.; TURNER, L.; MAGEE, D.; GIBBONS, D. Liquid-based cytology improves productivity in cervical cytology screening. **Cytopathology**, v. 17, n. 2, p. 60-64, 2006.

DUARTE, D. V.; BRITO, E. B. D.; CANTO, A. S. D. S.; ISHIKAWA, E. A. Y.; PINHEIRO, J. G.; COSTA, J. H. G.; SOUSA, M. S. D. Frequência e genotipagem do Papilomavírus humano em mulheres de comunidades ribeirinhas do Município de Abaetetuba, Pará, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 1, n. 3, p. 75-82, 2010.

DUPREE, W. B.; SUPRUN, H. Z.; BECKWITH, D. G.; SHANE, J. J.; LUCENTE, V. The promise and risk of a new technology. **Cancer Cytopathology**, v. 84, n. 4, p. 202-207, 1998.

DURANTE, A. J.; WILLIAMS, A. B.; DA COSTA, M.; DARRAGH, T. M.; KHOSHNOOD, K.; PALEFSKY, J. M. Incidence of anal cytological abnormalities in a cohort of human immunodeficiency virus-infected women. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v. 12, n. 7, p. 638-42, 2003.

FEDERAÇÃO BRASILEIRA DAS SOCIEDADES DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA. Papilomavírus Humano (HPV): Diagnóstico e Tratamento. In. **Projeto Diretrizes**. São Paulo: Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina, 2002. Disponível em: < http://projetodiretrizes.org.br/projeto_diretrizes/079.pdf >. Acesso em 16 abril 2015.

FEHRMANN, F.; LAIMINS, L. A. Human papillomaviruses: targeting differentiating epithelial cells for malignant transformation. **Oncogene**, v. 22, n. 33, p. 5201-5207, 2003.

FENGER, C.; KNOTH, M. The anal transitional zone: a scanning and transmission electron microscopic investigation of the surface epithelium. **Ultrastructural Pathology**, v. 2, n. 2, p. 163-173, 1981.

FENGER, C.; NIELSEN, V. Intraepithelial neoplasia in the anal canal. **Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica Series A: Pathology**, v. 94, n. 5, p. 343-349, 1986.

FENGER, C.; FRISCH, M.; MARTI, M. C.; PARC, R. Tumours of the anal canal. In: HAMILTON, S. R. e AALTONEN, L. A. (Ed.). **World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System**. Lyon: IARC Press, 2000.

FERRAZ, L. D. C.; SANTOS, A. B. R.; DISCACCIATI, M. G. Ciclo celular, HPV e evolução da neoplasia intraepitelial cervical: seleção de marcadores biológicos; Cell cycle, HPV and cervical intraepithelial neoplasia evolution: biomarkers selection. **Journal of the Health Sciences Institute**, v. 30, n. 2, p. 107-111, 2012.

FITTIPALDI, S. O.; SANTOS, G. M.; AMORIM, M. M. R. Concordância entre citologia, colposcopia e histopatologia cervical. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 32, n. 8, p. 368-373, 2010.

FOX, P. Anal cancer screening in men who have sex with men. **Current Opinion in HIV and AIDS**, v. 4, n. 1, p. 64-67, 2009.

FRANCO, E. L.; VILLA, L. L.; SOBRINHO, J. P.; PRADO, J. M.; ROUSSEAU, M.-C.; DÉSY, M.; ROHAN, T. E. Epidemiology of acquisition and clearance of cervical human papillomavirus infection in women from a high-risk area for cervical cancer. **Journal of Infectious Diseases**, v. 180, n. 5, p. 1415-1423, 1999.

FRIEDLANDER, M. A.; STIER, E.; LIN, O. Anorectal cytology as a screening tool for anal squamous lesions: cytologic, anoscopic, and histologic correlation. **Cancer**, v. 102, n. 1, p. 19-26, 2004.

FRISCH, M.; OLSEN, J. H.; BAUTZ, A.; MELBYE, M. Benign anal lesions and the risk of anal cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 331, n. 5, p. 300-302, 1994.

FRISCH, M.; GLIMELIUS, B.; VAN DEN BRULE, A. J.; WOHLFAHRT, J.; MEIJER, C. J.; WALBOOMERS, J. M.; GOLDMAN, S.; SVENSSON, C.; ADAMI, H.-O.; MELBYE, M. Sexually transmitted infection as a cause of anal cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 337, n. 19, p. 1350-1358, 1997.

FRISCH, M.; FENGER, C.; VAN DEN BRULE, A. J.; SØRENSEN, P.; MEIJER, C. J.; WALBOOMERS, J. M.; ADAMI, H.-O.; MELBYE, M.; GLIMELIUS, B. Variants of squamous cell carcinoma of the anal canal and perianal skin and their relation to human papillomaviruses. **Cancer Research**, v. 59, n. 3, p. 753-757, 1999.

FRISCH, M.; BIGGAR, R. J.; GOEDERT, J. J. Human papillomavirus-associated cancers in patients with human immunodeficiency virus infection and acquired immunodeficiency syndrome. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 92, n. 18, p. 1500-1510, 2000.

GHIGNA, M. R.; DRAK ALSIBAI, K.; PORRAS, J.; PALAZZO, L.; GODCHAUX, J. M.; FABRE, M. Deep-seated rectal/anal basaloid carcinoma: useful immunocytochemistry in rare squamous cell carcinoma variants. **Cytopathology**, v. 20, n. 5, p. 315-320, 2009.

GIBB, R. K.; MARTENS, M. G. The impact of liquid-based cytology in decreasing the incidence of cervical cancer. **Reviews in obstetrics and gynecology**, v. 4, n. Suppl 1, p. S2, 2011.

GIMENEZ, F.; COSTA-E-SILVA, I. T. D.; DAUMAS, A.; ARAÚJO, J. D.; MEDEIROS, S. G.; FERREIRA, L. The value of high-resolution anoscopy in the diagnosis of anal cancer precursor lesions in HIV-positive patients. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 48, n. 2, p. 136-145, 2011.

GINGELMAIER, A.; WEISSENBACHER, T.; KOST, B.; KAESTNER, R.; SOVRIC, M.; MYLONAS, I.; FRIESE, K.; BERGAUER, F. Anal cytology as a screening tool for early detection of anal dysplasia in HIV-infected women. **Anticancer Research**, v. 30, n. 5, p. 1719-1723, 2010.

GIRALDO, P. C.; SILVA, M. J. P.; FEDRIZZI, E. N.; GONÇALVES, A. K. S.; AMARAL, R. L. G.; JUNIOR, J. E.; FIGUEIREDO, I. V. Prevenção da infecção por HPV e lesões associadas com o uso de vacinas. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, v. 20, n. 2, p. 132-140, 2008.

GLYNNE-JONES, R.; NORTHOVER, J.; CERVANTES, A.; GROUP, E. G. W. Anal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. **Annals of Oncology**, v. 21 (Suppl 5), p. v87-v92, 2010.

GLYNNE-JONES, R.; NILSSON, P. J.; ASCHELE, C.; GOH, V.; PEIFFERT, D.; CERVANTES, A.; ARNOLD, D. Anal cancer: ESMO–ESSO–ESTRO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. **Radiotherapy and Oncology**, v. 111, n. 3, p. 330-339, 2014.

GOEDERT, J. J.; COTÉ, T. R.; VIRGO, P.; SCOPPA, S. M.; KINGMA, D. W.; GAIL, M. H.; JAFFE, E. S.; BIGGAR, R. J.; GROUP, A.-C. M. S. Spectrum of AIDS-associated malignant disorders. **The Lancet**, v. 351, n. 9131, p. 1833-1839, 1998.

GOLDIE, S. J.; KUNTZ, K. M.; WEINSTEIN, M. C.; FREEDBERG, K. A.; WELTON, M. L.; PALEFSKY, J. M. The clinical effectiveness and cost-effectiveness of screening for anal squamous intraepithelial lesions in homosexual and bisexual HIV-positive men. **Journal of the American Medical Association**, v. 281, n. 19, p. 1822-1829, 1999.

