

CINTIA MAYUMI SAKURAI KIMURA

**O papel do teste de detecção de HPV de alto risco no
rastreamento do câncer de ânus**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de Ciências em Gastroenterologia

Orientador: Prof. Dr. Sergio Carlos Nahas
Co-orientador: Dr. Caio Sergio Rizkallah Nahas

**São Paulo
2021**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Kimura, Cintia Mayumi Sakurai

O papel do teste de detecção de HPV de alto risco
no rastreamento do câncer de ânus / Cintia Mayumi
Sakurai Kimura. -- São Paulo, 2021.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.

Programa de Ciências em Gastroenterologia.

Orientador: Sergio Carlos Nahas.

Coorientador: Caio Sergio Rizkallah Nahas.

Descritores: 1.Infecções por Papilomavírus
2.Neoplasias do ânus 3.Testes de DNA para
Papilomavírus humano 4.Detecção precoce de câncer
5.Anuscopia de alta resolução 6.Neoplasia
intraepitelial anal

USP/FM/DBD-140/21

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Dedicatória

Aos pacientes,
A razão principal pela qual busco a excelência na prática
da Medicina.

Ao meu marido, Gustavo,
Que me motiva a ser uma pessoa melhor a cada dia.

Aos meus pais, Sumi e Kenji,
Pelo apoio e incentivo incondicionais ao meu crescimento
pessoal e profissional.

Aos meus avós, tias e tios,
Por terem contribuído para a pessoa que hoje sou.

Agradecimientos

A conclusão desta tese é uma grande conquista na minha carreira, que certamente só pôde ser alcançada com o apoio de instituições e pessoas incríveis, verdadeiros gigantes sobre cujos ombros pude me apoiar e que me fizeram enxergar mais longe do que eu jamais achei que seria possível.

Em especial, gostaria de agradecer ao **Prof. Dr. Sergio Carlos Nahas**, que é não apenas o meu orientador, mas também meu mentor e a quem eu devo muito da minha formação como coloproctologista e como pessoa. Obrigada pela confiança, pela amizade e por me ensinar na prática o valor da formação acadêmica, sendo sempre um exemplo de liderança e humanidade.

Ao **Prof. Dr. Caio Sergio Rizkallah Nahas**, meu co-orientador, pelo incentivo e empenho na minha formação pessoal e profissional. Obrigada por estar sempre disponível e sempre contribuindo de forma valiosa para todos os trabalhos que desenvolvi desde meu ingresso na residência de Coloproctologia.

Ao querido **Dr. Edésio Vieira da Silva-Filho**, pela amizade, pelo carinho, e pela dedicação incansável aos pacientes do ambulatório e ao meu aprendizado. Obrigada por ter me auxiliado em todas as etapas deste trabalho e pelo companheirismo durante todos esses anos.

À Divisão de Anatomia Patológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), em especial à **Profa. Dra. Sheila Aparecida Coelho Siqueira** e à **Dra. Danielle Azevedo Chacon**, sem as quais este trabalho não teria sido possível. Obrigada por todos os ensinamentos e contribuições.

À Divisão de Laboratório Central do HCFMUSP, em especial ao **Prof. Dr. Flávio Ferraz de Paes e Alcântara**, **Prof. Dr. João Renato Rebello Pinho**, **Dra. Carolina dos Santos Lázari** e ao **Sr. Nazareno Carvalho**, cujas contribuições foram mais do que essenciais para que este projeto se concretizasse.

Ao **Dr. Fabio César Atuí**, por ter me acolhido no ambulatório desde o início e por tanto ter me ensinado sobre HPV e relação médico-paciente.

Ao **Dr. Vinícius Lacerda Ribeiro**, pela amizade desde os tempos de residência, pelo apoio durante todo o desenvolvimento deste projeto e pelo companheirismo na rotina do ambulatório.

À equipe de enfermagem do ambulatório de Doenças Sexualmente Transmissíveis Anorretais do HCFMUSP, **Gilvania**, **Alcione**, **Luci**, **Maria**,

Leandra, Viviane, Darcínia, pela dedicação ao ambulatório e aos pacientes e por todo o carinho e ajuda durante os atendimentos.

Ao **Dr. Fábio Shiguehissa Kawaguti**, por ter me estimulado a me dedicar a pesquisa, estando sempre disponível para tirar as minhas dúvidas, me orientando incansavelmente em diversos projetos e sempre me incentivando a ir mais longe.

Às amigas do Departamento de Cirurgia do Aparelho Digestivo, **Dra. Mariane Gouvea Monteiro de Camargo, Dra. Renata Andrea Silva Santos, dra. Érica Sakamoto e Dra. Aline Mendes Paiva**, pela amizade e pela companhia no dia a dia, em cafés, almoços, viagens e congressos.

Ao **Dr. Leonardo Bustamante, Dra. Natally de Souza Maciel Rocha Horvat, Dr. José Américo Bacchi Hora, Dr. Afonso Henrique Sousa e Dr. Diego Soares** pela amizade, pelo apoio e incentivo para que eu concluísse este trabalho e pelas importantes contribuições para a minha formação.

Aos **Professores Carlos Frederico Sparapan Marques, Rodrigo Âmbar Pinto, José Márcio Neves Jorge, Magaly Gemio Teixeira, Sérgio Eduardo Alonso Araújo, Carlos Walter Sobrado Júnior, Marcelo Rodrigues Borba e Fábio Guilherme Campos** do Serviço de Cirurgia do Cólon e Reto do HCFMUSP, por todos os ensinamentos durante a minha formação em cirurgia colorretal. Foi um privilégio inigualável ter tido a oportunidade de realizar meu treinamento com profissionais tão brilhantes.

Aos **Professores Ivan Cecconello, José Jukemura, Fauze Maluf-Filho, Adriana Safatle-Ribeiro, Flavio Roberto Takeda, Paulo Herman, Marco Aurélio Santo, Bruno Zilberstein, Telésforo Bacchella, Luiz Augusto Carneiro D'Albuquerque e Ulysses Ribeiro Jr.**, pelas valiosas contribuições para a minha formação em Cirurgia do Aparelho Digestivo.

À **Sra. Vilma Libério**, por toda a paciência e suporte durante a elaboração desta tese.

Ao querido **Prof. Dr. Laércio Gomes Lourenço**, por ter fomentado meu gosto pela pesquisa acadêmica, me dando a oportunidade de participar do meu primeiro congresso internacional e por estar sempre vibrando com as minhas conquistas.

Aos professores do Colégio Etapa, que me ensinaram a sempre buscar o máximo do meu potencial. Em especial, ao **Prof. Rodrigo Gouvea**, que me instigou o gosto pela escrita e que se tornou também um grande amigo, com quem aprendi muito sobre a vida além da Medicina.

Aos meus queridos amigos **Júlio César Gagliardi, Mariana Ramos Scolari, Fernanda da Silva Cunha Rodrigues, Luísa Mitsusaki Xavier e Fernanda Ortega Bertella**. Obrigada por estarem sempre na minha vida, nos momentos mais felizes e também nos mais desafiadores, tornando a vida mais leve e sempre me lembrando dos meus valores.

À minha prima **Annelise Yuri Sakurai**, minhas tias **Nilce Hissae Sakurai** e **Alice Yoshiko Kimura**, e meus tios **Erunisto Takashi Sakurai** (in memoriam) e **Marco Hideo Kimura**.

À memória meus queridos avós **Toshiro Sakurai, Takiko Kiyono Sakurai, Kurao Kimura** e **Kiyoko Kimura**.

Aos meus pais, **Sumi e Kenji** e às famílias **Faro e Nunes** por todo o apoio e carinho.

Ao meu melhor amigo e quem eu tenho a sorte de ter como marido, **Gustavo**, pela compreensão, pelo amor incondicional e por estar sempre ao meu lado em todas as minhas, e nossas, conquistas.

“(…) great ideas don’t just unfurl;
They must be sought out,
Not just thought out,
But brought out
Of the best of ourselves. Because, in fact,
Veritas is to act.
(…)

We can give answers as we are reaching for questions
Which suggests *veritas* is not in the knowing, but in the growing
Into both a truth seeker and a truth speaker”

Amanda Gorman. “Making mountains as we run”, 2018.

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO	2
1.1. CONSIDERAÇÕES SOBRE O RASTREAMENTO PARA CÂNCER DE ÂNUS	3
1.2. DESEMPENHO DA CITOLOGIA ANAL PARA DETECÇÃO DE LESÕES ANAIS INTRAEPITELIAIS	6
1.3. TESTES DE DETECÇÃO DE HPV	7
1.4. ANUSCOPIA DE ALTA RESOLUÇÃO (AAR).....	8
1.5. RELEVÂNCIA CLÍNICA	8
1.6. MOTIVAÇÃO E ORIGINALIDADE.....	9
2. OBJETIVOS	11
2.1. OBJETIVO PRIMÁRIO.....	11
2.2. OBJETIVOS SECUNDÁRIOS.....	11
3. MÉTODOS.....	13
3.1. DESENHO	13
3.2. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	13
3.3. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	13
3.4. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	14
3.5. POPULAÇÃO DO ESTUDO	14
3.6. COLETA DE DADOS	15
3.7. EXAMES ESPECÍFICOS	15
3.7.1. <i>Citologia anal</i>	15
3.7.2. <i>Teste de detecção de HPV-AR</i>	17
3.7.3. <i>Anuscopia de alta resolução com biópsia</i>	19
3.8. ESTIMATIVA DE CUSTO	22
3.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	22
4. RESULTADOS	25
4.1. PERFIL DA POPULAÇÃO ESTUDADA	25
4.2. FATORES ASSOCIADOS À PRESENÇA DE HSIL	29
4.3. BIÓPSIAS ALEATÓRIAS.....	31
4.4. RISCO RELATIVO	31
4.5. PERFORMANCE DIAGNÓSTICA.....	33
4.6. ESTIMATIVAS DE CUSTO	38
5. DISCUSSÃO	40

5.1.	PREVALÊNCIA DE HSIL EM DIFERENTES PERFIS DE PACIENTES	40
5.2.	ACHADOS CITOLÓGICOS	43
5.3.	HPV DE ALTO RISCO	44
5.4.	BIÓPSIAS GUIADAS POR ANUSCOPIA DE ALTA RESOLUÇÃO	46
5.5.	PERFORMANCE DIAGNÓSTICA E ANÁLISE DE CUSTOS	47
5.6.	LIMITAÇÕES	53
5.7.	PERSPECTIVAS FUTURAS	53
6.	CONCLUSÃO	55
7.	ANEXOS	57
7.1.	TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	57
8.	REFERÊNCIAS	61

LISTAS

ABREVIATURAS

AAR	Anuscopia de Alta Resolução
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (do inglês: <i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i>)
ASCUS	Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado (do inglês: <i>Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance</i>)
CAPPesq	Comitê de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
DLC	Divisão de Laboratório Central
DP	Desvio Padrão
DSTa	Doenças Sexualmente Transmissíveis anorretais
FDA	<i>Food and Drugs Administration</i>
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana (do inglês: <i>Human Immunodeficiency Virus</i>)
HPV	Papilomavírus Humano (do inglês: <i>Human Papillomavirus</i>)
HPV-AR	Papilomavírus Humano de Alto Risco
HSH	Homens que fazem Sexo com Homens
HSIL	Lesão Intraepitelial Escamosa de Alto Grau (do inglês: <i>High-grade Squamous Intraepithelial Lesion</i>)
ICHC-FMUSP	Instituto Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
LSIL	Lesão Intraepitelial Escamosa de Baixo Grau (do inglês: <i>Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion</i>)
NILM	Negativo para Lesão Intraepitelial ou Malignidade (do inglês: <i>Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy</i>)
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase (do inglês: <i>Polymerase Chain Reaction</i>)
RR	Risco Relativo
TARV	Terapia Antirretroviral
TOS	Transplante de Órgãos Sólidos
VPN	Valor Preditivo Negativo
VPP	Valor Preditivo Positivo

FIGURAS

Figura 1. Transferência do esfregaço anal para lâmina de vidro (A) e imersão da mesma em álcool etílico 70% (B).....	16
Figura 2. Kit de coleta do teste para detecção de HPV-AR	18
Figura 3. Inserção do anuscópio (A) e gaze embebida em ácido acético a 5%, mantida no canal anal por 40 segundos (B).....	19
Figura 4. Junção escamo-colunar (setas) e região de pontilhado fino (tracejado)	20
Figura 5. Lesão elevada, com acentuada vascularização (A), biópsia (B).....	21
Figura 6. Distribuição dos pacientes por faixa etária (anos)	27
Figura 7. Prevalência de infecção por HPV-AR de acordo com faixa etária (anos) em diferentes perfis de pacientes	28
Figura 8. Prevalência de HSIL em diferentes perfis de pacientes de acordo com faixa etária (anos).....	29
Figura 9. Algoritmo (i): citologia apenas	34
Figura 10. Algoritmo (ii): teste para HPV-AR apenas	34
Figura 11. Algoritmo (iii): co-teste.....	34
Figura 12. Algoritmo alternativo (iv).....	35

TABELAS

Tabela 1. Perfil dos pacientes.....	26
Tabela 2. Perfil dos pacientes com e sem HSIL dentro de diferentes subgrupos	30
Tabela 3. Riscos relativos com respectivos intervalos de confiança de 95% (linha superior) e incidência de HSIL (linha inferior) para cada combinação de resultados. Cores mais intensas representam maior RR.....	32
Tabela 4. Incidência e risco relativo para HSIL em pacientes comparecendo à primeira consulta e pacientes em seguimento com antecedente de HSIL.	33
Tabela 5. Performance diagnóstica de diferentes algoritmos em diferentes subgrupos.....	37
Tabela 6. Estimativas de custo	38
Tabela 7. Performance diagnóstica do co-teste em outros trabalhos na literatura	48

RESUMO

RESUMO

Kimura CMS. *O papel do teste de detecção de HPV de alto risco no rastreamento do câncer de ânus* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2021.

