

Comparação entre citologia anal, colposcopia anal e genotipagem do HPV por reação em cadeia da polimerase no seguimento pós-operatório de condiloma acuminado

Comparison between anal cytology, high-resolution anoscopy and HPV DNA genotyping by polymerase chain reaction in the post-treatment follow-up of condylomata acuminata

LUIS ROBERTO NADAL, TCBC-SP¹; SARHAN SYDNEY SAAD¹; GASPAR JESUS LOPES FILHO, TCBC-SP¹; HELENA PASSARELLI GIROUD JOAQUIM²; THIAGO DA SILVEIRA MANZIONE, TCBC-SP³; CARMEN RUTH MANZIONE, TCBC-SP³; SIDNEY ROBERTO NADAL, TCBC-SP³.

R E S U M O

Objetivo: avaliar a presença de lesões anais subclínicas HPV-induzidas com citologia anal, colposcopia anal e genotipagem de HPV por reação em cadeia da polimerase (PCR) no seguimento de condilomas anais tratados. **Método:** foram incluídos 79 pacientes do sexo masculino. Após um mês da erradicação de lesões condilomatosas anais, os participantes voltaram em consulta para coleta de amostras com escova para citologia anal e PCR, e colposcopia anal com biópsia de lesões acetobranças. Os métodos de detecção das lesões foram comparados entre os pacientes e entre grupos, de acordo com o status de infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV): HIV-negativo; HIV-positivo com TCD4 acima ou abaixo de 350 células/mm³. **Resultados:** os tipos de HPV mais frequentes foram 6 e 16. Infecção pelo HIV foi associada a maior número de tipos de HPV oncogênicos ($p=0,038$). Todos os pacientes com PCR negativo apresentaram colposcopia e citologia negativos. Não houve diferença nos achados citológico, colposcópico ou histopatológico entre grupos. **Conclusão:** a associação dos achados citopatológico, colposcópico e PCR melhorou a acurácia do diagnóstico de lesões anais HPV-induzidas. O grau de imunodeficiência não foi associado a maior frequência de lesões anais HPV-induzidas remanescentes.

Palavras chave: Testes de DNA para Papilomavirus Humano. Condiloma Acuminado. Neoplasia do Ânus. Reação em Cadeia da Polimerase. Transformação Celular Viral.

INTRODUÇÃO

O Papilomavírus Humano (HPV) é o agente etiológico mais comum de infecções sexualmente transmissíveis (IST)¹. É o responsável por lesões anorretais como condiloma acuminado (CA), carcinoma espinocelular (CEC) e seu precursor, a neoplasia intraepitelial^{1,2}. O CA é geralmente a primeira manifestação clínica dessa IST e desencadeia a investigação diagnóstica e o tratamento de infecções simultâneas, como a do Vírus da Imunodeficiência Humana (*Human Immunodeficiency Virus* - HIV).

Os métodos de tratamento para o CA são potencialmente caros, longos e não isentos de complicações. As taxas de recidiva chegam a até 88%, dependendo do tratamento utilizado^{2,3}. Os tipos de HPV 6 e 11, de baixo risco oncogênico responsáveis pela maioria dos casos de CA, geralmente em até

50% das vezes⁴ estão envolvidos em coinfeção com múltiplos tipos de HPV, incluindo os de alto risco ligados aos cânceres anogenitais⁴⁻⁶. O tratamento do CA não erradica o vírus da região^{2,3} e a coinfeção com tipos oncogênicos de HPV, principalmente HPV 16, pode ser considerada um fator de risco para desenvolvimento de CEC anal^{1,7}. O seguimento pós-erradicação das lesões visa além de prevenir a recidiva, triar pacientes de risco para precursores de CEC.

Há discordância a respeito dos exames a realizar durante esse acompanhamento. Da mesma maneira, na triagem preconizada para a lesão precursora do CEC anal, a neoplasia intraepitelial anal (NIA), que inclui citologia anal, colposcopia anal⁶ e, mais recentemente, métodos de genotipagem do HPV, autores divergem quanto ao exame mais confiável².

O método ideal para o rastreamento de lesões precursoras de CEC anal segundo a maioria dos autores

1 - UNIFESP - Escola Paulista de Medicina, Pós-Graduação em Ciência Cirúrgica Interdisciplinar - São Paulo - SP - Brasil 2 - Universidade de São Paulo, Laboratório de Investigação Médica 27 - São Paulo - SP - Brasil 3 - Instituto de Infectologia Emilio Ribas, Equipe Técnica de Proctologia - São Paulo - SP - Brasil

é a colposcopia anal, devido à alta incidência de falsos negativos na citologia anal². Outros afirmaram que a associação dessa com citologia adiciona efetividade³. Já foram avaliados testes de genotipagem de DNA do HPV, também⁴. No entanto, nenhum estudo incluiu o uso desses métodos como seguimento da CA para reduzir a recorrência de verrugas. A literatura atualizada não esclarece qual é o melhor exame, isolado ou em associação, para detectar lesões subclínicas remanescentes, bem como se o estado imunológico pode predispor a maior número de lesões displásicas de alto grau.