GOLDIE, S. J.; KUNTZ, K. M.; WEINSTEIN, M. C.; FREEDBERG, K. A.; PALEFSKY, J. M. Cost-effectiveness of screening for anal squamous intraepithelial lesions and anal cancer in human immunodeficiency virus–negative homosexual and bisexual men. **The American Journal of Medicine**, v. 108, n. 8, p. 634-641, 2000.

GOMES, R. Sexualidade masculina e saúde do homem: proposta para uma discussão. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 8, n. 3, p. 825-829, 2003.

GOMES, R.; REBELLO, L. E. F. S.; ARAÚJO, F. C. D.; NASCIMENTO, E. F. D. A prevenção do câncer de próstata: uma revisão da literatura. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 13, n. 1, p. 235-246, 2008.

GROSS, G. E.; BARRASSO, R. **Infecção por Papilomavírus Humano: Atlas Clínico de HPV**. Porto Alegre: Artmed, 1999. 432 p.

GRULICH, A. E.; VAN LEEUWEN, M. T.; FALSTER, M. O.; VAJDIC, C. M. Incidence of cancers in people with HIV/AIDS compared with immunosuppressed transplant recipients: a meta-analysis. **The Lancet**, v. 370, n. 9581, p. 59-67, 2007.

GRULICH, A. E.; HILLMAN, R.; BROTHERTON, J. M.; FAIRLEY, C. K. Time for a strategic research response to anal cancer. **Sexual Health**, v. 9, n. 6, p. 628-631, 2012.

GRULICH, A. E. Epidemiology of Non-AIDS-Defining Malignancies. In: HOPE, T. J.; STEVENSON, M., *et al* (Ed.). **Encyclopedia of AIDS**. New York: Springer, 2013. p.1-8.

GUIMARÃES, M. D. C.; GRINSZTEJN, B.; MELO, V. H.; ROCHA, G. M.; CAMPOS, L. N.; PILOTTO, J. H.; CARMO, R. A.; PALEFSKY, J. M. Anal HPV prevalence and associated factors among HIV-seropositive men under antiretroviral treatment in Brazil. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 57 (Suppl 3), p. S217-S224, 2011.

HABERMAN, S. J. The analysis of residuals in cross-classified tables. **Biometrics**, v. 29, p. 205-220, 1973.

HARIRI, S.; UNGER, E. R.; STERNBERG, M.; DUNNE, E. F.; SWAN, D.; PATEL, S.; MARKOWITZ, L. E. Prevalence of genital human papillomavirus among females in the United States, the National Health And Nutrition Examination Survey, 2003–2006. **Journal of Infectious Diseases**, v. 204, n. 4, p. 566-573, 2011.

HERÁCLIO, S. D. A.; SOUZA, A. S. R. D.; PINTO, F. R. G.; AMORIM, M. M. R.; OLIVEIRA, M. D. L.; SOUZA, P. R. E. D. Agreement between methods for diagnosing HPV-induced anal lesions in women with cervical neoplasia. **Acta Cytologica**, v. 55, n. 2, p. 218-24, 2011.

HO, G. Y.; BIERMAN, R.; BEARDSLEY, L.; CHANG, C. J.; BURK, R. D. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. **New England Journal of Medicine**, v. 338, n. 7, p. 423-428, 1998.

HOLLY, E. A.; WHITTEMORE, A. S.; ASTON, D. A.; AHN, D. K.; NICKOLOFF, B. J.; KRISTIANSEN, J. J. Anal cancer incidence: genital warts, anal fissure or fistula, hemorrhoids, and smoking. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 81, n. 22, p. 1726-1731, 1989.

HOLLY, E. A.; RALSTON, M. L.; DARRAGH, T. M.; GREENBLATT, R. M.; JAY, N.; PALEFSKY, J. M. Prevalence and risk factors for anal squamous intraepithelial lesions in women. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 93, n. 11, p. 843-9, 2001.

HUTCHINSON, M. L.; ZAHNISER, D. J.; SHERMAN, M. E.; HERRERO, R.; ALFARO, M.; BRATTI, M. C.; HILDESHEIM, A.; LORINCZ, A. T.; GREENBERG, M. D.; MORALES, J. Utility of liquid-based cytology for cervical carcinoma screening. **Cancer Cytopathology**, v. 87, n. 2, p. 48-55, 1999.

IARC WORKING GROUP ON THE EVALUATION OF CARCINOGENIC RISKS TO HUMANS. **IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Human Papillomaviruses**. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. v. 90. 1995.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER; MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Estimativa 2014: Incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2014. 124 p.

JACOB, S. E.; SREEVIDYA, S.; CHACKO, E.; PILLAI, M. R. Cellular manifestations of human papillomavirus infection in laryngeal tissues. **Journal of Surgical Oncology**, v. 79, n. 3, p. 142-150, 2002.

JAY, N. Elements of an anal dysplasia screening program. **Journal of the Association of Nurses in AIDS Care**, v. 22, n. 6, p. 465-477, 2011.

JOHNSON, L. G.; MADELEINE, M. M.; NEWCOMER, L. M.; SCHWARTZ, S. M.; DALING, J. R. Anal cancer incidence and survival: the surveillance, epidemiology, and end results experience, 1973–2000. **Cancer**, v. 101, n. 2, p. 281-288, 2004.

KARNON, J.; JONES, R.; CZOSKI-MURRAY, C.; SMITH, K. J. Cost-utility analysis of screening high-risk groups for anal cancer. **Journal of Public Health**, v. 30, n. 3, p. 293-304, 2008.

KESSIS, T. D.; CONNOLLY, D. C.; HEDRICK, L.; CHO, K. R. Expression of HPV16 E6 or E7 increases integration of foreign DNA. **Oncogene**, v. 13, n. 2, p. 427-431, 1996.

KIERSZENBAUM, A. L. **Histologia e biologia celular: uma introdução à patologia**. 1.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. 654 p.

KISSELJOV, F. Virus-associated human tumors: cervical carcinomas and papilloma viruses. **Biochemistry**, v. 65, n. 1, p. 68-77, 2000.

KOSS, L. G.; MELAMED, M. R. **Diagnostic cytology and its histopathologic bases**. 5.ed. Philadelphia: J.B. Lippincott Company, 2005.

LAM, J. M.; HOCH, J. S.; TINMOUTH, J.; SANO, M.; RABOUD, J.; SALIT, I. E. Cost-effectiveness of screening for anal precancers in HIV-positive men. **AIDS**, v. 25, n. 5, p. 635-642, 2011.

LAMPINEN, T. M.; LATULIPPE, L.; VAN NIEKERK, D.; SCHILDER, A. J.; MILLER, M. L.; ANEMA, A.; HOGG, R. S. Illustrated instructions for self-collection of anorectal swab specimens and their adequacy for cytological examination. **Sexually Transmitted Diseases**, v. 33, n. 6, p. 386-388, 2006a.

LAMPINEN, T. M.; MILLER, M. L.; CHAN, K.; ANEMA, A.; VAN NIEKERK, D.; SCHILDER, A. J.; TAYLOR, R.; HOGG, R. S. Randomized clinical evaluation of self-screening for anal cancer precursors in men who have sex with men. **Cytojournal**, v. 3, n. 4, 2006b.

LANDIS, J. R.; KOCH, G. G. The measurement of observer agreement for categorical data. **Biometrics**, p. 159-174, 1977.

LARANGEIRA, L. L. S.; ANDRADE, S. K. V. Incidência do carcinoma de canal anal na regional de saúde de Londrina (PR). **Revista Brasileira de Coloproctologia**, v. 24, n. 3, p. 240-246, 2004.