Introdução e objetivos: O método atual para o rastreamento do câncer de ânus é a citologia anal, que possui baixa sensibilidade. Tendo em vista que a infecção por Papilomavírus humano de alto risco (HPV-AR) está associada a cerca de 90% dos casos de câncer de ânus, o objetivo deste estudo é avaliar se o teste para detecção de HPV-AR pode otimizar o rastreamento do câncer de ânus.

Métodos: Foi realizado um estudo prospectivo com pacientes do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Os desempenhos diagnósticos da citologia anal, do teste para detecção de HPV-AR e de dois outros algoritmos diagnósticos que incluíam ambos os exames (citologia e teste para HPV-AR) foram avaliados tendo como referência a biópsia guiada por anoscopia de alta resolução (AAR), exame padrão-ouro para o diagnóstico de lesões intraepiteliais escamosas de alto grau (HSIL), as quais são precursoras do câncer de ânus. **Pacientes:** 364 pacientes (72% homens, 82% HIV-positivo). **Intervenção:** Todos os pacientes foram submetidos à coleta de citologia anal, teste de HPV-AR e biópsia do canal anal guiada por AAR na mesma consulta. **Principais medidas avaliadas:** Capacidade da citologia e do teste de HPV-AR (individualmente e combinados) para detectar HSIL e análise do custo de cada abordagem diagnóstica. **Resultados:** A citologia sozinha foi a abordagem mais barata, com menor sensibilidade (59%, IC de 95% 46-71%), e com maior especificidade (73%, IC de 95% 68-78%). A realização do co-teste (citologia e teste para HPV-AR em todos os pacientes) teve a maior sensibilidade (85%, IC 95% 74-93%) e menor especificidade (43%, IC 95% 38-49%), sendo também a abordagem mais custosa. Observou-se, entretanto, que o teste para HPV-AR pode ser utilizado para triar pacientes com citologia normal e ASCUS (células escamosas atípicas de significado indeterminado) para AAR, resultando em um algoritmo com alta sensibilidade (80%, IC 95% 68-89%) e especificidade (71%, IC 95% 65 -76%), e com o segundo menor custo entre os quatro algoritmos avaliados. **Conclusões:** o teste de HPV-AR pode ser um importante aliado para

otimizar o rastreamento do câncer de ânus nos casos em que a citologia resulta normal ou ASCUS.

Descritores: Infecções por Papilomavírus; Neoplasias do ânus; Testes de DNA para Papilomavírus humano; Detecção precoce de câncer; Anuscopia de alta resolução; Neoplasia intraepitelial anal.

ABSTRACT

ABSTRACT

Kimura CMS. *The role of high-risk HPV testing in anal cancer screening* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2021.

Background/aim: The current method for screening anal cancer is anal cytology, which has low sensitivity. Since high-risk human Papillomavirus (HR-HPV) infection is associated with up to 90% of cases of anal cancer, the aim of this study is to evaluate whether testing for HR-HPV can optimize the screening for anal cancer. **Methods:** A prospective study was conducted with patients from Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. The diagnostic performances of the anal cytology, HR-HPV test, and two other algorithms that included both cytology and HR-HPV test were evaluated having the biopsy guided by high-resolution anoscopy (HRA) as the gold standard for the diagnosis of high-grade squamous intraepithelial lesions (HSIL), which are precursor lesions of anal cancer. **Subjects:** 364 patients (72% male, 82% HIV-positive). **Intervention:** Patients underwent collection of anal cytology, HR-HPV test, and HRA-guided biopsy of the anal canal at the same appointment. **Main outcome measures:** Ability of the cytology and the HR-HPV test (individually and combined) to detect HSIL, and analysis of the costs of each diagnostic approach. **Results:** Cytology alone was the least expensive approach, had the lowest sensitivity (59%, 95% CI 46-71%), and highest specificity (73%, 95% CI 68-78%). Cotesting (cytology and HR-HPV test for all patients) had the highest sensitivity (85%, 95% CI 74-93%), lowest specificity (43%, 95% CI 38-49%), and did not seem to be cost-effective. It was observed, however, that HR-HPV testing can be used to select patients with normal and ASCUS (atypical squamous cells of undetermined significance) cytology for HRA, resulting in an algorithm with high sensitivity (80%, 95% CI 68-89%), and specificity (71%, 95% CI 65-76%), and with the second lowest cost. **Conclusions:** the HR-HPV test can be an important tool to optimize the screening for anal cancer in cases of normal and ASCUS cytology.

Descriptors: Papillomavirus Infections; Anus Neoplasms; Human Papillomavirus DNA Tests; Early detection of cancer; High-resolution anoscopy; Anal intraepithelial neoplasia.

1 INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Em outubro de 1975, durante uma conferência sobre “Lesões Precoces e o Desenvolvimento de Câncer Epitelial” em Bethesda, Maryland (Estados Unidos), o Dr. Michael Sporn apresentou um trabalho sobre lesões epiteliais pré-malignas, notando que, entre 1950 e 1970, apesar da mortalidade por diversas formas de câncer ter aumentado, a conduta vigente ainda era tratar os pacientes quando os mesmos já apresentavam um tumor invasivo (1). Baseado em outros estudos da época, que começavam a desvendar o processo de carcinogênese e a constatar a existência de lesões que antecedem as neoplasias malignas, ele conclui que a Medicina deveria avançar no campo de prevenção do câncer e diagnóstico precoce dessas lesões.

Desde então, muito se progrediu no conhecimento da fisiopatologia de diferentes neoplasias. Uma das descobertas mais marcantes nesse âmbito foi a da relação causa-efeito entre a infecção pelo Papilomavírus humano (HPV) e o desenvolvimento de neoplasias escamosas. Embora a associação entre infecção por HPV e câncer de colo de útero já houvesse sido descrita na década de 1970 (2), com relatos de alguns subtipos de HPV isolados em amostras de câncer de colo de útero nos anos subsequentes (3,4), foi apenas na década de 1990 que se reconheceu o papel fundamental do HPV no desenvolvimento da neoplasia cervical (5).

Paralelamente a isso, o rastreamento para o câncer do colo de útero com a técnica descrita por Papanicolaou em 1941 (6) vinha ganhando popularidade à medida que provava o seu impacto na redução da mortalidade por essa neoplasia. O colo do útero e o canal anal apresentam características anatômicas

bastante semelhantes – ambos são derivados da membrana cloacogênica e ambos possuem um epitélio escamoso na porção distal e colunar na porção proximal, separados por uma zona de epitélio de transição. Tendo em vista essas semelhanças, Palmer et al. descreveram, em um artigo original publicado no *Lancet* em 1987, a associação entre câncer de ânus e infecção pelo HPV do subtipo 16 (7), abrindo o caminho para o desenvolvimento dos primeiros estudos sobre prevenção do câncer de ânus.

1.1. Considerações sobre o rastreamento para câncer de ânus

Atualmente, o rastreamento do câncer de colo de útero é considerado um dos maiores sucessos entre programas de rastreamento para o câncer. A incidência dessa doença caiu de 14,8 para 6,3 a cada 100.000 pessoas-ano nos Estados Unidos desde que o rastreamento rotineiro foi adotado (8).

O câncer de ânus, apesar de pouco frequente na população geral, vem aumentando consistentemente em incidência nos últimos 30 anos, tendo praticamente dobrado nesse período (9). Nos Estados Unidos, por exemplo, a incidência aumentou de 0,8 para 1,9 a cada 100.000 pessoas-ano entre 1975 e 2018 (8). Um dos principais motivos pelos quais essa doença vem se tornando mais frequente é o aumento do número e da sobrevivência de pessoas convivendo com o vírus da imunodeficiência humana (HIV). Ao contrário do câncer de colo de útero, o câncer de ânus não é considerado uma doença definidora de síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), mas a infecção pelo HIV é um importante fator de risco para essa neoplasia. De fato, o câncer de ânus é hoje uma das neoplasias não definidoras de AIDS mais frequentes em pessoas vivendo com HIV (10–12). Notavelmente, nessa população, a incidência de

câncer de ânus quadruplicou entre 1992 e 2003 nos Estados Unidos, indo de 19 para 78 casos a cada 100 mil pessoas (13), e continua em ascensão, mesmo com o surgimento de terapias antirretrovirais (TARV) altamente eficazes (10,14–16).

Outras populações também se encontram em risco aumentado para câncer de ânus, em especial homens que fazem sexo com homens (HSH), pacientes submetidos a transplante de órgãos sólidos (TOS) e mulheres com lesões relacionadas ao HPV no colo do útero, vulva ou vagina (17). Visto que a sobrevida de pacientes com câncer de ânus diagnosticados precocemente é bastante superior à de pacientes diagnosticados em estágios avançados (80% em 5 anos para o primeiro grupo e 30% em 5 anos para o segundo) (8), acredita-se que, em populações com maior risco para câncer de ânus, o rastreamento seja justificável e custo-efetivo (18). No entanto, ainda não existe consenso sobre como e com qual frequência o rastreamento deve ser realizado.

Os programas de rastreamento atualmente disponíveis partem da premissa de que o HPV provoca alterações no epitélio anal, gerando lesões intraepiteliais pré-malignas, as quais podem ser classificadas como sendo lesões de baixo grau (LSIL, '*low-grade squamous intraepithelial lesion*'), ou lesões de alto grau (HSIL, '*high-grade squamous intraepithelial lesion*'). Enquanto as LSIL em geral regridem sem necessitar de tratamento, as HSIL têm maior potencial de evoluir para neoplasia invasiva. Assim, o objetivo do rastreamento é diagnosticar e tratar precocemente as HSIL e acompanhar a evolução das LSIL. No entanto, ainda não se sabe se, de fato, o rastreamento reduz a incidência e a mortalidade por câncer de ânus. O estudo norte-americano ANCHOR (*Anal Cancer HSIL Outcomes Research*; ClinicalTrials.gov: NCT02135419), busca

elucidar o desfecho de pacientes com HSIL, os quais estão sendo randomizados para tratamento ou seguimento clínico por pelo menos cinco anos. A estimativa, entretanto, é de que os primeiros resultados estejam disponíveis apenas em 2026.

Nesse meio tempo, diante do evidente aumento na incidência de câncer de ânus, vivenciado na prática clínica de coloproctologistas e infectologistas, algumas associações de especialidades médicas, como a *American Society of Colon and Rectal Surgeons*, a *Association of Coloproctology of Great Britain and Ireland* e a *HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America*, desenvolveram recomendações para o rastreamento do câncer de ânus. Entretanto, essas recomendações deixam a decisão de fazer ou não o rastreamento, e através de quais métodos, à critério do médico assistente, em discussão conjunta com o paciente (19–21). Uma exceção é o Departamento de Saúde do Estado de Nova Iorque, o qual orienta explicitamente que o rastreamento seja oferecido a todos os pacientes HIV-positivos maiores de 35 anos, consistindo em exame de toque retal e coleta de citologia anal (22).

Muito embora ainda não exista evidência científica que comprove o benefício do rastreamento, pacientes que apresentam alto risco para câncer de ânus devem ser informados sobre esse risco e devem ser orientados sobre a disponibilidade de exames que podem diagnosticar lesões em estágios precoces.

1.2. Desempenho da citologia anal para detecção de lesões anais intraepiteliais

A citologia anal é um exame barato e de fácil coleta, porém apresenta um desempenho diagnóstico inconsistente, ilustrado pelos resultados conflitantes encontrados na literatura. A sensibilidade reportada para a detecção de lesões anais intraepiteliais varia de 18-98% e a especificidade, de 38-88% (23–26). Alguns fatores prejudicam a consistência dos resultados, como a variabilidade inter-observadores e a presença de contaminantes fecais. Busca-se compensar essa baixa sensibilidade com a repetição do exame ao longo do tempo, o que acaba resultando em aumento dos custos e dificuldade de seguimento dos pacientes.

A citologia cervical, apesar de ter revolucionado a história do câncer de colo de útero, também é imperfeita, apresentando sensibilidade em torno de 50-60%. Uma diferença importante entre a citologia cervical e a citologia anal, entretanto, é a proporção de resultados ASCUS, que são considerados indeterminados. A maioria das diretrizes orienta que pacientes com citologia anal ASCUS devem ser encaminhados para avaliação por anoscopia de alta resolução (AAR). No entanto, enquanto apenas 2% a 19% das citologias cervicais resulta em ASCUS (27–31), no canal anal esse resultado ocorre em até 45% dos casos (26,32–34), o que torna o encaminhamento para AAR menos eficaz, visto que apenas 20 a 30% desses pacientes apresentam de fato HSIL (26,34,35). Isso motivou a busca por novas abordagens de rastreamento, onde os testes para detecção de HPV ganharam papel fundamental.

1.3. Testes de detecção de HPV

Embora existam mais de 100 subtipos de HPV, existem alguns subtipos com maior potencial carcinogênico, chamados HPV de alto risco (HPV-AR). Entre eles, os principais são o HPV 16 e o HPV 18. Dada a forte relação entre infecção por HPV-AR e desenvolvimento de certas neoplasias, muito tem sido estudado sobre o papel dos testes de detecção de HPV-AR no rastreamento das mesmas.

Em 2011, o grande estudo prospectivo multicêntrico ATHENA (*Addressing THE Need for Advanced HPV diagnostics*) comparou o desempenho do teste para HPV-AR com o da citologia líquida cervical para diagnóstico de neoplasia intraepitelial cervical de alto grau. Concluiu-se que o teste para HPV-AR, em especial dos subtipos 16 e 18, é custo-efetivo e mais eficaz que a citologia líquida para o rastreamento de câncer do colo de útero (36).