Nosso objetivo é avaliar se a associação da citologia anal, da colposcopia anal e da genotipagem do HPV por reação em cadeia da polimerase (PCR) aumenta a sensibilidade do diagnóstico de lesões subclínicas HPV-induzidas remanescentes nos homens que fazem sexo com homens (HSH), bem como verificar se a genotipagem de HPV por PCR tem achados semelhantes à associação entre os exames colpo e citológicos. Além disso, determinar se o grau de imunodeficiência está associado ao aumento de lesões anais HPV-induzidas remanescentes.

MÉTODOS

Setenta e nove pacientes do sexo masculino e maiores de 18 anos oriundos do ambulatório de Proctologia da instituição, incluídos na pesquisa de maneira consecutiva após tratamento de condilomas de margem e/ou canal anal entre junho de 2015 e junho de 2017. O atual estudo foi aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa do sob os CAAE 67182316.6.0000.0061 e 67182316.6.3001.5505, e números de parecer 2.274.432 e 2.336.126.

Foram excluídos doentes em tratamento com quimio e/ou radioterapia ou, com tratamento cirúrgico ou radioterápico prévio para carcinoma espinocelular da região anorretal, além dos indivíduos HIV-positivo não usando ou com uso irregular de terapia antirretroviral.

Três grupos de indivíduos foram constituídos de acordo com o *status* imunológico: (I) 20 HIV-negativo com média de idade 34,3 anos; (II) 40 HIV-positivo com contagem de linfócitos T CD4 acima de 350 células/mm³, média de idade 39,2 anos; (III) 19 HIV-positivo com T CD4 abaixo de 350 células/mm³, média de idade 45,8 anos. Houve diferença entre os grupos quanto à idade

($p=0,022$).

O tratamento foi realizado de acordo com o protocolo da instituição descrito por Manzione *et al.*³ após retirada de amostra para confirmação histopatológica de CA, até quatro aplicações semanais de creme de podofilina a 25% em vaselina sólida nas lesões externas à linha pectínea ou de ácido tricloroacético (ATA) a 90% nas lesões craniais à mesma. As verrugas residuais foram submetidas à ressecção cirúrgica, sob anestesia local ou bloqueio raquimedular, com tesoura e eletrocauterização dos pontos de sangramento e das lesões diminutas. Pacientes sem sinais clínicos de doença após 30 dias do tratamento inicial foram incluídos no estudo, recebendo as informações adequadas e assinando Termo de Consentimento Livre e Esclarecido antes da coleta das amostras.

Logo após a inspeção estática da margem anal e confirmação de ausência de lesões, três amostras foram coletadas com introdução de escova para raspado de células do canal até quatro centímetros da borda anal em movimentos de rotação e girada por cinco vezes.

A primeira amostra foi estocada em tubo *ThinPrep* com 20 mL de solução *PreservCyt* (Hologic, EUA). Para realização do teste de presença do DNA viral, preparamos a amostra de acordo com o protocolo QIAmp DNA Mini Kit (Qiagen, Japão). Para amplificação do DNA viral foi utilizado o sistema *GeneAmp PCR System 9700* (Perkin-Elmer, EUA) utilizando o kit comercial *Linear Array HPV Genotyping Test* (Roche Diagnostics, EUA). Amostras que amplificaram DNA do HPV no PCR, mas não hibridizaram com algum tipo viral específico, foram categorizadas como infecções não classificadas. Classificamos como HPV oncogênico os tipos 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 50, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 e 82⁵. Os demais denominamos não-oncogênicos. Não foi possível a realização do estudo genotípico em quatro amostras devido a indisponibilidade de kits para tal. Foram, entretanto, utilizados seus dados para análise das demais variáveis.

As outras 2 amostras obtidas tiveram seu material depositado em lâmina de vidro e fixado imediatamente em solução de etanol, e seguiram para coloração por Papanicolaou e análise por dois citopatologistas da instituição. Foi considerado sempre o maior grau de displasia observado nas duas amostras.

Em seguida foi realizada a colposcopia anal utilizando colposcópico KLP 210 (Kolplast, São Paulo, Brasil). Todos os exames foram realizados pelo mesmo profissional. Após inspeção inicial, aplicou-se solução de ácido acético 3% à pele perianal. Em dois a três minutos o exame foi feito com magnificação em busca de lesões esbranquiçadas que contrastassem com o epitélio escamoso adjacente, denominadas acetobranças. A diferenciação de lesões cicatriciais foi feita pelo uso da solução de azul de toluidina a 1%, que permite melhor definição dos contornos da lesão. Em seguida, foi localizada a linha pectínea por anuscopia e aplicada solução de ácido acético a 3% por dois minutos, com posterior pesquisa de lesões acetobranças do canal anal, com o colposcópico. Todas as lesões acetobranças foram consideradas exame positivo e biopsiadas para confirmação histológica.

Seguimos a classificação *Low Anogenital Squamous Terminology* (LAST)⁵, utilizando como normal a ausência de lesão citológica, e positivos os outros achados citopatológicos (ASCUS, ASC-H, LSIL e HSIL). Já os achados histopatológicos foram considerados normais quando da presença de processo inflamatório crônico inespecífico, e positivo na presença de LSIL e HSIL. Duas amostras foram extraviadas e, portanto, excluídas desta estatística.