LAZZAROTTO, A. R.; DERESZ, L. F.; SPRINZ, E. HIV/AIDS e treinamento concorrente: a revisão sistemática. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 16, n. 2, p. 149-154, 2010.

LEE, D.; LEE, B.; KIM, J.; KIM, D. W.; CHOE, J. cAMP response element-binding protein-binding protein binds to human papillomavirus E2 protein and activates E2-dependent transcription. **Journal of Biological Chemistry**, v. 275, n. 10, p. 7045-7051, 2000.

LICITRA, L.; SPINAZZÉ, S.; DOCI, R.; EVANS, T. J.; TANUM, G.; DUCREUX, M. Cancer of the anal region. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, v. 43, n. 1, p. 77-92, 2002.

LOWHAGEN, G.; BERGBRANT, I.; BERGSTROM, T.; VOOG, E. PCR detection of Epstein-Barr virus, herpes simplex virus and human papillomavirus from the anal mucosa in HIV-seropositive and HIV-seronegative homosexual men. **International Journal of STD & AIDS**, v. 10, n. 9, p. 615-618, 1999.

LYTWYN, A.; SALIT, I. E.; RABOUD, J.; CHAPMAN, W.; DARRAGH, T.; WINKLER, B.; TINMOUTH, J.; MAHONY, J. B.; SANO, M. Interobserver agreement in the interpretation of anal intraepithelial neoplasia. **Cancer**, v. 103, n. 7, p. 1447-1456, 2005.

MACHALEK, D. A.; GRULICH, A. E.; JIN, F.; TEMPLETON, D. J.; POYNTEN, I. M. The epidemiology and natural history of anal human papillomavirus infection in men who have sex with men. **Sexual Health**, v. 9, n. 6, p. 527-537, 2012.

MACHALEK, D. A.; GRULICH, A. E.; HILLMAN, R. J.; JIN, F.; TEMPLETON, D. J.; TABRIZI, S. N.; GARLAND, S. M.; PRESTAGE, G.; MCCAFFERY, K.; HOWARD, K.; TONG, W.; FAIRLEY, C. K.; ROBERTS, J.; FARNSWORTH, A.; POYNTEN, I. M. The Study of the Prevention of Anal Cancer (SPANC): design and methods of a three-year prospective cohort study. **BMC Public Health**, v. 13, n. 946, 2013.

MAIA, L. B.; MARINHO, L. C.; WANDERLEY PAES BARBOSA, T.; BATALHA FILHO, E. S.; RIBEIRO VELASCO, L. F.; COSTA, G.; GODOY, P.; CARNEIRO, F. P.; OLIVEIRA, P. G. A comparative study between conventional and liquid-based cytology in screening for anal intraepithelial lesions in HIV-positive patients. **Diagnostic Cytopathology**, v. 42, n. 10, p. 840-845, 2014.

MALIK, H.; KHAN, F. H.; AHSAN, H. Human papillomavirus: current status and issues of vaccination. **Archives of Virology**, v. 159, n. 2, p. 199-205, 2014.

MANZIONE, C. R.; NADAL, S. R.; CALORE, E. E. Oncogenicidade do papilomavírus humano e o grau de neoplasia intra-epitelial anal em doentes HIV positivo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 50, n. 3, p. 282-285, 2004.

MATHEWS, W. C.; SITAPATI, A.; CAPERNA, J. C.; BARBER, R. E.; TUGEND, A.; GO, U. Measurement characteristics of anal cytology, histopathology, and high-resolution anoscopic visual impression in an anal dysplasia screening program. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 37, n. 5, p. 1610-1615, 2004.

MAYEAUX JUNIOR, E. J.; HARPER, M. B.; ABREO, F.; POPE, J. B.; PHILLIPS, G. S. A comparison of the reliability of repeat cervical smears and colposcopy in patients with abnormal cervical cytology. **The Journal of Family Practice**, v. 40, n. 1, p. 57-62, 1995.

MEISELS, A.; MORIN, C. **Cytopathology of the uterus**. 2.ed. American Society Clinical Pathology, 1997. 506 p.

MELBYE, M.; SMITH, E.; WOHLFAHRT, J.; ØSTERLIND, A.; ORHOLM, M.; BERGMANN, O. J.; MATHIESEN, L.; DARRAGH, T.; PALEFSKY, J. M. Anal and cervical abnormality in women—prediction by human papillomavirus tests. **International Journal of Cancer**, v. 68, n. 5, p. 559-564, 1996.

MELO, V. H.; GUIMARAES, M. D. C.; ROCHA, G. M.; ARAUJO, A. C. L.; CARMO, R. A.; GRINSZTEJN, B.; PILOTTO, J. H.; PALEFSKY, J. M. Prevalence and risk factors associated with anal intraepithelial neoplasia among HIV-positive men in Brazil. **Journal of Lower Genital Tract Disease**, v. 18, n. 2, p. 128-135, 2014.

MOODY, C. A.; LAIMINS, L. A. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. **Nature Reviews Cancer**, v. 10, n. 8, p. 550-560, 2010.

MORAN, M. G.; BARKLEY JR, T. W.; HUGHES, C. B. Screening and management of anal dysplasia and anal cancer in HIV-infected patients: a guide for practice. **Journal of the Association of Nurses in AIDS Care**, v. 21, n. 5, p. 408-416, 2010.

MOSCICKI, A. B.; SCHIFFMAN, M.; KJAER, S.; VILLA, L. L. Updating the natural history of HPV and anogenital cancer. **Vaccine**, v. 24 (Suppl 3), p. S42-S51, 2006.

MOUGIN, C.; DALSTEIN, V.; PRETET, J. L.; GAY, C.; SCHAAL, J. P.; RIETHMULLER, D. Epidemiology of cervical papillomavirus infections. Recent knowledge. **Presse Medicale**, v. 30, n. 20, p. 1017-1023, 2001.

MUÑOZ, N.; BOSCH, F. X.; DE SANJOSE, S.; HERRERO, R.; CASTELLSAGUÉ, X.; SHAH, K. V.; SNIJDERS, P. J.; MEIJER, C. J. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 348, n. 6, p. 518-527, 2003.

MUÑOZ, N.; CASTELLSAGUÉ, X.; DE GONZÁLEZ, A. B.; GISSMANN, L. HPV in the etiology of human cancer. **Vaccine**, v. 24 (Suppl 3), p. S1-S10, 2006.

NADAL, S. R.; MANZIONE, C. R. A citologia como método para detecção de lesões precursoras do carcinoma anal. **Revista Brasileira de Coloproctologia**, v. 25, n. 1, p. 72-74, 2005.

NADAL, S. R.; CALORE, E. E.; NADAL, L. R. M.; HORTA, S. H. C.; MANZIONE, C. R. Citologia anal para rastreamento de lesões pré-neoplásicas. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 53, n. 2, p. 147-151, 2007.

NADAL, S. R.; HORTA, S. H. C.; CALORE, E. E.; NADAL, L. R. M.; MANZIONE, C. R. Quanto a escova deve ser introduzida no canal anal para avaliação citológica mais eficaz? **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 55, n. 6, p. 749-751, 2009.

NATIONAL CANCER INSTITUTE. **SEER Stat Fact Sheets: Anal Cancer**. 2014. Disponível em: < <http://seer.cancer.gov/statfacts/html/anus.html> >. Acesso em: 21 de maio 2014.

NATIONAL CANCER INSTITUTE. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2012. 2015. Disponível em: < http://seer.cancer.gov/csr/1975_2012/results_merged/sect_05_cervix_uteri.pdf >. Acesso em: 01 de dezembro 2015.

NEW YORK STATE DEPARTMENT OF PUBLIC HEALTH AIDS INSTITUTE. **Clinical Guidelines: Neoplastic Complications of HIV Infection. Section V – Anal Dysplasia and Cancer.**, 2007. Disponível em: < <http://www.hivguidelines.org/clinical-guidelines/adults/neoplasticcomplications-of-hiv-infection/#V> >. Acesso em: 23 setembro 2015.