Como resultado desse estudo, a *US Preventive Task Force*, um painel de especialistas em atenção primária e prevenção dos Estados Unidos, incorporou em 2014 o teste de detecção de HPV-AR como método de rastreamento primário para câncer do colo de útero.

Quanto ao câncer de ânus, embora esteja associado a infecção por HPV-AR em aproximadamente 90% dos casos (37), ainda não há evidência científica suficiente que justifique a adoção de testes para HPV-AR como método primário de rastreamento. Além disso, embora existam diversos métodos moleculares para detecção de HPV disponíveis no mercado, nenhum deles é aprovado pelo *Food and Drugs Administration* (FDA), órgão regulador dos Estados Unidos, para utilização em amostras coletadas no canal anal.

Ainda assim, na prática clínica, especialmente privada, esses testes vêm sendo cada vez mais utilizados como complemento à citologia anal, auxiliando na identificação de pacientes com alto risco para câncer de ânus. Baseados nessa experiência, estudos retrospectivos reportaram alta sensibilidade desses testes para detecção de HSIL, entre 93 e 96%, porém às custas de baixa especificidade, entre 12 e 42% (25,26,38–40).

1.4. Anuscopia de alta resolução (AAR)

O padrão-ouro para o diagnóstico de HSIL é a biópsia guiada por anuscopia de alta resolução (AAR), exame bastante semelhante à colposcopia. A idéia de utilizar o colposcópio para estudar o canal anal foi descrita inicialmente por Scholefield em 1989 (41). Desde então, a técnica foi padronizada levando em consideração as particularidades do canal anal.

O curva de aprendizado para se atingir proficiência na AAR é longa e é necessária uma infraestrutura específica para a realização desse exame, como colposcópio, maca, instrumentos estéreis e equipe de enfermagem auxiliar. Assim, existem poucos profissionais capacitados e poucos centros com a infraestrutura necessária, o que dificulta o acesso dos pacientes a esse exame.

1.5. Relevância clínica

A alta incidência de câncer de ânus em populações de alto risco, associada à possibilidade de se diagnosticar lesões que antecedem o câncer invasivo, apontam para o potencial impacto que o diagnóstico precoce dessas lesões pode ter em reduzir a incidência e a morbimortalidade dessa neoplasia.

Atualmente, a maioria dos protocolos de rastreamento orienta referenciar o paciente para AAR caso ele apresente qualquer alteração na citologia anal, seja ela ASCUS, LSIL ou HSIL. No entanto, a baixa sensibilidade da citologia coloca em risco pacientes que eventualmente não possam, ou não consigam, realizá-la com a frequência necessária. Ao mesmo tempo, devido às limitações associadas à AAR, é inviável que a mesma seja oferecida como método de rastreamento primário para todos os pacientes.

Dada a forte associação entre infecção por HPV-AR e o desenvolvimento do câncer de ânus, é possível que testes para detecção de HPV-AR possam contribuir substancialmente para o rastreamento, otimizando os encaminhamentos para AAR.

1.6. Motivação e originalidade

Até o presente momento, não há nenhum estudo prospectivo sobre o papel do teste de detecção de HPV-AR em amostras coletadas em canal anal para o rastreamento de HSIL em uma população de pacientes latino-americanos.

2 OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo primário

Avaliar o papel do teste para detecção de HPV-AR na otimização de algoritmos de rastreamento para o câncer de ânus.

2.2. Objetivos secundários

Analisar o custo estimado de cada algoritmo de rastreamento.

3 MÉTODOS

3. MÉTODOS

3.1. Desenho

O trabalho foi realizado no Instituto Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (ICHC-FMUSP) com uma coorte de pacientes consecutivos que foram submetidos, em uma mesma consulta, a exame proctológico, coleta de citologia anal, pesquisa de HPV-AR e AAR com biópsia do canal anal.

3.2. Considerações éticas

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) com número do Certificado de Apresentação para Apreciação Ética 16239519.2.0000.0068. Todos os pacientes foram orientados e assinaram o Temo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 1) ao serem incluídos no estudo.

3.3. Critérios de inclusão

Foram incluídos pacientes matriculados no ambulatório de Doenças Sexualmente Transmissíveis Anorretais (DSTa) do Serviço de Cirurgia do Cólon, Reto e Ânus do ICHC-FMUSP. Por se tratar de um serviço terciário, todos os pacientes matriculados vieram encaminhados de outras especialidades (infecologia, urologia, ginecologia, dermatologia) devido a presença de fatores

de risco significativos para neoplasia anal, como infecção por HIV ou presença de lesões ginecológicas ou penianas relacionadas ao HPV.

3.4. Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo pacientes que apresentassem:

- (a) antecedente de câncer de ânus;
- (b) presença de outra infecção sexualmente transmissível concomitante;
- (c) citologia insatisfatória;
- (d) amostra inadequada para o teste para HPV-AR;
- (e) alguma contraindicação à realização de biópsia do canal anal.

3.5. População do estudo

Os pacientes foram recrutados consecutivamente conforme comparecimento às consultas de rotina no período entre julho de 2018 e agosto de 2019.

O presente estudo ocorreu paralelamente a outra pesquisa, ainda em andamento, que visa a validação laboratorial do teste de detecção de HPV de alto risco da Abbott®. Assim, a população incluída neste estudo é uma amostra de conveniência derivada dessa outra pesquisa, cujo cálculo amostral estimou que seriam necessários cerca de 360 pacientes para realizar a validação do teste.

Durante o período da pesquisa, foram realizados 485 atendimentos para realização de AAR e coleta de citologia anal e foram selecionados 370 pacientes consecutivos, sem repetição, para inclusão no estudo.

Entre os 370 pacientes incluídos, um foi excluído devido a citologia insatisfatória, dois devido a presença de outras patologias anais diagnosticadas apenas no momento do exame, um devido a teste para HPV-AR inadequado, e dois devido a biópsias inconclusivas. Portanto, a população final do estudo foi de 364 pacientes.

3.6. Coleta de dados

Informações demográficas e dados referentes a prática de intercursos sexual anal receptivo, infecção por HIV, contagem plasmática de células CD4+, carga viral sérica de HIV, ano do diagnóstico de HIV, adesão à terapia antirretroviral e presença de comorbidades foram obtidos por meio de exames laboratoriais coletados previamente à consulta e entrevistas padronizadas realizadas no momento da consulta.

3.7. Exames específicos

Durante a mesma consulta, os pacientes foram submetidos a coleta de citologia anal, coleta de material para o teste de HPV-AR, exame proctológico e biópsia guiada por AAR.

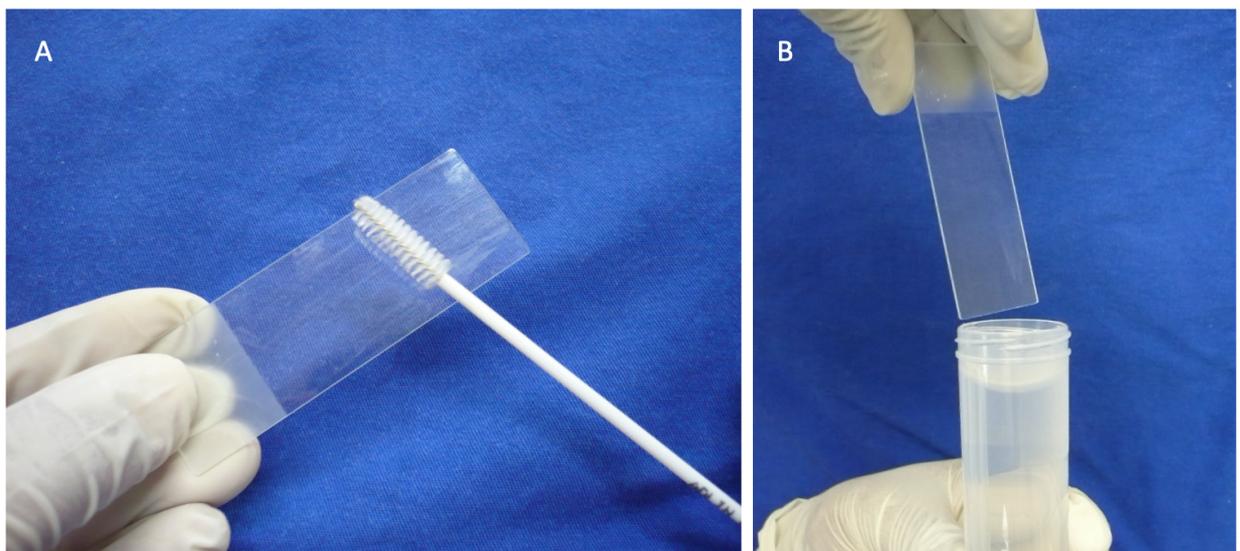
3.7.1. Citologia anal

Os pacientes foram colocados em posição genupeitoral para a realização dos exames. Após inspeção da região perianal, uma escova *swab* de Dacron® era inserida no canal anal por cerca de três centímetros. A seguir, a mesma era removida exercendo-se leve pressão contra as paredes do canal anal em

movimento de rotação, de modo a coletar células representativas de toda a sua circunferência. O esfregão era então realizado em uma lâmina de vidro e o material era imerso em solução de álcool etílico a 70% para fixação. O conjunto era então identificado com os dados do paciente.

A Figura 1 ilustra a coleta da citologia anal, a qual era realizada antes do toque retal ou da inserção de qualquer substância no canal anal, a fim de evitar interferências na interpretação.

Figura 1. Transferência do esfregão anal para lâmina de vidro (A) e imersão da mesma em álcool etílico 70% (B)



A citologia anal foi interpretada na Divisão de Anatomia Patológica do ICHC-FMUSP, com patologistas cegos aos resultados do HPV-AR e da biópsia. Os achados citológicos foram descritos de acordo com o Sistema de Bethesda 2001 (42), sendo classificados como:

- (a) ‘amostra inconclusiva ou insatisfatória’: presença de menos de 2000 células escamosas nucleadas e/ou presença de artefatos ou contaminantes em mais de 75% do esfregaço;
- (b) ‘NILM’ (*negative for intraepithelial lesion or malignancy*): sem alterações ou com alterações benignas, como inflamação, reparação e metaplasia escamosa;
- (c) ‘ASCUS’ (*atypical squamous cells of undetermined significance*): presença de células escamosas atípicas de significado indeterminado;
- (d) ‘LSIL’ (*low-grade squamous intraepithelial lesion*): lesão intraepitelial de baixo grau, compreendendo efeito citopático pelo HPV e neoplasia intraepitelial anal grau I;
- (e) ‘HSIL’ (*high-grade squamous intraepithelial lesion*): lesão intraepitelial de alto grau, compreendendo neoplasia intraepitelial anal graus II e III.

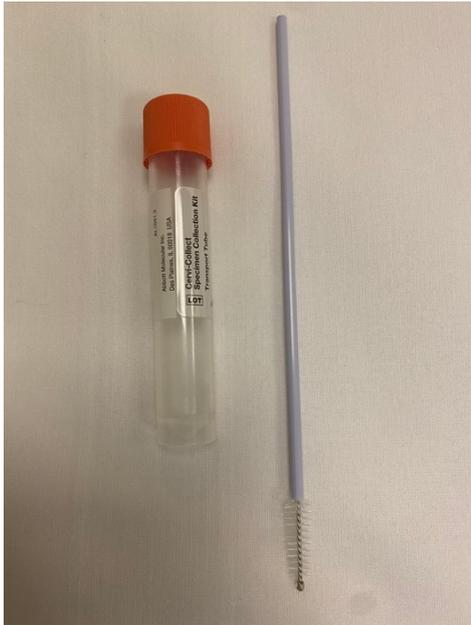
3.7.2. Teste de detecção de HPV-AR

A Divisão de Laboratório Central (DLC) do ICHC-FMUSP dispõe do teste Abbott Realtime High-risk HPV (Abbott Park, IL, USA), um ensaio qualitativo de reação em cadeia da polimerase (PCR) que detecta a presença de 14 subtipos oncogênicos de HPV (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68). Esse teste foi realizado em todos os participantes deste estudo.

A coleta das amostras foi realizada com o material *Cervi-Collect Specimen Collection Kit* (Abbott Park, IL, EUA), o qual contém uma escova estéril para coleta do material e um tubo contendo 2,5ml de tiocianato de guanidina, para conservação da amostra (Figura 2). A coleta para esse teste era realizada após a coleta da citologia anal. A escova fornecida pelo *kit* era introduzida no canal

anal por 3 cm e removida realizando-se um movimento de rotação contra as paredes do canal anal. A escova era então agitada no meio de guanidina e desprezada após. O material era identificado e encaminhado para a DLC, onde foi analisado.

Figura 2. Kit de coleta do teste para detecção de HPV-AR



O teste fornece os seguintes resultados:

- (a) não detectado HPV-AR;
- (b) HPV 16;
- (c) HPV 18;
- (d) HPV 16 e 18;
- (e) 'outro HPV-AR', não especificando o subtipo;
- (f) HPV 16 e 'outro HPV-AR';
- (g) HPV 18 e 'outro HPV-AR';
- (h) HPV 16, 18 e 'outro HPV-AR'.

3.7.3. Anuscopia de alta resolução com biópsia

A AAR foi realizada com o colposcópico ginecológico da marca Kolplast®, modelo KLP210 LED. Todos os exames foram realizados pela mesma examinadora (CMSK), imediatamente após os exames descritos acima, mantendo os pacientes na posição genupeitoral.