Denominamos exame Colpocitológico a associação entre colposcopia e citologia anais. Indivíduos com qualquer lesão à colposcopia e/ou lesão de à citologia anal foram agrupados como Colpocitológico Positivo, enquanto ambos exames normais, Colpocitológico Negativo. A sensibilidade dos métodos foi analisada utilizando como padrão-ouro o achado histopatológico de biópsias guiadas por colposcopia.

Análise estatística foi realizada utilizando SPSS v.22 (IBM Analytics, EUA), com testes de correlações simples Qui-Quadrado para variáveis categóricas e correlação de Pearson ou t de Student para as contínuas, com intervalo de confiança de 95%. À presença de diferença estatística, adicionamos teste *Post-hoc* de Bonferroni. Os métodos diagnósticos foram comparados entre si por meio do índice Kappa de Cohen, avaliando a concordância segundo os critérios de Landis e Koch⁶.

RESULTADOS

Não houve diferença entre grupos quando

comparados pela citologia, colposcopia (Tabela 1) ou biópsias guiadas (Tabela 2). Quarenta e seis (58,2%) colposcopias encontraram lesões acetobranças, submetidas a biópsia. Foram detectados LSIL em 26 (59,1%) dos exames histopatológicos e HSIL em 2 (4,5%), ambos em indivíduos HIV-positivo, um em cada grupo.

Tabela 1. Frequência total dos achados de citologia com escova e colposcopia anais no seguimento de um mês pós-tratamento de lesões condilomatosas de margem elou canal anal.

Citologia Anal	GRUPO			p
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	
Achado				
Inconclusivo	0 (0,0%)	3 (7,5%)	0 (0,0%)	
Normal	4 (20,0%)	9 (22,5%)	5 (26,3%)	
ASCUS	6 (30,0%)	3 (7,5%)	3 (15,8%)	0,390
LSIL	10 (50,0%)	22 (55,0%)	11 (57,9%)	
ASC-H	0 (0,0%)	2 (5,0%)	0 (0,0%)	
HSIL	0 (0,0%)	1 (2,5%)	0 (0,0%)	
Colposcopia anal - Local do achado				
Normal	9 (45,0%)	15 (37,5%)	9 (47,4%)	
Margem	1 (5,0%)	3 (7,5%)	1 (5,3%)	
Canal	7 (35,0%)	17 (42,5%)	6 (31,6%)	0,980
Canal + Margem	3 (15,0%)	5 (12,5%)	3 (15,8%)	
Total	20 (25,3%)	40 (50,6%)	19 (24,1%)	79 (100%)

ASCUS – Atypical squamous cells of undetermined significance (*Células escamosas atípicas de significado indeterminado*); LSIL – Low grade squamous intraepithelial lesion (*Lesão escamosa intraepitelial de baixo grau*); ASC-H – Atypical squamous cells-cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion (*células escamosas atípicas – não é possível excluir lesão escamosa intraepitelial de alto grau*); HSIL – High grade squamous intraepithelial lesion (*Lesão escamosa intraepitelial de alto grau*).

Nota: p referente a teste estatístico de tabulação cruzada com Qui-Quadrado de Pearson.

Tabela 2. Frequência dos achados de Colposcopia de margem e canal anal de acordo com a presença de carga viral sérica do HIV no seguimento de um mês pós-tratamento de lesões condilomatosas de margem e/ou canal anal.

Biopsia guiada Achado	GRUPO			p
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	
PICI	2 (20,0%)	6 (24,0%)	3 (33,3%)	0,896
Condiloma	1 (10,0%)	3 (12,0%)	1 (11,1%)	
LSIL	7 (70,0%)	15 (60,0%)	4 (44,4%)	
HSIL	0 (0,0%)	1 (4,0%)	1 (11,1%)	
Total	10 (22,7%)	25 (56,8%)	9 (20,5%)	44 (100%)

PICI – Processo Inflamatório Crônico Inespecífico; LSIL – Low grade squamous intraepithelial lesion (Lesão escamosa intraepitelial de baixo grau); HSIL – High grade squamous intraepithelial lesion (lesão Intraepitelial escamosa de alto grau).

Nota: p referente a teste estatístico de tabulação cruzada com Qui-Quadrado de Pearson.

DNA do HPV foi isolado em 92% dos doentes. Desses, 85% teve mais de um tipo viral e, desses, cerca de 76% tinham ao menos um tipo oncogênico. Foram identificados 35 tipos de HPV, sendo 6 e 16 os mais frequentes, isolados em 33,3% e 29,3% dos pacientes, respectivamente. Além do 16, foram encontrados quatro tipos oncológicos diferentes: 52, 53, 58 e 68. Não houve diferença na frequência dos tipos de vírus entre os grupos, com exceção dos tipos 62 e 81, ambos encontrados em 21% dos indivíduos do grupo III e em menos de 5% dos demais (ambos p=0,040). A presença dos tipos oncogênicos foi semelhante conforme o status da infecção pelo HIV (p=0,102) (Tabela 3).