NORDENVALL, C.; NILSSON, P. J.; YE, W.; ANDERSSON, T. M. L.; NYRÉN, O. Tobacco use and cancer survival: a cohort study of 40,230 Swedish male construction workers with incident cancer. **International Journal of Cancer**, v. 132, n. 1, p. 155-161, 2013.

PALEFSKY, J. Biology of HPV in HIV infection. **Advances in Dental Research**, v. 19, n. 1, p. 99-105, 2006.

PALEFSKY, J. M.; SHIBOSKI, S.; MOSS, A. Risk factors for anal human papillomavirus infection and anal cytologic abnormalities in HIV-positive and HIV-

negative homosexual men. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 7, n. 6, p. 599-606, 1994.

PALEFSKY, J. M.; HOLLY, E. A.; HOGEBOOM, C. J.; BERRY, J. M.; JAY, N.; DARRAGH, T. M. Anal cytology as a screening tool for anal squamous intraepithelial lesions. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 14, n. 5, p. 415-422, 1997a.

PALEFSKY, J. M.; HOLLY, E. A.; RALSTON, M. L.; ARTHUR, S. P.; HOGEBOOM, C. J.; DARRAGH, T. M. Anal cytological abnormalities and anal HPV infection in men with Centers for Disease Control group IV HIV disease. **Genitourinary Medicine**, v. 73, n. 3, p. 174-180, 1997b.

PALEFSKY, J. M.; HOLLY, E. A.; HOGEBOOM, C. J.; RALSTON, M. L.; DACOSTA, M. M.; BOTTS, R.; BERRY, J. M.; JAY, N.; DARRAGH, T. M. Virologic, immunologic, and clinical parameters in the incidence and progression of anal squamous intraepithelial lesions in HIV-positive and HIV-negative homosexual men. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 17, n. 4, p. 314-319, 1998a.

PALEFSKY, J. M.; HOLLY, E. A.; RALSTON, M. L.; JAY, N.; BERRY, J. M.; DARRAGH, T. M. High incidence of anal high-grade squamous intra-epithelial lesions among HIV-positive and HIV-negative homosexual and bisexual men. **AIDS**, v. 12, n. 5, p. 495-503, 1998b.

PALEFSKY, J. M.; HOLLY, E. A.; RALSTON, M. L.; DA COSTA, M.; BONNER, H.; JAY, N.; BERRY, M. J.; DARRAGH, T. M. Effect of highly active antiretroviral therapy on the natural history of anal squamous intraepithelial lesions and anal human papillomavirus infection. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 28, n. 5, p. 422-428, 2001a.

PALEFSKY, J. M.; HOLLY, E. A.; RALSTON, M. L.; DA COSTA, M.; GREENBLATT, R. M. Prevalence and risk factors for anal human papillomavirus infection in human immunodeficiency virus (HIV)—Positive and high-risk HIV-negative women. **Journal of Infectious Diseases**, v. 183, n. 3, p. 383-391, 2001b.

PALEFSKY, J. M.; HOLLY, E. A.; EFIRDC, J. T.; DA COSTA, M.; JAY, N.; BERRY, J. M.; DARRAGH, T. M. Anal intraepithelial neoplasia in the highly active antiretroviral therapy era among HIV-positive men who have sex with men. **AIDS**, v. 19, n. 13, p. 1407-1414, 2005.

PALEFSKY, J. M.; GIULIANO, A. R.; GOLDSTONE, S.; MOREIRA JR, E. D.; ARANDA, C.; JESSEN, H.; HILLMAN, R.; FERRIS, D.; COUTLEE, F.; STOLER, M. H. HPV vaccine against anal HPV infection and anal intraepithelial neoplasia. **New England Journal of Medicine**, v. 365, n. 17, p. 1576-1585, 2011.

PALEFSKY, J. M. Practising high-resolution anoscopy. **Sexual Health**, v. 9, n. 6, p. 580-586, 2012.

PANDEY, P. Anal anatomy and normal histology. **Sexual Health**, v. 9, n. 6, p. 513-516, 2012.

PARK, I. U.; PALEFSKY, J. M. Evaluation and management of anal intraepithelial neoplasia in HIV-negative and HIV-positive men who have sex with men. **Current Infectious Disease Reports**, v. 12, n. 2, p. 126-133, 2010.

PARKIN, D. M.; BRAY, F. The burden of HPV-related cancers. **Vaccine**, v. 24 (Suppl 3), p. S11-S25, 2006.

PATARAPADUNGKIT, N.; KOONMEE, S.; PASATUNG, E.; PISUTTIMARN, P.; MOOTSIKAPUN, P. Anal cancer screening by modified liquid-based cytology in an HIV clinic. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 13, n. 9, p. 4487-4490, 2012.

PENN, I. Cancers of the anogenital region in renal transplant recipients: analysis of 65 cases. **Cancer**, v. 58, n. 3, p. 611-616, 1986.

PEREIRA, J. C. R. **Análise de dados qualitativos: estratégias metodológicas para as ciências da saúde, humanas e sociais**. 2.ed. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1999.

PEREIRA, S. M.; UTAGAWA, M. L.; PITTOLI, J. E.; AGUIAR, L. S.; MAEDA, M.; LONGATTO FILHO, A.; LORETO, C. D.; ROTELI-MARTINS, C.; GALVANE, J. O.; WOLF, C. M. Avaliação da celularidade citológica em preparados de base líquida. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 62, n. 1, p. 35-39, 2003.

PEREIRA, T. C.; SAAD, R. S.; SILVERMAN, J. F. Gastrointestinal Tract. In: GATTUSO, P.; REDDY, V. B., *et al* (Ed.). **Differential diagnosis in cytopathology**. New York: Cambridge University Press, 2010. cap. 4, p.151-196.

PETERS, R.; MACK, T. Patterns of anal carcinoma by gender and marital status in Los Angeles County. **British Journal of Cancer**, v. 48, n. 5, p. 629-636, 1983.

PHANUPHAK, N.; TEERATAKULPISARN, N.; LIM, C.; CHANGNAM, T.; KERR, S.; DEESUA, A.; HONGCHOOKIAT, P.; RODBAMRUNG, P.; NUMTO, S.; BARISRI, J.; PHANUPHAK, P.; KEELAWAT, S.; SOHN, A. H.; ANANWORANICH, J.; TRIRATANACHAT, S. Comparable performance of conventional and liquid-based cytology in diagnosing anal intraepithelial neoplasia in HIV-infected and -uninfected Thai men who have sex with men. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 63, n. 4, p. 464-71, 2013.

PIKETTY, C.; DARRAGH, T. M.; DA COSTA, M.; BRUNEVAL, P.; HEARD, I.; KAZATCHKINE, M. D.; PALEFSKY, J. M. High prevalence of anal human papillomavirus infection and anal cancer precursors among HIV-infected persons in the absence of anal intercourse. **Annals of Internal Medicine**, v. 138, n. 6, p. 453-459, 2003.

PIKETTY, C.; DARRAGH, T. M.; HEARD, I.; DA COSTA, M.; BRUNEVAL, P.; KAZATCHKINE, M. D.; PALEFSKY, J. M. High prevalence of anal squamous intraepithelial lesions in HIV-positive men despite the use of highly active antiretroviral therapy. **Sexually Transmitted Diseases**, v. 31, n. 2, p. 96-99, 2004.

POPPE, W.; IDE, P.; DRIJKONINGEN, M.; LAUWERYNS, J.; VAN ASSCHE, F. A. Tobacco smoking impairs the local immunosurveillance in the uterine cervix. **Gynecologic and obstetric investigation**, v. 39, n. 1, p. 34-38, 1995.

RABACHINI, T.; SICHERO, L. Biologia do HPV. In: CONSOLARO, M. E. L. e MARIA-ENGLER, S. S. (Ed.). **Citologia Clínica Cérvico-Vaginal: Texto e Atlas**. São Paulo: Roca, 2012. p.95-104.