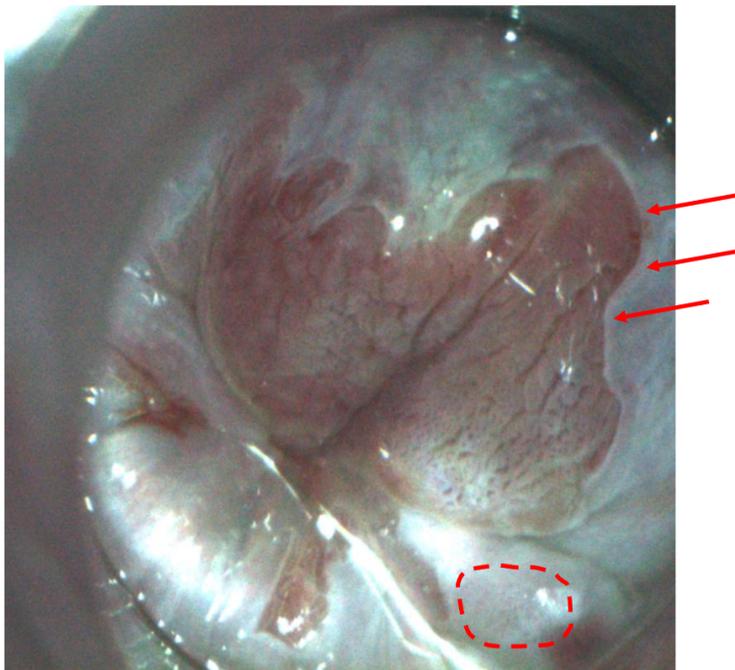
O exame era sempre precedido por um exame digital anorretal, com lubrificação com gel de xilocaína a 2%, a fim de avaliar o tônus esfinteriano e a presença de lesões tocáveis. Em seguida, um anuscópio descartável era inserido no canal anal, também lubrificado com xilocaína a 2% e uma gaze embebida em ácido acético a 5% era então inserida no canal anal com auxílio de uma pinça. A gaze era mantida no canal anal por cerca de 40 segundos e removida em seguida (Figura 3).

Figura 3. Inserção do anuscópio (A) e gaze embebida em ácido acético a 5%, mantida no canal anal por 40 segundos (B)



O canal anal era então inspecionado inicialmente com aumento de 16x, avaliando a zona de transição e a junção escamo-colunar (Figura 4). Caso alguma área suspeita fosse identificada, a mesma era visualizada com aumento de 25x a 40x.

Figura 4. Junção escamo-colunar (setas) e região de pontilhado fino (tracejado)

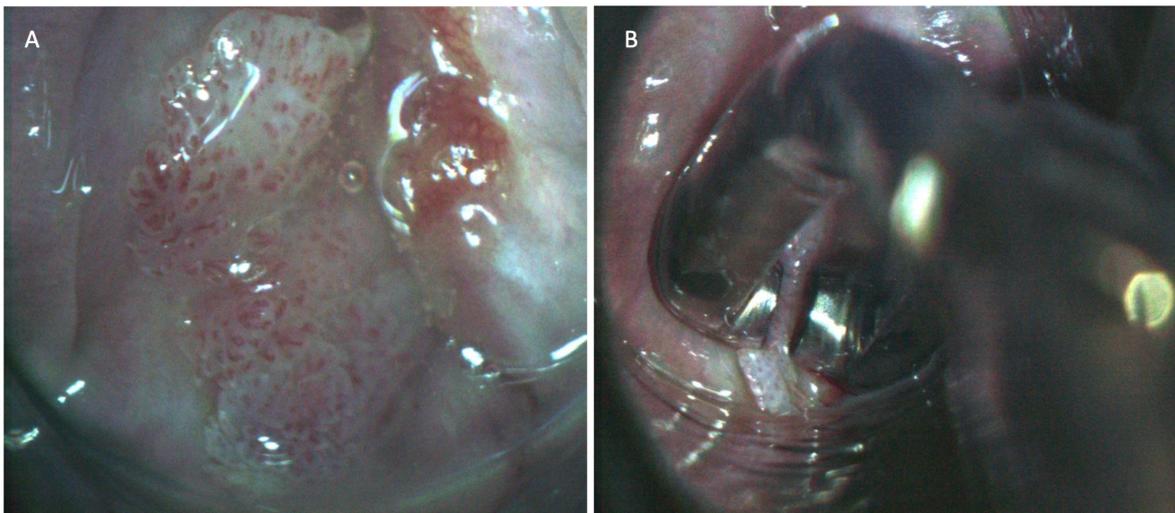


Os achados na AAR eram descritos de acordo com:

- (a) localização no canal anal;
- (b) coloração após aplicação do ácido acético (lesão acetobranca);
- (c) contorno (lesão elevada ou plana);
- (d) padrão vascular (pontilhado fino, pontilhado grosseiro ou mosaico).

Lesões suspeitas para LSIL ou HSIL foram biopsiadas durante o exame com pinça para biópsia, sem infiltração anestésica (Figura 5). Nos casos em que não foram identificadas lesões suspeitas, foi realizada uma biópsia aleatória do epitélio de transição anal 'visualmente normal'.

Figura 5. Lesão elevada, com acentuada vascularização (A), biópsia (B)



Os fragmentos biopsiados eram conservados em formol, identificados, e encaminhados para a Divisão de Anatomia Patológica do ICHC-FMUSP. Os diagnósticos histopatológicos eram classificados como:

- (a) biópsia 'inconclusiva ou insatisfatória': não representativa do epitélio de transição anal;
- (b) sem alterações ou com alterações benignas, como inflamação, espongirose;
- (c) LSIL: lesão intraepitelial de baixo grau, compreendendo efeito citopático pelo HPV e neoplasia intraepitelial anal grau I;
- (d) HSIL: lesão intraepitelial de alto grau, compreendendo neoplasia intraepitelial anal graus II e III.

3.8. Estimativa de custo

A fim de avaliar se uma abordagem combinada com citologia e teste de HPV seria financeiramente viável, foi realizada uma análise de custo, considerando o preço médio atual desses testes em São Paulo, Brasil, consultados em setembro de 2020.

O preço da citologia variou de R\$ 75,00-150,00, o teste para HPV-AR, de R\$ 200,00-375,00, e a AAR com biópsia de R\$ 550,00-1.000,00.

Considerando o custo mínimo de cada exame, calculou-se o custo total de cada abordagem diagnóstica e o custo por HSIL encontrada.

3.9. Análise estatística

As variáveis contínuas foram expressas em média +/- desvio padrão (DP) e as variáveis categóricas foram demonstradas em frequência (porcentagem). A avaliação da correlação entre variáveis categóricas independentes foi realizada com teste exato de Fisher e o teste t de Student foi utilizado para variáveis contínuas independentes. Para todas as análises, valores de p abaixo de 0,05 foram considerados estatisticamente significativos.

Considerando o resultado da histologia (biópsia) como o padrão-ouro para diagnóstico de HSIL, foram calculados: sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) de cada método diagnóstico (citologia anal e teste de detecção de HPV-AR) e da combinação dos dois métodos para a detecção de HSIL. Nos casos em que mais de uma biópsia foi realizada, o grau de displasia mais grave foi considerado para as análises. Os desempenhos foram comparados de acordo com os respectivos intervalos de confiança.

Todos os dados foram inseridos em um banco de dados no *software Microsoft Excel (Microsoft Corporation, WA, USA)*. A análise estatística foi realizada utilizando o mesmo *software*, o *software* estatístico MedCalc e o *software IBM-SPSS for Windows* versão 22.0.

4 RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1. Perfil da população estudada

Entre os 364 pacientes incluídos, 265 (73%) eram homens, a idade média foi de 49 anos (DP +/- 12) e 297 (82%) pacientes tinham sorologia positiva para HIV. A prevalência de qualquer HPV-AR foi de 52% e a prevalência de HSIL confirmada por biópsia foi de 17%.

Entre os 297 pacientes HIV-positivos, 91% tinham carga viral indetectável e o tempo médio desde o diagnóstico de HIV era 17,2 anos (DP +/- 8,2).

Entre os 67 pacientes HIV-negativos, 28 (42%) possuíam alguma imunossupressão: 15 eram recipientes de TOS, 12 eram portadores de doenças autoimunes e 1 era portadora de imunossupressão congênita. Os demais 39 (58%) pacientes haviam sido encaminhados para o serviço devido a histórico de verrugas genitais recorrentes ou lesões cervicais relacionadas ao HPV.

Detalhes sobre o perfil dos pacientes são descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Perfil dos pacientes

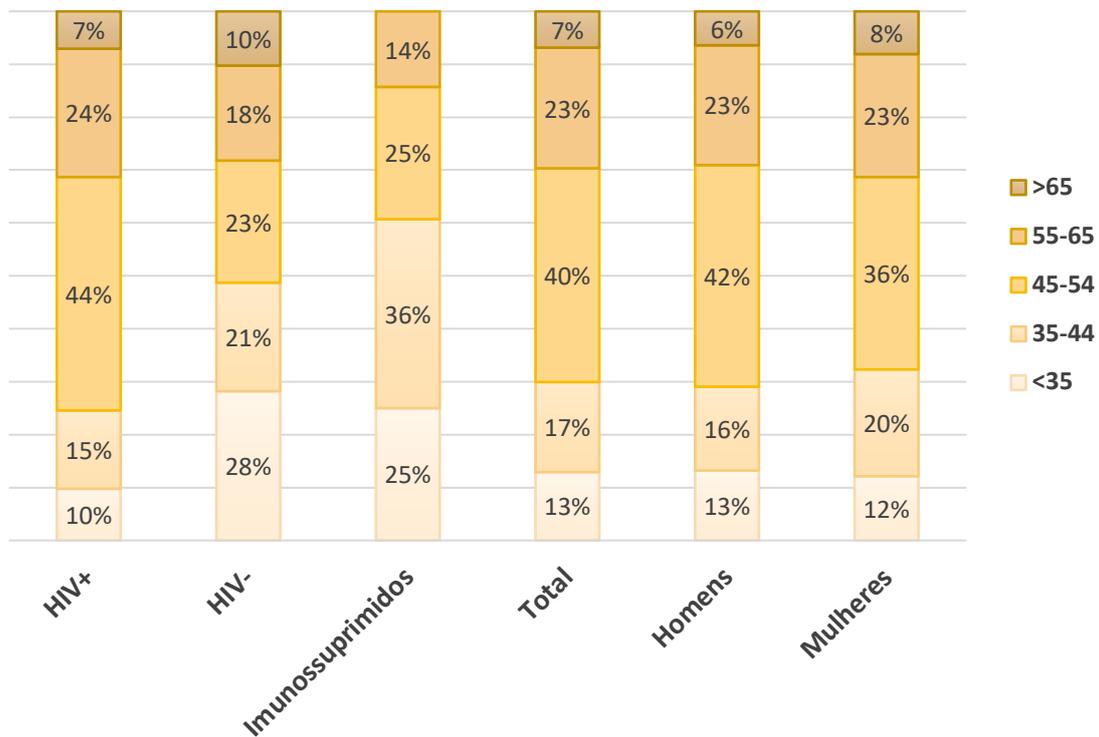
	Homens (n= 255)			Mulheres (n= 81)			Imunossuprimidos (n=28)		
	HIV+ (n=236)	HIV- (n=19)	<i>p</i>	HIV+ (n=61)	HIV- (n=20)	<i>p</i>	Homens (n=10)	Mulheres (n=18)	<i>p</i>
Idade média (DP)	49 (11)	40 (19)	0,07	52 (10)	49 (14)	0,91	48 (10)	39 (12)	0,04
Tempo de rastreamento (anos) (DP)	4,5 (2,7)	3,3 (2,5)	0,08	3,0 (2,4)	3,6 (2,8)	0,69	2,8 (2,4)	3,1 (1,9)	0,63
Sexo anal receptivo	206 (87)	13 (68)	0,03	34 (56)	7 (35)	0,13	2 (20)	7 (39)	0,41
História prévia de HSIL	72 (31)	11 (2)	0,07	8 (13)	5 (25)	0,29	4 (40)	12 (67)	0,24
HPV 16/18 (+) apenas	15 (6)	0 (0)		7 (11)	0 (0)		2 (20)	3 (17)	
Outro HPV-AR (+) apenas	80 (34)	3 (16)	0,23	14 (23)	5 (25)	0,50	3 (30)	9 (50)	0,63
Mais de um HPV-AR	33 (14)	4 (21)		5 (8)	2 (10)		0 (0)	3 (17)	
Citologia	NILM	166 (70)		47 (77)	15 (75)		3 (30)	6 (33)	
	ASCUS	47 (20)		10 (16)	1 (5)		4 (40)	4 (22)	
	LSIL	13 (6)	0,21	3 (5)	2 (10)	0,18	3 (30)	6 (33)	0,68
	HSIL	10 (4)		1 (2)	2 (10)		0 (0)	2 (11)	
Histologia	NILM	124 (53)		39 (64)	9 (45)		4 (40)	6 (33)	
	LSIL	70 (30)	0,18	19 (31)	8 (40)	0,19	3 (30)	6 (33)	0,94
	HSIL	42 (18)		3 (5)	3 (15)		3 (30)	6 (33)	

Dados mostrados como n (%), sendo n o número absoluto. Em negrito, valores de $p < 0,05$.

Doravante, pacientes com alguma imunossupressão e sorologia negativa para HIV serão referidos simplesmente como ‘imunossuprimidos’, pacientes com sorologia positiva para HIV, como ‘HIV-positivos’, e pacientes com sorologia negativa para HIV e sem nenhuma imunossupressão, apenas como ‘HIV-negativos’, sem sobreposição desses grupos.