Não houve diferença total ou entre os grupos (p=0,468) (Tabela 4), comparando citologia e colposcopia, e concordância Kappa-Cohen ruim (κ=0,155). Nenhum dos pacientes com HSIL histológico apresentou HSIL citológico. Trinta pacientes (40,5%) apresentaram Colpocitológico negativo, sem diferença entre os grupos (p=0,467).

Tabela 3. Frequência total dos achados de Genotipagem do Papilomavirus Humano pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) por coleta com escova no seguimento de um mês pós-tratamento de lesões condilomatosas de margem e/ou canal anal em 75 pacientes.

PCR Achado	GRUPO			Total	p
	Grupo I	Grupo II	Grupo III		
Negativo	3 (17,6%)	3 (7,7%)	0 (0,0%)	6 (8,0%)	0,102
Não oncogênico	5 (29,4%)	5 (12,8%)	2 (10,5%)	12 (16,0%)	
Oncogênico	9 (52,9%)	31 (79,5%)	17 (89,5%)	57 (76,0%)	
Total	17 (22,7%)	39 (52,0%)	19 (25,3%)	75 (100%)	

Nota: p referente a teste estatístico de tabulação cruzada com Qui-Quadrado de Pearson.

Tabela 4. Comparação entre os achados de citologia do canal anal com escova e de Colposcopia de margem e canal anal no seguimento de um mês pós-tratamento de lesões condilomatosas de margem e/ou canal anal.

Grupo	Colposcopia Positiva		Colposcopia Negativa		Total	p
	Citologia Positiva	Citologia Negativa	Citologia Positiva	Citologia Negativa		
I	8	3	8	1	20 (26,3%)	0,468
II	21	4	6	6	37 (48,7%)	
III	8	3	5	3	19 (25,0%)	
Total	37 (48,7%)	10 (13,2%)	19 (25,0%)	10 (13,2%)	76 (100%)	

Nota: p referente a teste estatístico de tabulação cruzada com Qui-Quadrado de Pearson.

Avaliando os resultados de Exame Colpocitológico e PCR, houve concordância Kappa-Cohen moderada ($\kappa=0,286$), e diferença nas frequências encontradas no grupo III em relação aos outros grupos ($p=0,042$). Não houve colposcopia ou citologia positivas quando a PCR foi negativa. Da mesma forma, todos as

45 colposcopias positivas apresentaram tipos virais na PCR (Tabela 5), e os dois únicos casos de HSIL histológico tinham HPV oncogênico.

Sensibilidade, especificidade, valores preditivos negativos e positivos e acurácia dos métodos neste estudo são comparados na tabela 6.

Tabela 5. Comparação entre a presença de tipos oncogênicos do HPV detectados pela PCR e o achado de lesões anais de alto grau colpocitológicas anais no seguimento de um mês pós-tratamento de lesões condilomatosas de margem e/ou canal anal.

Grupo	Colpocitológico Anal Positivo			Colpocitológico Anal Negativo			<i>p</i>
	PCR-O	PCR-NO	PCR-N	PCR-O	PCR-NO	PCR-N	
I	7 (41,2%)	2 (11,8%)	0 (0,0%)	2 (11,8%)	3 (17,6%)	3 (17,6%)	0,042
II	24 (63,2%)	2 (5,3%)	0 (0,0%)	7 (18,4%)	2 (5,3%)	3 (7,9%)	
III	8 (42,1%)	2 (10,5%)	0 (0,0%)	9 (47,4%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	
Total	39 (52,7%)	6 (8,1%)	0 (0,0%)	18 (24,3%)	5 (6,8%)	6 (8,1%)	74

Nota: PCR-O – HPV tipo Oncogênico à Genotipagem pela PCR; PCR-NO - HPV tipo Não-Oncogênico à Genotipagem pela PCR; PCR-N – Ausência de DNA do HPV à Genotipagem pela PCR.

Nota: *p* referente a teste estatístico de tabulação cruzada com Qui-Quadrado de Pearson e teste Post-hoc de Bonferroni.

Tabela 6. Comparação entre métodos diagnósticos no seguimento de um mês pós-tratamento de lesões condilomatosas de margem e/ou canal anal.

	Citologia	Colposcopia	Colpocitológico	PCR	Colpocitológico + PCR
Sensibilidade	84,9%	100%	100%	100%	100%
Especificidade	29,5%	75%	73,2%	14,3%	14,6%
VPP	46,5%	75%	75%	46,3%	46,9%
VPN	72,2%	100%	100%	100%	100%
Acurácia	52,2%	85,7%	85,1%	50,7%	51,4%

PCR – polymerase chain reaction (reação em cadeia da polimerase); VPP – Valor Preditivo Positivo; VPN – Valor Preditivo Negativo.

DISCUSSÃO

A presente pesquisa teve como objetivo comparar a genotipagem do HPV por PCR com a citologia, colposcopia e biópsia guiada após um mês de erradicação do CA de margem e canal anal. A literatura disponível descreve os exames como diagnósticos de lesões escamosas intraepiteliais ou condilomas, ou como uma triagem para LSIL/HSIL e CEC. Para nosso conhecimento, este é o primeiro estudo exclusivamente com avaliação de acompanhamento de pacientes tratados por condiloma perianal.