READ, T. R.; FAIRLEY, C. K. Should we start screening for anal squamous intraepithelial lesions in HIV-infected homosexual men? **Sexual Health**, v. 8, n. 2, p. 140-142, 2011.

REED, A. C.; REITER, P. L.; SMITH, J. S.; PALEFSKY, J. M.; BREWER, N. T. Gay and bisexual men's willingness to receive anal Papanicolaou testing. **American Journal of Public Health**, v. 100, n. 6, p. 1123-1129, 2010.

RIVOIRE, W. A.; CAPP, E.; CORLETA, H. V. E.; SILVA, I. S. B. D. Bases biomoleculares da oncogênese cervical. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 47, n. 2, p. 179-184, 2001.

ROBERTS, J. M.; EKMAN, D. The reporting of anal cytology and histology samples: establishing terminology and criteria. **Sexual Health**, v. 9, n. 6, p. 562-567, 2012.

ROSITCH, A. F.; BURKE, A. E.; VISCIDI, R. P.; SILVER, M. I.; CHANG, K.; GRAVITT, P. E. Contributions of recent and past sexual partnerships on incident human papillomavirus detection: acquisition and reactivation in older women. **Cancer Research**, v. 72, n. 23, p. 6183-6190, 2012.

RYAN, D. P.; COMPTON, C. C.; MAYER, R. J. Carcinoma of the anal canal. **New England Journal of Medicine**, v. 342, n. 11, p. 792-800, 2000.

SAHASRABUDDHE, V. V.; CASTLE, P. E.; FOLLANSBEE, S.; BORGONOVO, S.; TOKUGAWA, D.; SCHWARTZ, L. M.; LOREY, T. S.; LAMERE, B. J.; GAGE, J. C.; FETTERMAN, B. Human papillomavirus genotype attribution and estimation of preventable fraction of anal intraepithelial neoplasia cases among HIV-infected men who have sex with men. **Journal of Infectious Diseases**, v. 207, n. 3, p. 392-401, 2013.

SATTERWHITE, C. L.; TORRONE, E.; MEITES, E.; DUNNE, E. F.; MAHAJAN, R.; OCFEMIA, M. C. B.; SU, J.; XU, F.; WEINSTOCK, H. Sexually transmitted infections among US women and men: prevalence and incidence estimates, 2008. **Sexually Transmitted Diseases**, v. 40, n. 3, p. 187-193, 2013.

SAXENA, N. P.; AWASTHI, D. K. Distribution of microorganisms. In: SAXENA, N. P. e AWASTHI, D. K. (Ed.). **Microbiology**. Meerut: Krishna Prakashan Media Ltd., 2003. p.36-58.

SCHLEDERMANN, D.; EJERSBO, D.; HOELUND, B. Improvement of diagnostic accuracy and screening conditions with liquid-based cytology. **Diagnostic Cytopathology**, v. 34, n. 11, p. 780-785, 2006.

SCHOLEFIELD, J. H.; JOHNSON, J.; HITCHCOCK, A.; KOCJAN, G.; SMITH, J. H.; SMITH, P. A.; FERRYMAN, S.; BYASS, P. Guidelines for anal cytology--to make cytological diagnosis and follow up much more reliable. **Cytopathology**, v. 9, n. 1, p. 15-22, 1998.

SHERMAN, M. E.; FRIEDMAN, H. B.; BUSSENIERS, A. E.; KELLY, W. F.; CARNER, T. C.; SAAH, A. J. Cytologic diagnosis of anal intraepithelial neoplasia using smears and cytyc thin-preps. **Modern Pathology**, v. 8, n. 3, p. 270-274, 1995.

SHIA, J. An update on tumors of the anal canal. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v. 134, n. 11, p. 1601-1611, 2010.

SHIRAMIZU, B.; MILNE, C.; TERADA, K.; CASSEL, K.; MATSUNO, R. K.; KILLEEN, J.; LIANG, C. Y.; TACHIBANA, F.; SHEERAN, T.; WEIHE, J.; GOODMAN, M. T. A community-based approach to enhancing anal cancer screening in Hawaii's HIV-infected ethnic minorities. **Journal of AIDS & Clinical Research**, v. 3, n. 6, 2012.
Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3614361/pdf/nihms445291.pdf> >.
Acesso em: 29 abril 2015.

SHRIDHAR, R.; SHIBATA, D.; CHAN, E.; THOMAS, C. R. Anal cancer: Current standards in care and recent changes in practice. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 65, n. 2, p. 139-162, 2015.

SILVERA, R.; GAISA, M. M.; GOLDSTONE, S. E. Random biopsy during high-resolution anoscopy increases diagnosis of anal high-grade squamous intraepithelial lesions. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 65, n. 1, p. 65-71, 2014.

SOLOMON, D.; NAYAR, R., Eds. **The Bethesda System for reporting cervical cytology: definitions, criteria, and explanatory notes**. New York: Springer, 2 ed. 2004.

SOUTO, R.; FALHARI, J. P. B.; CRUZ, A. O Papilomavírus Humano: um fator relacionado com a formação de neoplasias. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 51, n. 2, p. 155-160, 2005.

STOLER, M. H.; SCHIFFMAN, M. Interobserver reproducibility of cervical cytologic and histologic interpretations: realistic estimates from the ASCUS-LSIL Triage Study. **Journal of the American Medical Association**, v. 285, n. 11, p. 1500-1505, 2001.

STRICKLER, H. D.; BURK, R. D.; FAZZARI, M.; ANASTOS, K.; MINKOFF, H.; MASSAD, L. S.; HALL, C.; BACON, M.; LEVINE, A. M.; WATTS, D. H. Natural history and possible reactivation of human papillomavirus in human

immunodeficiency virus–positive women. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 97, n. 8, p. 577-586, 2005.

STUBENRAUCH, F.; LAIMINS, L. A. Human papillomavirus life cycle: active and latent phases. **Seminars in Cancer Biology**, v. 9, p. 379-386, 1999.

SUN, X.-W.; KUHN, L.; ELLERBROCK, T. V.; CHIASSEON, M. A.; BUSH, T. J.; WRIGHT JR, T. C. Human papillomavirus infection in women infected with the human immunodeficiency virus. **New England Journal of Medicine**, v. 337, n. 19, p. 1343-1349, 1997.

TANDON, R.; BARANOSKI, A. S.; HUANG, F.; DE LAS MORENAS, A.; VRAGOVIC, O.; SULLIVAN, M.; STIER, E. A. Abnormal anal cytology in HIV-infected women. **American Journal of Obstetrics & Gynecology**, v. 203, n. 21, p. e1-e6, 2010.

THOMAS, J. T.; HUBERT, W. G.; RUESCH, M. N.; LAIMINS, L. A. Human papillomavirus type 31 oncoproteins E6 and E7 are required for the maintenance of episomes during the viral life cycle in normal human keratinocytes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 96, n. 15, p. 8449-8454, 1999.

TONG, W. W.; JIN, F.; MCHUGH, L. C.; MAHER, T.; SINCLAIR, B.; GRULICH, A. E.; HILLMAN, R. J.; CARR, A. Progression to and spontaneous regression of high-grade anal squamous intraepithelial lesions in HIV-infected and uninfected men. **AIDS**, v. 27, n. 14, p. 2233-2243, 2013.

TSENG, H.-F.; MORGENSTERN, H.; MACK, T. M.; PETERS, R. K. Risk factors for anal cancer: results of a population-based case–control study. **Cancer Causes and Control**, v. 14, n. 9, p. 837-846, 2003.

UNDERHILL, D. M.; ILIEV, I. D. The mycobiota: interactions between commensal fungi and the host immune system. **Nature Reviews Immunology**, v. 14, n. 6, p. 405-416, 2014.