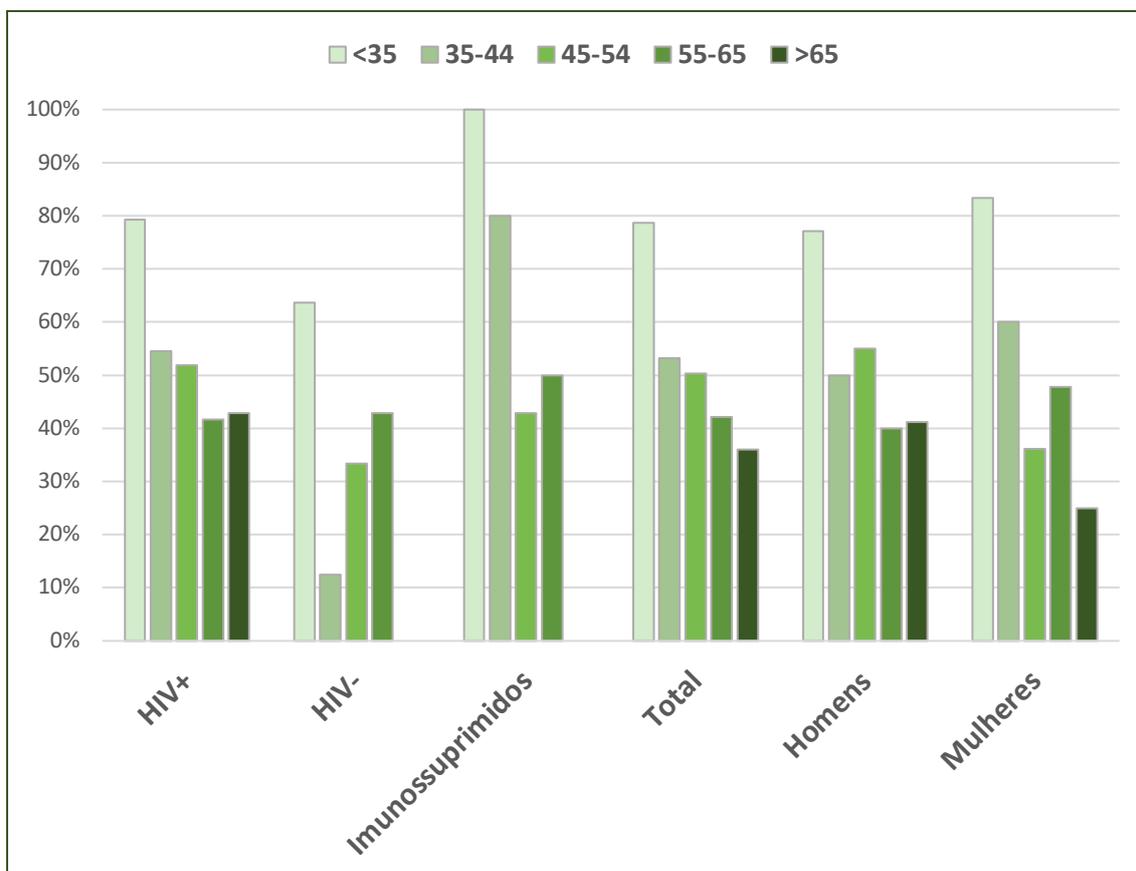
A Figura 6 demonstra a distribuição dos pacientes por faixa etária de acordo com diferentes subgrupos, mostrando que pacientes imunossuprimidos eram, em geral, mais jovens, 61% deles com idade inferior a 44 anos.

Figura 6. Distribuição dos pacientes por faixa etária (anos)



A prevalência de HPV-AR de acordo com a faixa etária em diferentes perfis de pacientes é apresentada na Figura 8. Pode-se observar que a prevalência foi maior em pacientes mais jovens, abaixo dos 35 anos de idade, em todos os subgrupos.

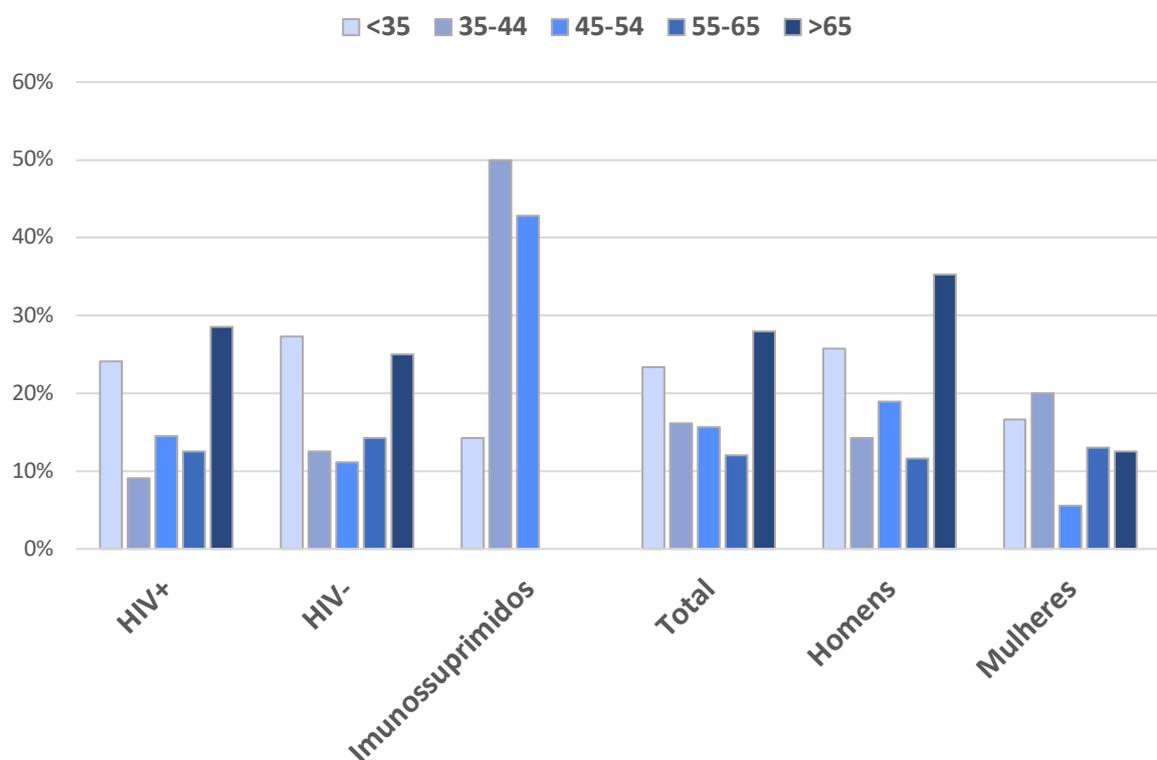
Figura 7. Prevalência de infecção por HPV-AR de acordo com faixa etária (anos) em diferentes perfis de pacientes



4.2. Fatores associados à presença de HSIL

A prevalência de HSIL de acordo com a faixa etária em diferentes perfis de pacientes é apresentada no gráfico da Figura 8. Houve uma tendência a uma distribuição bimodal de HSIL, exceto entre pacientes imunossuprimidos.

Figura 8. Prevalência de HSIL de acordo com faixa etária (anos) e subgrupo



A Tabela 2 descreve e compara o perfil dos pacientes com e sem HSIL dentro dos subgrupos 'homens', 'mulheres', e 'HIV-positivos'. História prévia de HSIL, especialmente nos últimos 12 meses, presença de HPV 16/18 isoladamente ou associada a outros HPV-AR e citologia alterada foram os principais fatores associados à presença de HSIL. Especialmente em mulheres, imunossupressão também se mostrou fortemente associada à presença de HSIL.

Tabela 2. Perfil dos pacientes com e sem HSIL dentro de diferentes subgrupos

	Homens (n=265)		p	Mulheres (n=99)		p	HIV+ (n=297)		p	Total (n=364)		p
	sem HSIL (n=216)	com HSIL (n=49)		sem HSIL (n=87)	com HSIL (n=12)		sem HSIL (n=252)	com HSIL (n=45)		sem HSIL (n=303)	com HSIL (n=61)	
Idade média (DP)	49 (12)	47 (13)	0,59	50 (12)	45 (13)	0,29	50 (11)	49 (12)	0,66	49 (12)	48 (13)	0,31
Primeira consulta	40 (18)	6 (12)	0,29	17 (19)	5 (42)	0,08	49 (19)	7 (16)	0,54	57 (19)	11 (18)	0,89
Tempo de rastreamento (anos) (DP)	4,4 (2,7)	3,9 (2,6)	0,20	3,2 (2,3)	3,4 (2,9)	0,77	4,2 (2,7)	4,0 (2,7)	0,56	4,1 (2,7)	3,8 (2,6)	0,48
Sexo anal receptivo	179 (83)	42 (86)	0,63	45 (52)	3 (25)	0,08	200 (79)	40 (89)	0,13	224 (74)	45 (74)	0,98
História prévia de HSIL	53 (24)	25 (51)	<0,01	19 (22)	6 (50)	0,03	57 (23)	23 (51)	<0,01	72 (24)	31 (51)	<0,01
HSIL nos últimos 12 meses	15 (7)	17 (35)	<0,01	10 (11)	3 (25)	0,19	18 (7)	15 (33)	<0,01	25 (8)	20 (33)	<0,01
HIV-positivo	194 (90)	42 (86)	0,41	58 (67)	3 (25)	<0,01	-	-	-	252 (83)	45 (74)	0,08
Sexo masculino	-	-	-	-	-	-	194 (77)	42 (93)	0,01	216 (71)	49 (80)	0,15
Imunossupressão	7 (3)	3 (6)	0,34	12 (14)	6 (50)	<0,01	-	-	-	19 (6)	9 (15)	0,02
HPV 16/18 (+) apenas	10 (5)	7 (14)		9 (10)	1 (8)		15 (6)	7 (16)		19 (6)	8 (13)	
Outro HPV-AR (+) apenas	73 (34)	13 (26)	<0,01	24 (27)	4 (33)	0,80	81 (32)	13 (29)	<0,01	97 (32)	17 (28)	<0,01
Mais de um HPV-AR	21 (10)	16 (33)		8 (9)	2 (17)		24 (9)	14 (31)		29 (10)	18 (29)	
Citologia NILM	156 (72)	22 (45)		65 (75)	3 (25)		190 (75)	23 (51)		221 (73)	25 (41)	
Citologia ASCUS	48 (22)	10 (20)	<0,01	10 (11)	5 (42)	<0,01	47 (19)	10 (22)	<0,01	58 (19)	15 (25)	<0,01
Citologia LSIL	9 (4)	9 (18)		7 (8)	4 (33)		11 (4)	5 (11)		16 (5)	13 (21)	
Citologia HSIL	3 (1)	8 (16)		5 (6)	0 (0)		4 (2)	7 (15)		8 (3)	8 (13)	

Dados mostrados como n (%), sendo n o número absoluto. Em negrito, valores de p < 0,05.

4.3. Biópsias aleatórias

Biópsias aleatórias foram realizadas em 149 pacientes, 131 (88%) com resultado benigno, 15 (10%) LSIL e 3 (2%), HSIL. Esses últimos três pacientes foram submetidos a nova AAR dentro de três meses. Além disso, os pacientes cuja citologia mostrou HSIL e a biópsia não demonstrou HSIL também foram encaminhados para nova AAR em três meses. Os resultados dessas AAR não foram incluídos nas análises deste estudo, mas serão descritos a seguir.

Entre os pacientes com HSIL em biópsia aleatória, um tinha citologia LSIL, sem nenhum HPV-AR, outro tinha citologia NILM e outro HPV-AR, e o último tinha citologia NILM e nenhum HPV-AR. Nos dois primeiros, foram identificadas HSIL na nova AAR, confirmadas por biópsia guiada. No último, nenhuma lesão foi identificada e uma nova biópsia na mesma área mostrou epitélio anal de transição normal.

Houve oito casos de citologia HSIL sem histologia HSIL (seis citologias demonstraram LSIL e duas, NILM). Um dos pacientes com citologia NILM perdeu a consulta de retorno. Em cinco pacientes, as biópsias guiadas por AAR subsequentes mostraram histologia HSIL. Em outro paciente, a segunda biópsia mostrou LSIL e, no último, nenhuma lesão foi identificada na AAR, e biópsias aleatórias dos quatro quadrantes foram todas normais.

4.4. Risco relativo

O risco relativo (RR) para HSIL na histologia foi calculado para cada combinação de resultados (citologia e HPV-AR). Devido à baixa prevalência de infecção isolada pelo HPV do subtipo 18 (1,1%), os resultados 'HPV 16 (+)

apenas' e 'HPV 18 (+) apenas' foram agrupados em uma única categoria, 'HPV 16/18 (+)'. Os casos de coinfeção pelos subtipos 16 e 18 foram reportados na categoria 'mais de um HPV-AR', juntamente com os casos de coinfeção por HPV 16 ou 18 e outro HPV-AR. Os resultados são mostrados na Tabela 3, juntamente com a incidência de HSIL em cada categoria.

De maneira geral, a infecção por HPV dos subtipos 16/18 representou maior risco para HSIL em relação a infecção por outros tipos de HPV-AR. Além disso, pacientes com infecção por mais de um subtipo de HPV-AR apresentavam risco ainda maior para HSIL em relação a infecção por um único subtipo.

Tabela 3. Riscos relativos com respectivos intervalos de confiança de 95% (linha superior) e incidência de HSIL (linha inferior) para cada combinação de resultados. Cores mais intensas representam maior RR

	HPV-AR (-)	HPV 16/18 (-), outro HPV-AR (+)	HPV 16/18 (+), outro HPV-AR (-)	Mais de um HPV-AR
NILM	1,0 (0,4-2,4) 6,4%	0,3 (0,0-1,9) 1,6%	4,4 (1,6-12,6) 28,6%	5,9 (2,7-12,9) 37,9%
ASCUS	1,3 (0,3-5,9) 8,7%	3,8 (1,5-9,3) 24,1%	5,2 (1,7-15,9) 33,3%	3,9 (1,2-12,5) 25%
LSIL	9,9 (4,6-21,5) 63,6%	5,6 (2,1-14,3) 35,7%	2,5 (0,2-33,4) 0,0%	7,8 (1,7-35,7) 50,0%
HSIL	2,5 (0,2-33,4) 0,0%	7,8 (3,0-19,9) 50,0%	7,8 (1,7-35,7) 50,0%	11,7 (5,0-27,2) 75,0%

Também foi calculado o RR para HSIL para pacientes comparecendo ao primeiro exame de rastreamento e para pacientes já em seguimento e com antecedente de HSIL, tendo como referência pacientes em seguimento e sem histórico de HSIL (Tabela 4). Pacientes em seguimento e com histórico de HSIL apresentaram maior RR para HSIL atual, sobretudo se tivesse sido diagnosticado nos últimos 12 meses.