Até o momento, não há consenso quanto a seguimento após a erradicação do CA. As diretrizes não concordam com o momento do primeiro exame ou periodicidade das consultas, geralmente variando de 3 a 6 meses^{1,7}. O acompanhamento da SIL pode ser mencionado, uma vez que essas lesões compartilham fatores de etiologia com CA. Em sua última atualização de diretrizes, a Sociedade Americana de Cirurgiões de Cólon e Retal (ASCRS)⁶ e o consenso alemão-austríaco⁴ recomendam que as SIL sejam seguidas a cada três ou seis meses de acordo com o tipo de displasia apresentada. No entanto, essas publicações divergem

dos protocolos seguidos por institutos com grande experiência no tratamento do HPV anal dentro dos Estados Unidos⁸⁻¹¹. Devido à dificuldade de diferenciar lesões remanescentes de recidivas e de reinfecção, nosso grupo acredita que 30 dias é um intervalo mais adequado para a avaliação da recorrência de lesões subclínicas, e indicamos estes exames de seguimento precocemente após a erradicação das lesões condilomatosas visíveis³. É um período de convalescença, no qual é improvável que o paciente seja reinfecção, uma vez que ainda não teve relações sexuais após o tratamento, e a cicatrização da ferida é madura o suficiente para que as cicatrizes não possam ser confundidas por lesões virais¹².

O HIV, além dos efeitos conhecidos sobre a imunidade sistêmica, também reduz a imunidade perianal local¹². A introdução da TARV, e sua disponibilidade no sistema público de saúde brasileiro, permitiu que o aumento da sobrevivência dos sujeitos HIV-positivo demonstrasse os efeitos da infecção crônica pelo HPV¹³⁻¹⁵. Apesar do esperado, a TARV não parece estar associada a uma redução do risco para CEC. Pelo contrário, já foi descrito um aumento progressivo da incidência de CEC anal em indivíduos com fatores de risco, atingindo valores semelhantes aos da CEC do colo uterino antes da introdução do rastreio pelo teste Papanicolaou^{6,14-16}. Nesta população, a progressão da infecção latente do HSIL pode chegar a 50% em dois anos, e o risco de progressão para câncer invasivo com risco de morte 10-50%^{6,7}.

A população HSH com imunossupressão, incluindo os indivíduos portadores de HIV, está em risco aumentado para o CEC anal e seus precursores^{17,18}. Esse risco aumenta quando o indivíduo apresenta verrugas anais¹⁹. Como o índice de recidiva das lesões verrucosas é alto, e há recomendações quanto à triagem para CEC, optamos por seguir esses pacientes após o tratamento inicial.

Em nosso estudo, os participantes HIV-positivo são mais velhos que os soronegativos. Creditamos esse fato às peculiaridades do atendimento no serviço: os indivíduos soropositivos são já seguidos desde seus diagnósticos iniciais do HIV no ambulatório de Infectologia e encaminhados para a Proctologia ao apresentarem lesões perianais, enquanto os soronegativos foram encaminhados da rede básica de

atendimento para nosso ambulatório. Alguns autores relatam que as taxas de infecção pelo HPV em homens permanecem estáveis ao longo da vida²⁰, bem como altos níveis de atividade sexual com novos parceiros podem contribuir para a alta prevalência e não redução de infecções anal de HPV em homens mais velhos que fazem sexo com homens²¹. Portanto, mais do que apenas infecção persistente, esses indivíduos têm altas taxas de HPV recém-adquirido²¹.

Conforme mostrado na tabela 2, o exame histopatológico confirmou o diagnóstico de SIL em 73,2% das lesões acetobranças colposcópicas, valor semelhante ao encontrado na literatura¹². Dados de revisão de Schim van der Loeff *et al.*¹⁸ em 2014 citaram taxas de incidência de HSIL entre 3,3% em soronegativos para HIV e 15,4% em HSH HIV positivo, percentuais próximos aos nossos resultados. Apesar das diferenças dentro dos respectivos grupos, o número desses achados foi muito baixo para diferença estatística e para basear tomada de conduta.

Confrontados os laudos citopatológicos com as características colposcópicas dos indivíduos, tivemos correlação em cerca de metade (53,3%) dos casos. Destes, 20% também apresentaram PCR negativa. A sensibilidade deste último método, próximo de 90%²², e 100% neste estudo, é maior do que a sensibilidade da citologia anal, descrita como de 75%^{22,23} e vista em nossas estatísticas como 84,9%. Uma contribuição interessante para o acompanhamento pós-tratamento pode ser feita pela introdução da PCR quando consideramos que o padrão-ouro, a biópsia guiada por colposcopia, ainda não está disponível para grande parte da população que poderia se beneficiar dela.

O achado do HPV 6 como o tipo viral mais frequente corrobora com os achados anteriores, pois os voluntários deste estudo foram previamente tratados por condilomas perianais²⁴. O tipo 16, mais frequentemente associado às neoplasias induzidas pelo HPV, foi encontrado em cerca de 29% dos indivíduos, percentuais próximos aos 39% observados por Nishijima *et al.*¹⁴, e 31,5% por Hidalgo-Tenorio *et al.*²², ambos durante a triagem de CEC.