URONIS, H. E.; BENDELL, J. C. Anal cancer: an overview. **The Oncologist**, v. 12, n. 5, p. 524-534, 2007.

US PUBLIC HEALTH SERVICE; INFECTIOUS DISEASES SOCIETY OF AMERICA; PREVENTION OF OPPORTUNISTIC INFECTIONS WORKING GROUP. 2001 USPHS/IDSA guidelines for the prevention of opportunistic infections in persons

infected with human immunodeficiency virus. **Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology**, v. 10, p. 3-64, 2002.

VAJDIC, C. M.; ANDERSON, J. S.; HILLMAN, R. J.; MEDLEY, G.; GRULICH, A. E. Blind sampling is superior to anoscope guided sampling for screening for anal intraepithelial neoplasia. **Sexually Transmitted Infections**, v. 81, n. 5, p. 415-418, 2005.

WALTS, A. E.; THOMAS, P.; BOSE, S. Anal cytology: is there a role for reflex HPV DNA testing? **Diagnostic Cytopathology**, v. 33, n. 3, p. 152-156, 2005.

WEINSTOCK, H.; BERMAN, S.; CATES, W. Sexually transmitted diseases among American youth: incidence and prevalence estimates, 2000. **Perspectives on Sexual and Reproductive Health**, v. 36, n. 1, p. 6-10, 2004.

WIELAND, U.; PFISTER, H. Papilloma virus in human pathology. In: GROSS, G. E. e BARRASSO, R. (Ed.). **Human papilloma virus infection: a clinical atlas**. Berlin: Ullstein Mosby, 1997. p.1-18.

WILKIN, T.; PALMER, S.; BRUDNEY, K.; CHIASSON, M.; WRIGHT, T. Anal intraepithelial neoplasia in heterosexual and homosexual HIV-positive men with access to antiretroviral therapy. **Journal of Infectious Diseases**, v. 190, n. 9, p. 1685-1691, 2004.

WILLIAMS, A. B.; DARRAGH, T. M.; VRANIZAN, K.; OCHIA, C.; MOSS, A. R.; PALEFSK, J. M. Anal and cervical human papillomavirus infection and risk of anal and cervical epithelial abnormalities in human immunodeficiency virus-infected women. **Obstetrics & Gynecology**, v. 83, n. 2, p. 205-211, 1994.

WRIGHT, S.; ZHONG, J.; ZHENG, H.; LARRICK, J. Nicotine inhibition of apoptosis suggests a role in tumor promotion. **Federation of American Societies for Experimental Biology Journal**, v. 7, n. 11, p. 1045-1051, 1993.

ZHU, J.; NORMAN, I.; ELFGREN, K.; GABERI, V.; HAGMAR, B.; HJERPE, A.; ANDERSSON, S. A comparison of liquid-based cytology and Pap smear as a screening method for cervical cancer. **Oncology Reports**, v. 18, n. 1, p. 157-160, 2007.

ANEXOS

ANEXO 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO GRUPO CONTROLE

Nós, Bruna Fischer Duarte, Profa. Maria Suely Soares Leonart e Prof. Sandro Germano, pesquisadores da Universidade Federal do Paraná, estamos convidando você, aluno(a) ou servidor(a) da Universidade Federal do Paraná, maior de idade, que não apresenta infecção pelo HIV e sinais ou sintomas de alterações intestinais, a participar de um estudo intitulado “ESTUDOS SOBRE A VALIDAÇÃO DO EXAME DE CITOLOGIA ANAL”, sobre a implantação de exames de células da região do ânus para auxiliar na prevenção e no diagnóstico de várias doenças, especialmente o câncer. É através de pesquisas como esta que ocorrem os avanços na medicina e sua participação é de fundamental importância.

- a) O objetivo desta pesquisa é estudar o exame de citologia anal em portadores e não portadores de HIV.
- b) Caso você concorde em participar da pesquisa, seus dados pessoais, como sexo, idade, estado de saúde e uso de medicamentos serão coletados. Além disso, será necessário coletar uma amostra de material anal.
- c) A coleta será realizada no Laboratório Escola de Análises Clínicas da Universidade Federal do Paraná.
- d) É possível que você experimente algum desconforto relacionado com a coleta anal, que não envolve risco de provocar qualquer lesão.
- e) O benefício esperado com essa pesquisa é a padronização da utilização da citologia como método de triagem de lesões anais. No entanto, nem sempre você será diretamente beneficiado com os resultados desta pesquisa, mas poderá contribuir para o avanço científico.
- f) As pesquisadoras responsáveis por este estudo: Bruna Fischer Duarte (bruna.duarte@ufpr.br) e Prof. Dra. Maria Suely Soares Leonart (msue@ufpr.br) farmacêuticas, poderão ser contatadas de segunda a sexta-feira, das 08 às 17h, no Laboratório de Citologia Clínica da Universidade Federal do Paraná, situado na Rua Lothário Meissner, 632 – Jardim Botânico, Curitiba – PR, ou pelos telefones (41) 3360-4088, para esclarecer eventuais dúvidas que você possa ter e fornecer-lhe as informações que queira, antes, durante ou depois de encerrado o estudo.

Rubricas:
Participante da Pesquisa _____
Pesquisador Responsável _____
Orientador _____ Orientado _____

Comitê de ética em Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde da UFPR
Rua Pe. Camargo, 280 – 2º andar – Alto da Glória – Curitiba-PR – CEP:80060-240
Tel (41)3360-7259 - e-mail: cometica.saude@ufpr.br

A sua participação neste estudo é voluntária e se você não quiser mais fazer parte da pesquisa poderá desistir a qualquer momento, sem nenhum tipo de penalização, e solicitar que lhe devolvam o termo de consentimento livre e esclarecido assinado.

O frasco no qual seu material coletado for armazenado será identificado com um código, com a garantia de que seu nome não venha a ser divulgado.

Todos os dados coletados serão mantidos de forma confidencial. Os dados coletados serão usados para a avaliação do estudo. Membros das Autoridades de Saúde ou do Comitê de Ética podem revisar os dados fornecidos. Os dados também podem ser usados em publicações científicas sobre o assunto pesquisado. Porém, sua identidade não será revelada sob nenhuma circunstância. Se qualquer informação for divulgada em relatório ou publicação, isto será feito sob forma codificada, para que a confidencialidade seja mantida.

As despesas necessárias para a realização da pesquisa (exames laboratoriais) não são de sua responsabilidade e pela sua participação no estudo você não receberá qualquer valor em dinheiro. Você terá a garantia de que qualquer desconforto relacionado à coleta decorrentes do estudo serão assistidos no próprio Laboratório Escola de Análises Clínicas da Universidade Federal do Paraná.

Quando os resultados forem publicados, não aparecerá seu nome, e sim um código.

Eu, _____ li esse termo de consentimento e compreendi a natureza e objetivo do estudo do qual concordei em participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento sem justificar minha decisão e sem qualquer prejuízo para mim. Eu fui informado que serei atendido sem custos para mim se eu apresentar algum desconforto relacionado à coleta.

Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo.

(Assinatura do participante da pesquisa)

Local e data

Assinatura do Pesquisador

<p>Comitê de ética em Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde da UFPR Rua Pe. Camargo, 280 –2º andar–Alto da Glória– Curitiba-PR –CEP:80060-240 Tel (41)3360-7259 - e-mail: cometica.saude@ufpr.br</p>

ANEXO 2 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO GRUPO HIV

Nós, Bruna Fischer Duarte, Profa. Maria Suely Soares Leonart e Prof. Sandro Germano, pesquisadores da Universidade Federal do Paraná, estamos convidando você, paciente portador do HIV atendido(a) no Hospital Oswaldo Cruz, maior de idade, a participar de um estudo intitulado “ESTUDOS SOBRE A VALIDAÇÃO DO EXAME DE CITOLOGIA ANAL”, sobre a implantação de exames de células da região do ânus para auxiliar na prevenção e no diagnóstico de várias doenças, especialmente o câncer. É através de pesquisas como esta que ocorrem os avanços na medicina e sua participação é de fundamental importância.