Tabela 4. Incidência e risco relativo para HSIL em pacientes comparecendo à primeira consulta e pacientes em seguimento com antecedente de HSIL.

	Incidência	RR	IC 95%
Em seguimento sem histórico de HSIL	9,8% (19/193)	1	-
Primeira consulta	16,2% (11/68)	1,6	0,8-3,3
Seguimento com histórico de HSIL	30,1% (31/103)	3,1	1,8-5,1
HSIL nos últimos 12 meses	44,4% (20/45)	4,5	2,6-7,7

4.5. Performance diagnóstica

Quatro algoritmos diferentes foram analisados: (i) citologia apenas; (ii) teste para HPV-AR apenas; (iii) co-teste (citologia e teste HPV-AR); e (iv) algoritmo alternativo, baseado no RR para HSIL para cada combinação de citologia e HPV-AR (de acordo com a Tabela 3). Uma vez que pacientes com citologia normal e HPV 16/18 ou mais de um HPV, e pacientes com ASCUS e presença de qualquer HPV-AR apresentaram maior prevalência e RR para HSIL, bem como pacientes com citologia LSIL ou HSIL, o algoritmo alternativo consistiria em encaminhar para AAR pacientes com os seguintes resultados: (a)

citologia NILM e HPV 16/18 (+); (b) ASCUS e qualquer HPV-AR (+); ou (c) citologia LSIL ou HSIL, independentemente de infecção por HPV-AR.

Fluxogramas descrevendo cada algoritmo de rastreamento são mostrados nas Figuras 9, 10, 11 e 12.

Figura 9. Algoritmo (i): citologia apenas

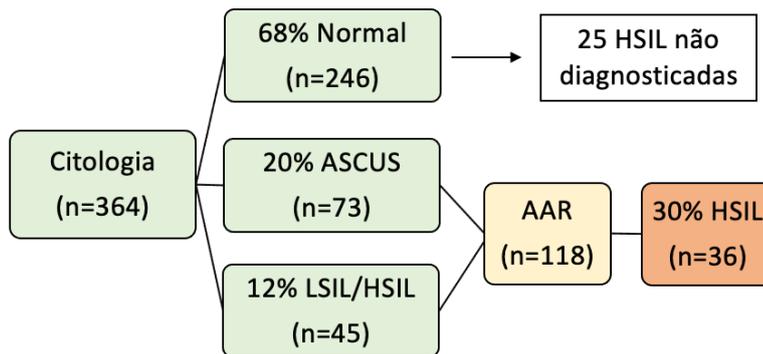


Figura 10. Algoritmo (ii): teste para HPV-AR apenas

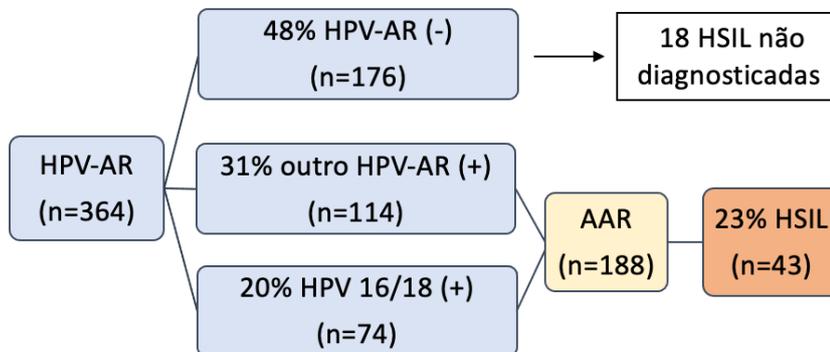


Figura 11. Algoritmo (iii): co-teste

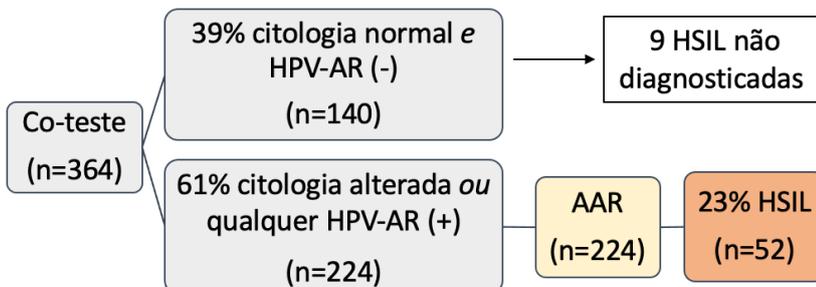
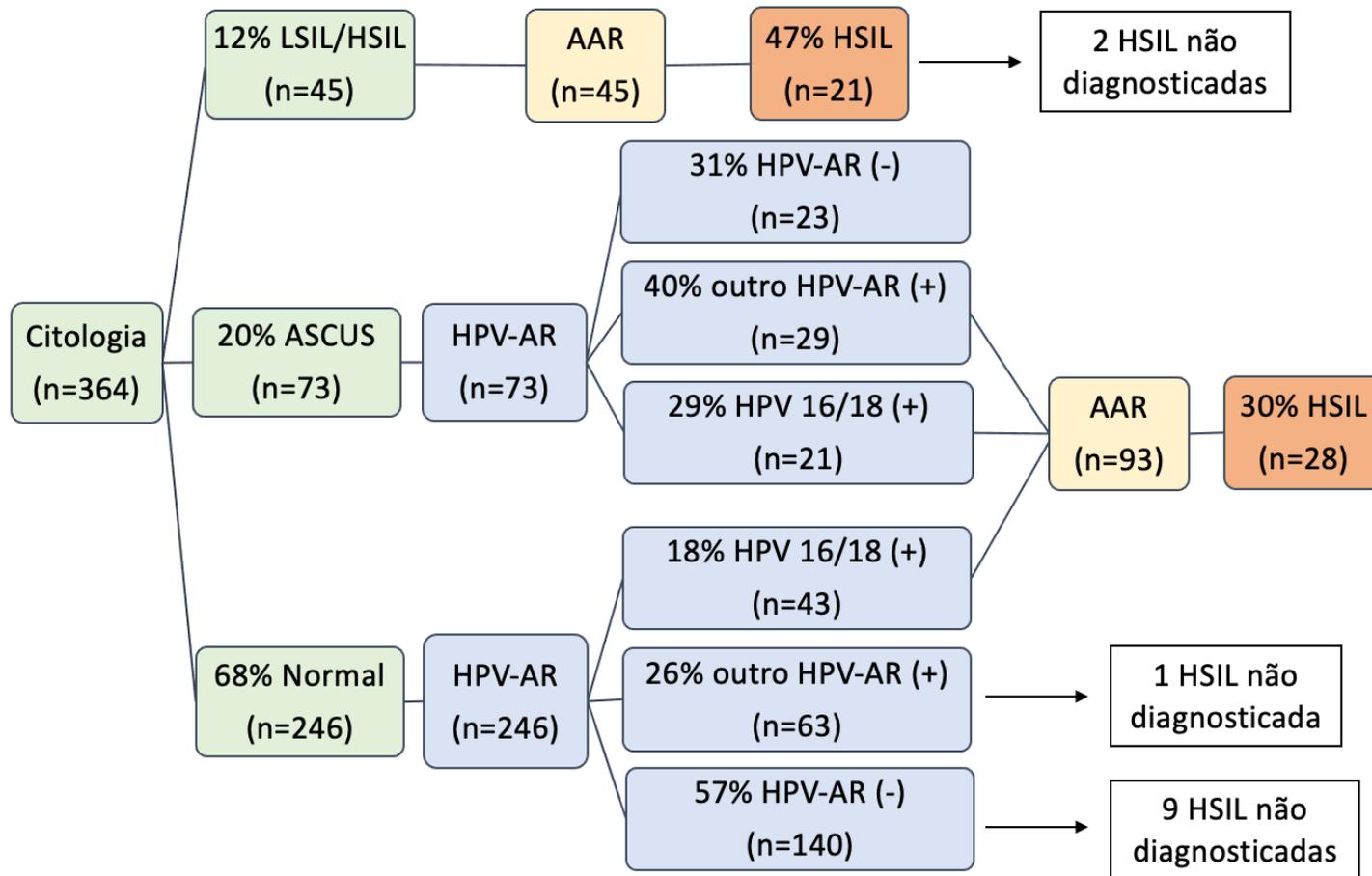


Figura 12. Algoritmo alternativo (iv)



O desempenho diagnóstico dos quatro algoritmos de rastreamento foi então calculado para todos os pacientes e para três subgrupos de pacientes com perfis semelhantes (de acordo com a Tabela 1): (a) homens HIV-positivo e HIV-negativo, (b) mulheres HIV-positivo e HIV-negativo; (c) homens e mulheres com imunossupressão.

De maneira geral, a sensibilidade dos algoritmos dentro de cada subgrupo não variou de maneira estatisticamente significativa. Entretanto, o teste para HPV-AR sozinho e o algoritmo alternativo apresentaram uma tendência a pior sensibilidade para o subgrupo 'mulheres HIV-positivo e HIV-negativo'. Nesse subgrupo, também se observou menor VPP e maior VPN para todos os algoritmos.

A especificidade também foi, de maneira geral, uniforme dentro dos subgrupos, exceto no subgrupo de pacientes imunossuprimidos, no qual a especificidade foi menor em todos os algoritmos estudados.

Entre os quatro algoritmos, o co-teste teve maior sensibilidade, o da citologia teve maior especificidade e o algoritmo alternativo teve maior acurácia, VPP e VPN. Levando-se em consideração os intervalos de confiança, a sensibilidade do algoritmo alternativo não foi inferior à do co-teste de maneira estatisticamente significativa, e a especificidade também não foi inferior à da citologia.

Os resultados descritos estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Performance diagnóstica de diferentes algoritmos em diferentes subgrupos

	Sen¹ (%)	Esp² (%)	VPP³ (%)	VPN⁴ (%)	Acurácia (%)
Citologia (todos)	59,0 (45,7-71,4)	72,9 (67,6-77,9)	30,5 (24,9-36,7)	89,8 (86,6-92,3)	70,6 (65,6-75,2)
Homens HIV+ e HIV-	52,2 (36,9-67,1)	73,2 (66,7-79,1)	30,0 (23,1-38,0)	69,4 (63,4-75,0)	69,4 (63,4-75,0)
Mulheres HIV+ e HIV-	66,7 (22,3-95,7)	80,8 (69,2-88,3)	22,1 (11,4-35,5)	96,8 (90,6-99,0)	79,0 (68,5-87,3)
Imunossuprimidos	88,9 (51,7-99,7)	42,1 (20,2-66,5)	42,1 (31,7-53,2)	88,9 (53,9-98,2)	57,1 (37,2 -75,5)
HPV-AR (todos)	70,5 (57,4-81,5)	52,1 (43,4-57,9)	22,8 (19,5-26,6)	90,8 (85,4-92,9)	55,2 (50,0-60,4)
Homens HIV+ e HIV-	76,1 (61,2-87,4)	52,2 (45,1-59,1)	25,9 (22,0-30,3)	90,8 (85,3-94,4)	56,5 (50,1-62,6)
Mulheres HIV+ e HIV-	33,3 (4,3-77,7)	58,7 (46,7-69,9)	6,1 (2,0-17,1)	91,7 (85,8-95,2)	56,8 (45,3-67,8)
Imunossuprimidos	66,7 (29,9-92,5)	26,3 (9,1-51,2)	30,0 (20,1-42,2)	62,5 (33,6-84,6)	39,3 (21,5-59,4)
Co-teste (todos)	85,2 (73,8-93,0)	43,2 (37,6-49,0)	23,2 (20,8-25,9)	93,6 (88,7-96,4)	50,3 (45,0-55,5)
Homens HIV+ e HIV-	82,6 (68,6-92,2)	42,1 (35,3-49,1)	23,9 (20,8-22,2)	91,7 (85,2-95,5)	49,4 (43,1-55,7)
Mulheres HIV+ e HIV-	83,3 (35,9-99,6)	53,3 (41,5-64,9)	12,5 (8,5-18,0)	97,6 (86,8-99,6)	55,6 (44,1-66,6)
Imunossuprimidos	100 (66,4-100)	15,8 (3,4-39,6)	36,0 (31,6-40,6)	100 (100,0-100,0)	42,8 (24,5-62,8)
Algoritmo alternativo (todos)	80,3 (68,2-89,4)	70,6 (65,1-75,7)	35,5 (30,8-40,5)	94,7 (91,4-96,7)	72,2 (67,3-76,8)
Homens HIV+ e HIV-	80,4 (66,1-90,6)	73,2 (66,7-79,1)	39,8 (33,6-46,3)	94,4 (90,4-96,8)	74,5 (68,7-79,7)
Mulheres HIV+ e HIV-	50,0 (11,8-88,2)	72,0 (60,4-81,8)	12,5 (5,6-25,6)	94,7 (88,9-97,6)	70,4 (59,2-80,0)
Imunossuprimidos	100 (66,4-100,0)	36,8 (16,3-61,6)	42,9 (34,7-51,4)	100 (100,0-100,0)	57,1 (37,2-75,5)

¹Sensibilidade, ²Especificidade, ³Valor Preditivo Positivo, ⁴Valor Preditivo Negativo. Intervalos de confiança de 95% mostrados entre parêntesis

4.6. Estimativas de custo

Calculou-se a proporção entre AAR realizadas para cada HSIL diagnosticada, o custo por cada HSIL diagnosticada e o custo total de cada algoritmo. Os mesmos parâmetros também foram calculados para um quinto cenário, no qual se realizaria AAR como único exame de rastreamento para todos os pacientes, a fim de servir como parâmetro.