Os pacientes com HIV apresentaram maior incidência de tipos oncogênicos independentemente da contagem de CD4, de acordo com o grupo da

Universidade de San Francisco^{25,26}. Encontramos semelhança com esse grupo ao comparar o HPV oncogênico, em apenas 35,3% dos soronegativos para HIV, com diferença para HIV-positivo.

Não foram diagnosticados os tipos de HPV das lesões tratadas antes da inclusão dos voluntários no estudo, o que, juntamente com o pequeno tamanho amostral, pode ser um fator limitante do presente estudo. No entanto, como demonstrado por vários autores^{24,26}, o agente etiológico do condiloma anal é o HPV, e esse fato autoriza a omissão do isolamento desse vírus para o tratamento e a presunção de que o paciente com essa lesão verrucosa é portador do vírus na região. Além disso, o tratamento não muda de acordo com o tipo de vírus. D'Ambrogio *et al.*²⁴ relatam que os tipos virais 6 e 11 estão mais relacionados à recorrência do condiloma. Nesse contexto, supõe-se que a detecção de certos tipos na PCR pós-tratamento sugere um acompanhamento mais próximo dos pacientes em que foram detectados. Portanto, a sequência desta pesquisa deve trazer tais respostas.

Encontramos uma grande correlação entre os exames colpocitológicos e PCR negativos. A literatura relata valor preditivo negativo (VPN) até 100% para PCR na detecção de infecção do canal anal pelo HPV²². Este exame parece ser promissor na exclusão da doença local por esse vírus, tanto na triagem para CEC quanto no acompanhamento da doença HPV-induzida pós-erradicação. Pode-se considerar que os pacientes sejam inicialmente acompanhados com PCR, após 30 dias de erradicação das lesões, reservando colposcopia para os casos positivos.

Houve semelhança entre os achados histopatológicos e genotípicos de HPV. O VPN da PCR neste estudo foi de 100%, e apesar da baixa casuística, devemos considera-lo para descartar lesões HPV-induzidas remanescentes na seleção de pacientes para realizar Colposcopia Anal. Estudo de seguimento desses indivíduos pode sugerir, também, se um exame negativo do DNA do HPV tem influência na recidiva de lesões e, em consequência, modificar o seguimento oferecido para os mesmos.

Realizamos Colposcopia Anal em todos os pacientes do estudo como forma de controle de erradicação pós-tratamento. Para aqueles que são

encaminhados para rastreamento, esta não é a prática habitual do nosso serviço de Proctologia. Nesses casos, coletamos duas amostras com escova de canal anal para citologia. Existe recomendação para colposcopia anal para os pacientes com achados diferentes de citologia normal, ou seja, indivíduos com achados citológicos de HSIL, LSIL, ASC-H e ASCUS²⁷. Se os recursos locais forem limitados, o HSIL e o ASC-H têm prioridade sobre outras descobertas²⁷.

Pacientes que apresentam lesões sugestivas de infecção pelo HPV do canal anal são considerados portadores do vírus no local²⁸. Na ausência de lesões clínicas e colposcópicas no primeiro exame no seguimento pós-erradicação, nossa opção atual é seguir apenas com exame citológico. Repetimos o exame apenas se encontrarmos lesões citológicas de alto grau. Porém, como podemos ver na casuística desde estudo e nos demais da equipe de nosso Instituto, há discordância entre os achados citológicos e colposcópicos. Esperamos que a detecção do HPV pela PCR venha ajudar na triagem dos indivíduos para realizar o exame colposcópico no seguimento pós-erradicação de condilomas, melhorando as falhas do nosso protocolo em curso.

O acompanhamento periódico desses pacientes pode trazer mais informações sobre a eliminação do vírus após o tratamento ablativo local e pode auxiliar no estudo do desenvolvimento de lesões induzidas pelo HPV. O conhecimento das características dos indivíduos que desenvolvem lesões de alto grau e aqueles que eliminam a carga viral do HPV é o caminho para o desenvolvimento de protocolos que permitam personalizar o tratamento da infecção da região anal pelo HPV.

CONCLUSÃO

A associação de citologia, colposcopia anais e genotipagem do HPV por PCR aumentou a sensibilidade diagnóstica das lesões HPV-induzidas pós-tratamento do condiloma anal. Além disso, a genotipagem pela PCR tem achados correspondentes aos da colposcopia anal. Em nosso estudo, o grau de imunodeficiência não esteve associada ao aumento das lesões anais HPV-induzidas remanescentes.

Cumprimento de padrões éticos

Financiamento: O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

Conflito de interesses: Os autores declaram que não têm conflito de interesses.

Reconhecimentos: Luisa Lina Villa e Barbara Mello, do Instituto de Pesquisa do Câncer da Universidade de São Paulo pelas análises de DNA do HPV.