- a) O objetivo desta pesquisa é estudar o exame de citologia anal em portadores e não portadores de HIV.
- b) Caso você concorde em participar da pesquisa, seus dados pessoais, como sexo, idade, estado de saúde e uso de medicamentos, e resultados de exames laboratoriais serão coletados. Além disso, será necessário coletar uma amostra de material anal.
- c) A coleta será realizada no Hospital Oswaldo Cruz, durante seu internamento.
- d) É possível que você experimente algum desconforto relacionado com a coleta anal, que não envolve risco de provocar qualquer lesão.
- e) O benefício esperado com essa pesquisa é a padronização da utilização da citologia como método de triagem de lesões anais. No entanto, nem sempre você será diretamente beneficiado com os resultados desta pesquisa, mas poderá contribuir para o avanço científico.
- f) As pesquisadoras responsáveis por este estudo: Bruna Fischer Duarte (bruna.duarte@ufpr.br) e Prof. Dra. Maria Suely Soares Leonart (msue@ufpr.br) farmacêuticas, poderão ser contatadas de segunda a sexta-feira, das 08 às 17h, no Laboratório de Citologia Clínica da Universidade Federal do Paraná, situado na Rua Lothário Meissner, 632 – Jardim Botânico, Curitiba – PR, ou pelos telefones (41) 3360-4088, para esclarecer eventuais dúvidas que você possa ter e fornecer-lhe as informações que queira, antes, durante ou depois de encerrado o estudo.

Rubricas: Participante da Pesquisa _____ Pesquisador Responsável _____ Orientador _____ Orientado _____

Comitê de ética em Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde da FUFPR Rua Pe. Camargo, 280 –2º andar–Alto da Glória– Curitiba-PR –CEP:80060-240 Tel (41)3360-7259 - e-mail: cometica.saude@ufpr.br

A sua participação neste estudo é voluntária e se você não quiser mais fazer parte da pesquisa poderá desistir a qualquer momento, sem nenhum tipo de penalização, e solicitar que lhe devolvam o termo de consentimento livre e esclarecido assinado.

O frasco no qual seu material coletado for armazenado será identificado com um código, com a garantia de que seu nome não venha a ser divulgado.

Todos os dados coletados serão mantidos de forma confidencial. Os dados coletados serão usados para a avaliação do estudo. Membros das Autoridades de Saúde ou do Comitê de Ética podem revisar os dados fornecidos. Os dados também podem ser usados em publicações científicas sobre o assunto pesquisado. Porém, sua identidade não será revelada sob nenhuma circunstância. Se qualquer informação for divulgada em relatório ou publicação, isto será feito sob forma codificada, para que a confidencialidade seja mantida.

As despesas necessárias para a realização da pesquisa (exames laboratoriais) não são de sua responsabilidade e pela sua participação no estudo você não receberá qualquer valor em dinheiro. Você terá a garantia de que qualquer desconforto relacionado à coleta decorrentes do estudo serão assistidos no próprio Hospital Oswaldo Cruz. Caso os pesquisadores observarem qualquer alteração significativa em seu exame, seu médico terá conhecimento a respeito do resultado e poderá tomar as providências necessárias.

Quando os resultados forem publicados, não aparecerá seu nome, e sim um código.

Eu, _____ li esse termo de consentimento e compreendi a natureza e objetivo do estudo do qual concordei em participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento sem justificar minha decisão e sem qualquer prejuízo para mim. Eu fui informado que serei atendido sem custos para mim se eu apresentar algum desconforto relacionado à coleta.

Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo.

(Assinatura do participante da pesquisa)

Local e data

Assinatura do Pesquisador

Comitê de ética em Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde da FUFPR
Rua Pe. Camargo, 280 –2º andar–Alto da Glória– Curitiba-PR –CEP:80060-240
Tel (41)3360-7259 - e-mail: cometica.saude@ufpr.br

ANEXO 3 – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
PARANÁ - SETOR DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE/ SCS -



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ESTUDOS SOBRE A VALIDAÇÃO DO EXAME DE CITOLOGIA ANAL

Pesquisador: Bruna Fischer Duarte

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 38458314.5.0000.0102

Instituição Proponente: Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 980.958

Data da Relatoria: 11/03/2015

Apresentação do Projeto:

Orientadora: Maria Suely Soares Leonart

O câncer anal é raro, porém certas populações apresentam risco aumentado para este tipo de tumor, principalmente entre imunodeficientes e homens que praticam sexo com homens.

Amostras anais têm sido usadas, de forma análoga ao exame citológico cervical, como método de triagem para o carcinoma anal. Entretanto, a sensibilidade da citologia anal varia devido, tanto à falta de padronização em relação à coleta e processamento das amostras, quanto a falhas na interpretação citológica. De qualquer forma, há necessidade de padronização e de mais estudos no sentido de aperfeiçoar os métodos empregados para a utilização da citologia no rastreamento de lesões anais.

Este trabalho será desenvolvido no Laboratório de Citologia Clínica do Departamento de Análises Clínicas da Universidade Federal do Paraná em parceria com o Hospital Osvaldo Cruz, a partir da data de aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Paraná até janeiro de 2016, sob a orientação da Profa. Dra. Maria Suely Soares Leonart.

Objetivo da Pesquisa:

OBJETIVO GERAL

- Estudar aspectos técnicos e citomorfológicos para a validação do exame de citologia anal para auxílio ao diagnóstico.

Endereço: Rua Padre Camargo, 280

Bairro: 2º andar

CEP: 80.060-240

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3360-7259

Email: cometica.saude@ufpr.br

Continuação do Parecer: 980.958

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Testar o emprego de citologia convencional e de citologia em meio líquido em amostras de mucosa anal de indivíduos sãos e de portadores de HIV.
- Avaliar o desempenho das metodologias empregadas de acordo com critérios de adequação das amostras e com a presença de tipos celulares, microrganismos e alterações reativas, degenerativas, pré-neoplásicas e neoplásicas.
- Avaliar alterações citológicas anais encontradas em pacientes portadores e não portadores do vírus HIV.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Este projeto de pesquisa prevê para os indivíduos participantes desconforto mínimo ocasionado pela coleta de material anal ou certo constrangimento devido à natureza pessoal das perguntas do questionário. Os participantes serão orientados quanto à coleta, recebendo instruções detalhadas. Para os pesquisadores, os riscos serão minimizados pelo emprego de normas e procedimentos de segurança aplicados aos laboratórios do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFPR. Este projeto também não causará impacto ao meio ambiente. Os materiais utilizados no projeto serão lavados e/ou descartados seguindo as normas vigentes de biossegurança e proteção ao meio ambiente.

Como benefício, tem-se a padronização da utilização da citologia como uma ferramenta para triagem e detecção de lesões anais, importante para o auxílio ao diagnóstico de câncer e de suas lesões precursoras, bem como de outras doenças.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Amostra: As amostras de mucosa anal para este estudo serão obtidas de indivíduos adultos subdivididos em dois grupos: a) Grupo controle - estudantes do Curso de Farmácia e do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFPR considerados normais (n=50); b) Grupo HIV – pacientes HIV positivos, com ou sem desenvolvimento da síndrome da imunodeficiência humana (AIDS), atendidos no Ambulatório de Infectologia do Hospital de Clínicas da UFPR Hospital Osvaldo Cruz-Curitiba,PR.

Ambos disponibilizam área física para a realização de todo o processamento e desenvolvimento dos experimentos.