A citologia isoladamente demonstrou ser a abordagem mais barata, enquanto o co-teste seria a abordagem mais cara. O algoritmo alternativo, por sua vez, apresentou menor proporção de AAR realizadas para cada HSIL diagnosticada, com o segundo menor custo por HSIL diagnosticada e segundo menor custo total (Tabela 6).

Tabela 6. Estimativas de custo

Algoritmo	AAR realizadas por HSIL diagnosticada	Taxa de falso negativo (%)	Custo por HSIL diagnosticada (\$)	Custo total (R\$)
Citologia apenas	3,2	6,9	2.561	92.200
HPV-AR apenas	4,4	4,9	4.098	176.200
Co-teste	4,3	2,5	4.294	223.300
Algoritmo alternativo	2,8	3,3	3.408	167.000
AAR apenas	6,3	0,8	3.452	200.200

5 DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

O presente trabalho demonstrou que o teste para detecção de HPV-AR em amostras coletadas no canal anal pode ser útil para o rastreamento do câncer de ânus se for utilizado em conjunto com a citologia anal, aumentando a sensibilidade e a especificidade.

Esses achados são relevantes pois, atualmente, o teste para HPV-AR ainda não é recomendado como exame padrão para o rastreamento do câncer de ânus, visto que ainda não se sabe exatamente de que maneira ele pode ser útil. Entretanto, as limitações da citologia anal e o difícil acesso à AAR tornam imperativo que formas de rastreamento mais efetivas sejam exploradas, sobretudo em vista do evidente aumento na incidência de câncer de ânus em populações de risco nas últimas décadas (9).

5.1. Prevalência de HSIL em diferentes perfis de pacientes

A população incluída neste estudo era composta por pacientes de alto risco para câncer de ânus – pacientes HSH, HIV-positivos, recipientes de TOS, e pacientes com antecedente de lesões genitais recorrentes causadas pelo HPV. A prevalência de HSIL encontrada, de 17%, é semelhante à prevalência reportada por diversos outros autores na literatura que também incluíram, majoritariamente, pacientes de alto risco: 13% em Heard et al. (2015) (43), 18% em Hidalgo-Tenorio et al. (2015) (39), 16% em Burgos et al. (2017) (33), 13% em Pernot et al. (2018) (44), e 15% em Sambursky et al. (2018) (26), por exemplo. Embora outros autores relatem maior prevalência de HSIL, como 30% no estudo de Berry et al. (2009) (40), e 37% no de Ramos-Cartagena et al. (2020) (32), é válido ressaltar que, em todos esses trabalhos, o viés de encaminhamento é um

fator importante que pode afetar a prevalência de HSIL. Esse viés também esteve presente neste trabalho e provavelmente contribuiu para a alta prevalência de HSIL observada em pacientes HIV-negativos.

Pacientes HIV-negativos com imunossupressão foram os que apresentaram maior incidência de HSIL entre os perfis analisados – 32%, contra 17% em pacientes HIV-negativos sem imunossupressão e 15% em pacientes HIV-positivos. Isso ocorreu, provavelmente, porque enquanto pacientes HIV-positivos são rotineiramente encaminhados para rastreamento no nosso serviço, independentemente de queixa ou sintomas clínicos, pacientes HIV-negativos apenas são encaminhados quando apresentam alguma queixa ou quando já têm histórico de lesões genitais causadas pelo HPV.

A literatura é escassa no que diz respeito a lesões anais pré-malignas em pacientes HIV-negativos, sobretudo quando também não se enquadram como HSH. Entre as poucas publicações existentes sobre o assunto, a maioria trata de pacientes recipientes de TOS. Uma recente metanálise publicada por Albuquerque et al. em 2020 sobre a prevalência de HSIL e câncer de ânus em pacientes recipientes de TOS, a qual incluiu seis estudos de três países, inclusive o Brasil, relatou uma prevalência de HSIL de 4,7% nessa população (45), muito abaixo da encontrada no presente estudo, possivelmente devido ao viés de encaminhamento descrito acima. Ainda assim, o trabalho conclui que esses pacientes têm um risco substancialmente elevado para desenvolverem câncer de ânus em relação à população geral.

De fato, um levantamento realizado por Madeleine et al. em 2013 com 187.649 pacientes de TOS mostrou que o câncer de ânus é o segundo câncer associado ao HPV mais comum nessa população (46). E uma vez que a taxa de

TOS está aumentando globalmente (47), bem como a sobrevida dos pacientes que são submetidos a esse procedimento (48), é esperado que a importância do rastreamento do câncer de ânus nessa população ganhe mais notoriedade nos próximos anos. Não surpreendentemente, em 2019, a *American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice* passou a recomendar que a citologia anal seja realizada em pacientes de TOS, e que pacientes com citologia alterada devem ser encaminhados para AAR (49).

Outra particularidade notada entre pacientes imunossuprimidos incluídos neste trabalho foi a maior prevalência de HSIL na faixa etária entre 35 e 45 anos, quanto comparada à de outros pacientes da mesma faixa etária. Isso provavelmente se correlaciona com a idade em que esses pacientes passaram a ser submetidos a imunossupressão. Em uma metanálise publicada em 2021 por Clifford et al., foi observado que, embora em pacientes submetidos a TOS, a incidência de câncer de ânus seja maior em pacientes com idade mais avançada (sobretudo acima de 60 anos), o tempo desde o transplante era um melhor preditor do risco para câncer de ânus do que a idade em si (17).

No presente estudo, pacientes HIV-positivos e HIV-negativos não imunossuprimidos apresentaram uma tendência a prevalência bimodal de HSIL, com um pico entre pacientes menores de 35 anos e outro pico entre pacientes maiores de 65 anos. Sabe-se que o câncer de ânus é bastante raro entre pacientes menores de 35 anos, sendo mais comum acima dos 60 anos (50). Entretanto, a distribuição bimodal de HSIL não é de todo surpreendente. A alta prevalência de HPV-AR observada entre pacientes mais jovens (abaixo de 35 anos) pode justificar a maior prevalência de HSIL observada nessa faixa etária. Estudos populacionais sobre o padrão de infecção genital por HPV-AR também

sugerem que a prevalência de infecção é maior nas faixas etárias mais jovens, tanto em homens (51) quanto em mulheres (52,53). Quanto à prevalência de HPV genital em populações mais velhas, a literatura apresenta dados inconsistentes. Alguns estudos mostram que, em mulheres, essa prevalência vai decaindo conforme a idade (53), enquanto outros sugerem um segundo pico após a menopausa (54). Em homens, observa-se que a taxa de infecção genital por HPV atinge o máximo por volta dos 30 anos (cerca de 51% para qualquer HPV e 28% para HPV-AR) e permanece alta e estável nas demais faixas etárias (51).

Sabe-se que a maioria das infecções por HPV acabam sendo clareadas ao longo dos meses (55,56), e que mesmo lesões de alto grau podem regredir com tratamento adequado ou até mesmo espontaneamente em alguns casos (57). Por outro lado, infecção persistente pelo HPV (58–60) e idade avançada (57) são fatores de risco para o desenvolvimento, recorrência e persistência de HSIL, o que justificaria o novo pico de HSIL observado em pacientes mais velhos, acima dos 65 anos. É possível que, devido a alguma dificuldade do organismo em clarear a infecção viral, o epitélio anal desses pacientes tenha acumulado agressões ao longo dos anos, propiciando o desenvolvimento de HSIL.

5.2. Achados citológicos

A citologia anal, neste trabalho, foi realizada pelo método convencional, que é o método disponível no ICHC-FMUSP. Muitos dos outros trabalhos publicados utilizaram a citologia líquida, que pode apresentar algumas vantagens, como a possibilidade de realizar o teste de HPV na mesma amostra e menor número de amostras insatisfatórias (61–63). Esse último dado,

entretanto, foi comprovado apenas para a cérvix uterina e até o presente momento não existem dados suficientes que comprovem a superioridade de um método em relação ao outro para amostras coletadas no canal anal. Cabe ressaltar que a taxa de citologias insatisfatórias neste estudo foi bastante baixa.

No presente trabalho, o resultado citológico mais frequente foi NILM (68%), seguido de ASCUS (20%), LSIL (8%) e HSIL (4%). Há pouca dúvida com relação à conduta frente a esses dois últimos resultados, visto que indicam a presença de células com displasia no canal anal e requerem, portanto, maior investigação com AAR. O achado de ASCUS, entretanto, é menos útil e acaba acarretando em muitos encaminhamentos desnecessários para AAR, visto que apenas 10 a 20% desses pacientes apresentam, de fato, HSIL (24,26,64).

Além disso, a alta prevalência de HSIL em pacientes com citologia NILM, de 4 a 20% (24,26,34,65), torna necessário que esse exame seja coletado com frequência, a fim de eventualmente diagnosticar pacientes inicialmente falso-negativos. Tendo em vista a alta ocorrência de citologias NILM e ASCUS, que pouco agregam ao rastreamento, é possível afirmar que a citologia anal é um método imperfeito para o rastreamento do câncer de ânus e que é necessário explorar novos marcadores que possam predizer, com maior acurácia, a presença de HSIL.

5.3. HPV de alto risco

O teste para pesquisa de HPV-AR utilizado neste estudo foi o Abbott RealTime High-Risk HPV. Atualmente, existem diversos testes disponíveis para a pesquisa de HPV-AR. Entre eles, o Hybrid Capture 2, o Cobas® 4800, e o LINEAR ARRAY® HPV Genotyping Test são os mais frequentemente utilizados

em trabalhos publicados sobre o assunto. Ainda que nenhum deles seja aprovado pelo FDA para utilização em amostras de canal anal, estudos com o teste da Abbott para amostras cervicais mostraram que a performance do mesmo é comparável à de outros testes disponíveis no mercado (66,67).

Embora o teste utilizado neste estudo detecte uma boa variedade de subtipos de HPVs oncogênicos, é possível que outros subtipos estejam implicados no desenvolvimento de HSIL (36,68), o que explicaria, em parte, porque apenas 70% dos pacientes com HSIL neste estudo testaram positivo para HPV-AR. Além disso, a fisiopatologia da infecção pelo HPV no ânus ainda é menos compreendida do que no colo de útero e não se sabe se subtipos diferentes de HPV podem evoluir de maneiras distintas a depender do local de infecção e do estado imunológico do paciente (46,68). Por exemplo, no levantamento realizado por Madeleine et al. em 2013, observou-se que pacientes em uso de medicações imunossupressoras de primeira geração (ciclosporina e azatioprina) apresentavam risco duas vezes maior de desenvolverem câncer invasivo de ânus em relação a pacientes transplantados que usavam outras medicações. Em contraste, pacientes em uso de medicações mais modernas, como tacrolimus e micofenolato, apresentavam menor risco para câncer de ânus e maior risco para câncer de orofaringe do que pacientes que não usavam essas medicações (46).

No presente estudo, observou-se que a prevalência de HPV 16/18, sobretudo 16, foi maior em pacientes com HSIL em relação a pacientes sem HSIL, o que está de acordo com o reportado na literatura (58,68). No entanto, a alta prevalência de HPV-AR em pacientes sem HSIL (48%) e a elevada taxa de

pacientes com HSIL e teste de HPV-AR negativo (30%) fizeram com que esse exame, isoladamente, fosse pouco eficiente no rastreamento.

5.4. Biópsias guiadas por anoscopia de alta resolução

Um dos pontos fortes deste trabalho foi a realização de biópsia guiada por AAR em todos os pacientes. Diversos outros trabalhos não realizaram AAR rotineiramente em todos os casos, apenas em pacientes cuja citologia apresentou alguma alteração, o que pode subestimar a real prevalência de HSIL, visto que até 40% das HSIL podem ter citologia normal, conforme observado neste trabalho.

Outro ponto a ser valorizado neste estudo é que a AAR foi realizada simultaneamente à coleta da citologia e do teste de HPV-AR, refletindo um quadro mais preciso do estado atual dos pacientes. Além disso, dessa forma não houve viés no momento da realização da biópsia, o que pode justificar a aparente alta taxa de pacientes com citologia normal e sem HPV-AR com biópsia HSIL (9/140, 6,4%).

Em contrapartida, algumas desvantagens devem ser mencionadas. Houve uma proporção relativamente alta de pacientes com citologia HSIL sem que a biópsia demonstrasse HSIL (8/16, 50%). Algumas explicações podem ser dadas para esse fato. Primeiramente, lesões muito pequenas podem ter passado despercebidas inicialmente, mas progrediram com o tempo, o que explicaria por que foram identificadas lesões HSIL na AAR subsequente algumas semanas após o primeiro exame. Em segundo lugar, houve alguns casos de lesões múltiplas e circunferenciais, nos quais foi realizada biópsia de apenas uma lesão e as demais foram cauterizadas baseando-se no aspecto das mesmas na

magnificação. Nesses casos, a biópsia pode ter sido realizada em um local de displasia de baixo grau.

5.5. Performance diagnóstica e análise de custos

Os resultados apresentados indicam que o teste para detecção de HPV-AR associado à citologia anal pode otimizar o rastreamento de lesões precursoras do câncer de ânus, não quando empregado em um algoritmo de co-teste, mas sim na seleção de pacientes com citologia normal ou ASCUS para AAR.

Uma revisão da literatura nos últimos dez anos sobre o assunto mostrou que acrescentar o teste para HPV-AR aumenta a sensibilidade do rastreamento para até 100%, mas reduz substancialmente a especificidade (25,26,32–35,40,43), resultando em um grande número de falso-positivos, o que está de acordo com os achados do presente estudo. Os principais resultados desses trabalhos podem ser encontrados na Tabela 7.