ABSTRACT

Aim: to evaluate the presence of subclinical HPV-induced anal lesions with anal cytology, High-Resolution Anoscopy (HRA) and HPV genotyping by polymerase chain reaction (PCR) in the follow-up of treated condylomata acuminata (CA). **Methods:** seventy-nine male patients were included. One month after anal CA eradication, the patients underwent brush samples collection for anal cytology and PCR, and HRA with biopsy of acetowhite lesions. These methods were compared within all patients and between groups, according to Human Immunodeficiency Virus (HIV) infection status: HIV-negative; HIV-positive with TCD4 count above and below 350 cells/mm³. **Results:** the most frequent HPV types were 6 and 16. HPV DNA was isolated in 92%. HIV infection was associated with a higher number of oncogenic HPV types ($p=0.038$). All patients with negative PCR had negative HRA and cytology. There were no differences in cytological, HRA or histopathological findings between groups. **Conclusion:** the association of the findings of cytopathology, HRA and genotyping of HPV refined the diagnosis of HPV-induced lesions. The degree of immunodeficiency was not associated with increase in remnant HPV-induced anal lesions.

Keywords: Papillomavirus Infection. Anal Canal. Condylomata Acuminata. Polymerase Chain Reaction. High-Resolution Anoscopy. Anal Intraepithelial Neoplasia.

REFERÊNCIAS

1. Gormley RH, Kovarik CL. Human papillomavirus-related genital disease in the immunocompromised host: Part I. J Am Acad Dermatol [Internet]. 2012 Jun [cited 2019 Mar];66(6):867.e1-14. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0190962211008140>
2. Vela S, Videla S, Ornelas A, Revollo B, Clotet B, Sirera G, et al. Effectiveness of physically ablative and pharmacological treatments for anal condyloma in HIV-infected men. PLoS One [Internet]. 2018 Aug [cited 2019 Mar];13(8):e0199033. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0199033>
3. Manzione T da S, Nadal SR, Calore EE, Nadal LRM, Manzione CR. Local control of human papillomavirus infection after anal condylomata acuminata eradication. Rev Col Bras Cir [Internet]. 2014 Mar-Apr [cited 2019 Mar];41(2):87-91. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-69912014000200087&lng=en&tlng=em
4. Esser S, Kreuter A, Oette M, Ginkelmaier A, Mosthaf F, Sautter-Bihl M-L, et al. German-Austrian guidelines on anal dysplasia and anal cancer in HIV-positive individuals: prevention, diagnosis, and treatment. J Dtsch Dermatol Ges [Internet]. 2015 Dec [cited 2019 Mar];13(12):1302-19. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/ddg.12726>
5. Alam NN, White DA, Narang SK, Daniels IR, Smart NJ. Systematic review of guidelines for the assessment and management of high-grade anal intraepithelial neoplasia (AIN II/III). Colorectal Dis. 2016;18(2):135-46.
6. Stewart DB, Gaertner WB, Glasgow SC, Herzig DO, Feingold D, Steele SR; Prepared on Behalf of the Clinical Practice Guidelines Committee of the American Society of Colon and Rectal Surgeons. The American Society of Colon and Rectal Surgeons Clinical Practice Guidelines for Anal Squamous Cell Cancers (Revised 2018). Dis Colon Rectum [Internet]. 2018 Jul [cited 2019 Mar];61(7):755-74. Available from: <http://journals.lww.com/00003453-201807000-00002>
7. Siddharthan R, Lanciault C, Tsikitis VL. Anal intraepithelial neoplasia: diagnosis, screening, and treatment. Ann Gastroenterology [Internet]. 2019 May-Jun [cited 2019 Mar];32(3):257-63. Available