Abordagem dos Indivíduos Sujeitos da Pesquisa: Grupo controle – os estudantes serão abordados nos intervalos de suas atividades, com explicações a respeito da importância deste estudo para a sistematização e aplicação de novas metodologias em citologia clínica, que possam vir a contribuir para o diagnóstico do câncer e de outras doenças. Em seguida, serão convidados a participarem da pesquisa, assinando o TCLE e respondendo ao Instrumento de

Endereço: Rua Padre Camargo, 280

Bairro: 2º andar

CEP: 80.060-240

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3360-7259

Email: cometica.saude@ufpr.br

Avaliação na forma de entrevista para sua identificação e sobre seus hábitos, situação sócio-econômica, possíveis queixas clínicas e uso de medicamentos.

Grupo HIV – será solicitado aos médicos que atendem os pacientes do Hospital Osvaldo Cruz, para que informem seus pacientes a respeito deste trabalho, explicando que estão sendo convidados a participarem, com argumentos sobre a importância do mesmo para melhorar as possibilidades de prevenção, diagnóstico e acompanhamento de doenças que envolvem a região anal, inclusive o câncer. Logo após a consulta, os participantes assinarão o TCLE e ao Instrumento de Avaliação. Coleta do Material anal, Preparo do Material para Citologia Líquida, Coloração e Montagem das Lâminas e

Análise Citológica: Os participantes da pesquisa, após explicação sobre a inocuidade da coleta, serão orientados a deitarem em uma maca em posição fetal para coleta do material. A amostra coletada será adequadamente preparada, identificada e enviada para estudo citológico no Laboratório de Citologia Clínica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná.

A análise citológica dos esfregaços será realizada por três citologistas, de forma independente, sendo a interpretação definida por consenso em casos de discordâncias interobservadores. A adequabilidade dos esfregaços será avaliada de acordo com celularidade, presença de células colunares ou da zona de transformação, fixação e artefatos de coloração, contaminação com material fecal e microrganismos. Os achados citológicos serão classificados como negativo para malignidade, células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASCUS), células escamosas atípicas, lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL), lesão intraepitelial escamosa de alto grau (HSIL), ou carcinoma de células escamosas, à semelhança do que é preconizado pelo Sistema Bethesda para citologia cervical.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O projeto traz os documentos exigidos pelo CEP/SD.

Recomendações:

Sugere-se que a abordagem aos alunos seja feita por meio de cartazes afixados em diferentes murais do prédio da Farmácia convidando-os a participarem da pesquisa a fim de minimizar possíveis constrangimentos aos acadêmicos. Os que desejarem devem entrar em contato com os pesquisadores.

Solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios semestrais e final, sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos, através da Plataforma Brasil - no modo:

Endereço: Rua Padre Camargo, 280

Bairro: 2º andar

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3360-7259

CEP: 80.060-240

Email: cometica.saude@ufpr.br

Continuação do Parecer: 980.958

NOTIFICAÇÃO. Demais alterações e prorrogação de prazo devem ser enviadas no modo EMENDA. Lembrando que o cronograma de execução da pesquisa deve ser atualizado no sistema Plataforma Brasil antes de enviar solicitação de prorrogação de prazo.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

É obrigatório retirar na secretaria do CEP/SD uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido com carimbo onde constará data de aprovação por este CEP/SD, sendo este modelo reproduzido para aplicar junto ao participante da pesquisa.

O TCLE deverá conter duas vias, uma ficará com o pesquisador e uma cópia ficará com o participante da pesquisa (Carta Circular nº. 003/2011CONEP/CNS).

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

CURITIBA, 11 de Março de 2015

Assinado por:

**IDA CRISTINA GUBERT
(Coordenador)**

Endereço: Rua Padre Camargo, 280

Bairro: 2º andar

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3360-7259

CEP: 80.060-240

Email: cometica.saude@ufpr.br

ANEXO 4 - INSTRUMENTO DE AVALIAÇÃO

A – Caracterização do participante da pesquisa:

Nome: _____

Prontuário: _____ Idade: _____ Sexo: () M () F

Estado civil: () Solteiro () Casado () Divorciado () União estável () Viúvo

Grau de escolaridade: () nenhum () Fundamental () Médio
() Superior incompleto () Superior completo

Renda mensal: () < 1 salário () 1 a 2 salários () 2 a 4 salários
() 4 a 8 salários () > 8 salários

História de tabagismo: () Sim () Não História de alcoolismo: () Sim () Não

Uso de drogas: () Sim () Não

Uso contínuo de medicação:

Pratica sexo anal receptivo: () Sim () Não

Número de parceiros (as) desde início da atividade sexual:

() 1 () 2 a 5 () 6 a 15 () Mais de 15 () Mais de 30 () Mais de 100

Tem ou teve alguma DST? () Sim () Não Qual? _____

B – Questionário sobre infecção pelo HIV

Status do diagnóstico: () Negativo () Infecção pelo HIV () AIDS

C – Questionário sobre hábitos intestinais

Avaliação do trânsito intestinal: () Evacua todos os dias () Mais de uma vez ao dia
() Em dias alternados () Menos de 3X/semana

Padrão alimentar habitual predomina: () Fibras () Carnes () Vegetais () Massas

Intolerância à lactose: () Total () Parcial () Tolerante

Intolerância ao glúten: () Total () Parcial () Tolerante

Consistência habitual das fezes: () Pastosa () Normal () Endurecida

Uso freqüente de laxantes para evacuar: () Não () Sim Qual? _____

D – Questionário sobre presença de sinais e sintomas gastrointestinais

() dor associada à defecação () alteração na forma das fezes

() alteração na freqüência das evacuações () muco nas fezes

() sangue nas fezes () alteração na consistência das fezes

() sensação de evacuação incompleta () tem sintomas de hemorroidas

ANEXO 5 – INSTRUÇÕES PARA AUTOCOLETA DO EXAME CITOLÓGICO ANAL



FONTE: Adaptado de LAMPINEN *et al.* (2006a).

ANEXO 6 – LAUDO DE CITOLOGIA ANAL

Lâmina número:..... Grupo..... Data da coleta:.....

Paciente:..... Idade:.....

Método:.....

Adequação da amostra

Satisfatória para avaliação ()

Critérios de adequação:

Coloração () Fixação () Celularidade () Formato das células ()

Sobreposição () Artefatos () Estrutura de cromatina () Obscurecimento ()

Tipos celulares presentes

Células escamosas superficiais..... Células escamosas intermediárias.....

Células escamosas parabasais..... Células colunares.....

Leucócitos polimorfonucleares..... Histiócitos.....

Hemácias..... Metaplásicas.....

Presença de microrganismos

Bacilos..... Cocos.....

Fungos..... Outros.....

Efeito citopático de HPV.....

Alterações reativas em células:

Pseudoeosinofilia () Espessamento de bordos nucleares ()

Metacromasia () Cariorréxis ()

Vacuolização citoplasmática () Edema nuclear ()

Halo perinuclear () Binucleação ()

Grânulos querato-hialinos () Multinucleação ()

Apagamento de bordos citoplasmáticos () Cariopicnose ()

Coilocitose () Multinucleação com amoldamento ()

Orangiofilia: hiperqueratose () paraqueratose () Cariólise ()

Homogeneização de cromatina () Citólise ()

Outras alterações:.....

Alterações displásicas e/ou neoplásicas: (cruzes)

Hiperchromasia..... Cariomegalia.....

Aumento da relação núcleo/citoplasma..... Distribuição irregular da cromatina.....

Contorno irregular do núcleo..... Espessamento irregular da membrana nuclear.....

Nucléolos aberrantes..... Mitoses anormais.....

Pleomorfismo celular..... Canibalismo.....

Anisonucleose..... Orangiofilia: disqueratose.....

Padrão anormal de agrupamentos celulares..... Diátese tumoral.....

Interpretação/Diagnóstico

Negativa para lesão intraepitelial ou malignidade ()

Células escamosas atípicas de significado indeterminado ()

Células escamosas atípicas de significado indeterminado não se pode excluir HSIL ()

Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau ()

Lesão intraepitelial escamosa de alto grau ()

Carcinoma escamoso invasor ()