- from: <http://www.annalsgastro.gr/files/journals/1/earlyview/2019/ev-02-2019-06-AG4428-0364.pdf>
8. Crawshaw BP, Russ AJ, Stein SL, Reynolds HL, Marderstein EL, Delaney CP, et al. High-resolution anoscopy or expectant management for anal intraepithelial neoplasia for the prevention of anal cancer. *Dis Colon Rectum* [Internet]. 2015 Jan [cited 2019 Mar];58(1):53-9. Available from: <http://content.wkhealth.com/linkback/>
 9. Fazendin EA, Crean AJ, Fazendin JM, Kucejko RJ, Gill HS, Poggio JL, et al. Condyloma Acuminatum, anal intraepithelial neoplasia, and anal cancer in the setting of HIV: do we really understand the risk?. *Dis Colon Rectum* [Internet]. 2017 Oct [Cited 2019 Mar];60(10):1078-82. Available from: <http://journals.lww.com/00003453-201710000-00013>
 10. Chin-Hong PV, Palefsky JM. Natural history and clinical management of anal human papillomavirus disease in men and women infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2002 Nov [cited 2019 Mar];35(9):1127-34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query>.
 11. Echenique I, Phillips BR. Anal warts and anal intradermal neoplasia. *Clin Colon Rectal Surg*. 2011;24(1):31-8.
 12. Messick CA, Rodriguez-Bigas MA. Anal Dysplasia. *Surg Oncol Clin N Am* [Internet]. 2017 Nov [cited 2019 Mar];26(1):33-43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.soc.2016.07.005>
 13. Libois A, Feoli F, Nkuize M, Delforge M, Konopnicki D, Clumeck N, et al. Prolonged antiretroviral therapy is associated with fewer anal high-grade squamous intraepithelial lesions in HIV-positive MSM in a cross-sectional study. *Sex Transm Infect* [Internet]. 2017 Feb [cited 2019 Mar];93(1):15-7. Available from: <http://sti.bmj.com/lookup/doi/10.1136/sextrans-2015-052444>
 14. Nishijima T, Nagata N, Watanabe K, Sekine K, Tanaka S, Kishida Y, et al. HIV-1 infection, but not syphilis or HBV infection, is a strong risk factor for anorectal condyloma in Asian population: A prospective colonoscopy screening study. *Int J Infect Dis* [Internet]. 2015 Aug [cited 2019 Mar];37:70-6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2015.06.009>
 15. Rubinstein PG, Aboulaflia DM, Zloza A. Maligancies in HIV/AIDS: from epidemiology to therapeutic challenges. *AIDS* [Internet]. 2014 Feb [cited 2019 Mar];28(4):453-65. Available from: <http://journals.lww.com/00002030-201402200-00001>
 16. Egawa N, Egawa K, Griffin H, Doorbar J. Human papillomaviruses; Epithelial tropisms, and the development of neoplasia. *Viruses*. 2015;7(7):3863-90.
 17. Machalek DA, Poynten IM, Jin F, Hillman RJ, Templeton D, Law C, Roberts JM, Tabrizi SN, Garland SM, Farnsworth A, Fairley CK, Grulich AE; SPANC study team. A composite cytology-histology endpoint allows a more accurate estimate of anal high-grade squamous intraepithelial lesion prevalence. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2016;25(7):1134-43.
 18. Schim van der Loeff MF, Mooij SH, Richel O, de Vries HJ, Prins JM. HPV and anal cancer in HIV-infected individuals: a review. *Curr HIV/AIDS Rep*. 2014;11(3):250-62.
 19. McCutcheon T, Hawkins AT, Muldoon RL, Hopkins MB, Geiger TM, Ford MM. Progression of anal intraepithelial neoplasia in HIV-positive individuals: predisposing factors. *Tech Coloproctol* [Internet]. 2019 Apr [cited 2019 Mar];23(4):325-32. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s10151-019-01951-w>
 20. Ingles DJ, Lin HY, Fulp WJ, Sudenga SL, Lu B, Schabath MB, et al. An analysis of HPV infection incidence and clearance by genotype and age in men: The HPV Infection in Men (HIM) Study. *Papillomavirus Res* [Internet]. 2015 Dec [cited 2019 Mar];1:126-35. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2405852115000154>
 21. Poynten IM, Machalek D, Templeton D, Jin F, Hillman R, Zablotska I, et al. Comparison of age-specific patterns of sexual behaviour and anal HPV prevalence in homosexual men with patterns in women. *Sex Transm Infect* [Internet]. 2016 May [cited 2019 Mar];92(3):228-31. Available from: <http://sti.bmj.com/lookup/doi/10.1136/sextrans-2015-052032>
 22. Hidalgo-Tenorio C, Rivero-Rodriguez M, Gil-Anguita C, Esquivias J, López-Castro R, Ramírez-Taboada J, et al. The role of polymerase chain reaction of high-risk human papilloma virus in the screening of high-grade squamous intraepithelial lesions in the

- anal mucosa of human immunodeficiency virus-positive males having sex with males. PLoS One. 2015;10(4):e0123590.
23. Nadal SR, Calore EE, Nadal LRM, Horta SHC, Manzione CR. Citologia anal para rastreamento de lesões pré-neoplásicas. Rev Assoc Med Bras [Internet]. 2007 Apr [cited 2019 Mar];53(2):147-51. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-42302007000200020&lng=pt&nrm=iso&tlng=PT
24. D'Ambrogio A, Yerly S, Sahli R, Bouzourene H, Demartines N, Cotton M, et al. Human papilloma virus type and recurrence rate after surgical clearance of anal condylomata acuminata. Sex Transm Dis. 2009;36(9):536-40.
25. Berry JM, Palefsky JM, Jay N, Cheng SC, Darragh TM, Chin-Hong PV. Performance characteristics of anal cytology and human papillomavirus testing in patients with high-resolution anoscopy-guided biopsy of high-grade anal intraepithelial neoplasia. Dis Colon Rectum. 2009;52(2):239-47.
26. Berry JM, Jay N, Palefsky JM, Welton ML. State-of-the-Art of high-resolution anoscopy as a tool to manage patients at risk for anal cancer. Semin Colon Rectal Surg [Internet]. 2004 Dec [cited 2019 Mar];15(4):218-26. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1043148905000345>
27. Krishnamurti U, Unger ER. Pathobiology of human papillomaviruses in human immunodeficiency virus – Infected persons. Semin Diagn Pathol [Internet]. 2017 Jul [cited 2019 Mar];34(4):364-70. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0740257017300461>
28. Gal AA, Meyer PR, Taylor CR. Papillomavirus antigens in anorectal condyloma and carcinoma in homosexual men. JAMA. 1987;257(3):337-40.

Recebido em: 26/03/2019

Aceito para publicação em: 15/05/2020

Conflito de interesses: não.

Fonte de financiamento: nenhuma.

Endereço para correspondência:

Luis Roberto Nadal

E-mail: lrnadal@gmail.com