Curiosamente, em dois estudos (25,35), a sensibilidade do co-teste foi consideravelmente menor do que nos outros. Ambos foram realizados na Ásia (Tailândia e Taiwan), enquanto os demais foram realizados em países ocidentais. As diferenças nas características de cada população e na epidemiologia da infecção pelo HPV podem explicar a diferença observada, ressaltando a importância de se estudar populações representativas a fim de determinar a melhor estratégia de rastreamento para cada população.

Tabela 7. Performance diagnóstica do co-teste em outros trabalhos na literatura

	População	Sensibilidade	Especificidade	VPP¹	VPN²
Berry, 2009	125 HSH (28% HIV+)	93 (68-100)	18 (4-43)	50 (31-69)	75 (19-99)
Goldstone, 2012	298 pacientes (97% homens, 45% HIV+)	93 (87-97)	40 (33-47)	46 (40-53)	91 (83-96)
Phanuphak, 2013	246 HSH (50% HIV+)	62 (44-79)	49 (42-56)	16 (10-24)	89 (82-94)
Cheng, 2015	196 homens HIV+ (94% HSH)	57 (32-79)	69 (62-75)	12 (6-22)	95 (90-98)
Heard, 2015	171 mulheres HIV+	91 (62-98)	71 (62-78)	20 (12-34)	99 (94-100)
Burgos, 2017	692 HSH HIV+	97 (91-99)	14 (11-17)	15 (12 -18)	97 (90-99)
Sambursky, 2018	894 pacientes (92% HSH, 44% HIV+)	96	48	24	99
'Proposed protocol'^a (Sambursky, 2018)	894 pacientes (92% HSH 44% HIV+)	96	61	32	99
Ramos-Cartagena, 2020	128 mulheres	100 (93-100)	16 (9-26)	42 (33-51)	100 (75-100)

¹ Valor Preditivo Positivo, ² Valor Preditivo Positivo. Intervalos de confiança de 95% mostrados entre parêntesis quando disponíveis

^a 'Proposed protocol'- encaminhar para AAR apenas pacientes com citologia LSIL/HSIL, ou NILM e HPV 16/18(+), ou ASCUS e qualquer HPV-AR

Na Tabela 7 também é possível observar que a maioria dos trabalhos foi realizada com pacientes predominantemente do sexo masculino, HSH e HIV-positivos. O presente trabalho, embora ainda com uma população predominantemente masculina, incluiu um número significativo de mulheres (99/364, 27%). Além disso, este trabalho foi o único, além do trabalho publicado por Sambursky et al., que explorou outro algoritmo diagnóstico que não o co-teste.

Em 2009, em um estudo com 597 HSH nos Estados Unidos, Goldstone et al. (69) destacaram que o teste para HPV-AR poderia desempenhar um papel importante na definição de quais pacientes com ASCUS realmente precisariam ser encaminhados para AAR, uma vez que apenas 18% deles apresentavam histologia HSIL. Acrescentar o teste de HPV-AR nesses casos poderia diminuir o encaminhamento para AAR em 46%, segundo o estudo. Em contrapartida, Burgos et al. (33), em um estudo na Espanha com 692 HSH HIV-positivos, concluiu que o teste para HPV-AR provavelmente seria de utilidade limitada, uma vez que 75% dos pacientes estudados com ASCUS eram positivos para HPV-AR, o que resultaria em uma redução do encaminhamento para AAR de apenas 6%. Isso destaca mais uma vez a importância de compreender a epidemiologia do HPV em diferentes populações.

No presente estudo, por exemplo, a especificidade de todos os algoritmos foi menor entre os pacientes imunossuprimidos, enquanto a sensibilidade foi maior. Isso é esperado uma vez que, na experiência do Ambulatório de DSTa no ICHC-FMUSP, pacientes imunossuprimidos tendem a apresentar lesões mais extensas e recorrentes, nos quais estudos anteriores mostraram que a citologia tem sensibilidade maior (70,71). Além disso, a presença de HPV-AR parece estar

correlacionada com menor imunidade (40,71), o que pode ter contribuído para a alta positividade de HPV-AR observada em pacientes imunossuprimidos.

Considerando que a infecção pelo HPV pode ter relevância diferente em contextos diferentes, Sambursky et al., em 2018 (26), estudaram o risco relativo para HSIL para várias combinações de citologia e HPV-AR em uma coorte de 894 pacientes americanos. Nesse estudo, pacientes com citologia NILM e infecção com HPV-AR que não 16/18 não apresentavam risco aumentado para HSIL, enquanto pacientes com citologia NILM e infecção por HPV 16/18 e pacientes com citologia ASCUS e infecção com qualquer HPV-AR apresentavam um risco significativamente aumentado para HSIL. Essas observações também foram constatadas no presente estudo.

Diante desses dados, Sambursky et al. propuseram então que a AAR deveria ser também oferecida a pacientes com citologia NILM e HPV 16/18 e pacientes com citologia ASCUS e qualquer HPV-AR, não apenas para aqueles com citologia LSIL ou HSIL. Em contrapartida, pacientes com ASCUS sem HPV-AR e pacientes com citologia NILM sem HPV 16/18 poderiam ser poupados da AAR, resultando em uma redução de 15% no encaminhamento para AAR, sem prejuízo na sensibilidade do rastreamento (26). A performance diagnóstica desse novo algoritmo proposto, chamado de 'proposed protocol', também pode ser encontrada na Tabela 7.

Ao usar o risco relativo para estabelecer uma abordagem alternativa de rastreamento que otimizasse os encaminhamentos para AAR, o presente estudo chegou ao mesmo algoritmo do 'proposed protocol' descrito por Sambursky et al. O algoritmo alternativo avaliado neste estudo apresentou a melhor acurácia, VPP e VPN entre todos os algoritmos. Além disso, teve sensibilidade comparável

à do co-teste e especificidade comparável à da citologia. O algoritmo alternativo também mostrou ser potencialmente custo-efetivo, com a melhor relação AAR realizada por HSIL diagnosticada e o segundo menor custo por HSIL diagnosticada, com metade da taxa de falso-negativos observada na citologia, a abordagem mais barata.

A realização de uma análise de custos é um outro aspecto positivo deste estudo, uma vez que o teste de HPV-AR e a AAR são exames caros e, no caso da AAR, pouco disponíveis. Embora os preços variem amplamente a depender da região e da cobertura por planos de saúde, as análises aqui realizadas podem contribuir para uma melhor compreensão das vantagens e desvantagens de cada abordagem e do potencial custo-benefício de cada uma.

A citologia por si só, por exemplo, é uma boa abordagem em situações de recursos financeiros escassos. No entanto, sua baixa sensibilidade torna necessário que o seguimento seja rigoroso.

Por outro lado, em casos em que o custo não é uma preocupação e o acesso à AAR é fácil, o co-teste pode ser uma opção, pois apresenta alta sensibilidade. É importante notar, entretanto, que o custo estimado para cada HSIL diagnosticada através do co-teste é de R\$ 4.294,23. O custo estimado por HSIL encontrada em um cenário em que a AAR por si só seria o exame de triagem é de R\$ 3.451,72. Portanto, é possível que em algumas situações, por exemplo no caso de pacientes imunossuprimidos, a estratégia mais custo-efetiva seja referenciar todos os pacientes diretamente para AAR, dada a baixa especificidade de todos os algoritmos nessa população. Cabe ainda a observação de que a AAR é um exame altamente operador-dependente e a

citologia e o teste de HPV-AR podem auxiliar na interpretação dos achados da AAR.

Embora o teste para HPV-AR por si só não tenha se destacado das outras abordagens quanto à sensibilidade ou custo-efetividade, é importante destacar que ele pode trazer informações valiosas. Em primeiro lugar, alguns estudos sugerem que pacientes com HPV-AR têm maior risco de desenvolver HSIL do que pacientes que persistem HPV-AR negativos. Portanto, o teste de HPV-AR poderia ser utilizado para determinar o intervalo de triagem mais adequado para cada paciente (36,72). Além disso, os testes para detecção de HPV-AR têm maior consistência do que a citologia, exigem menor nível de treinamento técnico para serem executados, e é provável que a diferença de custo entre os testes de HPV-AR e a citologia diminua com o tempo, de maneira que o principal fator limitante para programas de rastreamento de câncer de ânus ainda será a disponibilidade de infraestrutura e profissionais treinados para realizar AAR.

Nesse contexto de dificuldade no acesso para AAR, o algoritmo alternativo se apresenta como uma boa alternativa, uma vez que tem a melhor relação entre AAR realizada para cada HSIL diagnosticada, com o segundo menor custo por HSIL diagnosticada e segundo menor custo total. Além disso, esse algoritmo possui o maior VPN entre todos os métodos, de modo que os pacientes com resultados negativos podem ser poupados da AAR com maior segurança. Dessa forma, o teste para HPV-AR pode otimizar os encaminhamentos para AAR quando realizado em pacientes com citologias NILM e ASCUS, as quais ocorreram em 87,6% dos casos neste estudo.

5.6. Limitações

A população incluída neste estudo apresentava alta prevalência de HSIL, e era predominantemente composta por pacientes do sexo masculino e HIV-positivos, o que limita a generalização dos resultados apresentados.

Além disso, a maioria dos pacientes já estava em acompanhamento no ambulatório havia mais de um ano no momento do estudo, e é rotina do ambulatório a cauterização de HSIL. Portanto, a real prevalência de HSIL pode ter sido subestimada neste estudo.

Por fim, os algoritmos avaliados neste trabalho não foram testados em outras populações, também limitando a generalização dos resultados obtidos.

5.7. Perspectivas futuras

Estudar, na mesma população, se a infecção persistente por HPV-AR ou por determinados subtipos de HPV-AR, pode prever a evolução para HSIL e câncer anal, servindo para determinar o intervalo de rastreamento de cada indivíduo.

Explorar outros biomarcadores que possam detectar HSIL de maneira não invasiva, por exemplo o marcador imunohistoquímico p16 em amostras de citologia anal.

6 CONCLUSÃO

6. CONCLUSÃO

O teste para HPV-AR isoladamente não se mostrou uma boa estratégia de rastreamento, mas mostrou-se útil na triagem de pacientes com citologia NILM e ASCUS para AAR, otimizando os encaminhamentos se utilizado de acordo com o algoritmo alternativo.

O algoritmo alternativo apresentou o segundo menor custo por HSIL diagnosticada e o segundo menor custo total, apresentando-se como uma opção viável para o rastreamento do câncer de ânus.

7 ANEXOS

7. ANEXOS

7.1. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA

NOME: _____

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: _____

SEXO: M F

DATA NASCIMENTO: ____/____/____

ENDEREÇO _____

BAIRRO: _____

CIDADE: _____

CEP: _____

TELEFONE: DDD (____) _____

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DA PESQUISA: AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DE BIOMARCADORES PARA NEOPLASIA INTRAEPITELIAL DE ALTO GRAU EM ESFREGAÇO ANAL
2. PESQUISADORA: CINTIA MAYUMI SAKURAI KIMURA
3. CARGO/FUNÇÃO: MÉDICA COLOPROCTOLOGISTA
4. INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA DE SÃO PAULO: 161572
5. UNIDADE DO HCFMUSP: INSTITUTO CENTRAL
6. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA: RISCO MÍNIMO
7. DURAÇÃO DA PESQUISA: 2 ANOS.

Convite à participação:

Convido o(a) Sr(a). a participar dessa pesquisa, que visa avaliar o desempenho de marcadores presentes no escovado anal em predizer o risco de a lesão identificada pelo escovado evoluir para câncer a longo prazo. Para que seja possível realizar o estudo, será necessária a coleta do escovado anal e de uma biópsia do canal anal, a ser realizada durante a anoscopia com magnificação (exame do ânus com microscópio).

Esses exames já fazem parte da rotina de rastreamento de câncer de canal anal do nosso ambulatório e são realizados da mesma maneira há mais de 10 anos. Uma escova é introduzida no ânus e, dentro dele, rodada algumas vezes para a coleta do material. Em seguida, realizamos exame de toque retal e anoscopia de magnificação (com aparelho chamado anuscópio e auxílio de um microscópio). Uma biópsia do canal anal (retirada de um pequeno fragmento) é então realizada e enviada para análise.

Essa pesquisa acrescenta dois procedimentos à rotina:

- 1) A realização de uma segunda coleta do escovado anal, de forma que a escova será introduzida não uma, mas duas vezes no ânus.
- 2) A realização de uma biópsia mesmo que o aspecto na anoscopia seja normal.

O item 1) não acrescenta risco nenhum ao indivíduo, apenas um desconforto a mais no momento do exame, porém não causa dor.

O item 2), realização da biópsia, pode causar desconforto ou dor leve no momento da sua realização, porém discretos, pois são realizados no canal anal, porção do ânus que tem menor sensibilidade para dor. Pode provocar discreto sangramento no momento do exame e até 24 horas após o procedimento. O sangramento, quando ocorre, é de mínima quantidade (gotas). É importante lembrar que a biópsia já é rotineiramente realizada quando encontramos qualquer alteração no aspecto do ânus.

Não há benefício direto e imediato ao participante, pois os marcadores ainda estão em fase de avaliação de desempenho. Entretanto, se esses marcadores apresentarem um bom desempenho ao final do estudo, é possível que, no futuro, não seja mais necessário realizar a anoscopia (exame do ânus com aparelho) em todos os pacientes rotineiramente.

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é a Dra. Cintia Mayumi Sakurai Kimura, que pode ser encontrado no endereço Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 255, 9º andar, telefone 2661-6162. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (CEP-FMUSP): **Av. Dr. Arnaldo, 251 - Cerqueira César - São Paulo - SP -21º andar – sala 36- CEP: 01246-000** Tel: 3893-4401/4407 E-mail: cep.fm@usp.br

É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;

As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente;

O participante tem o direito de ser atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, que sejam do conhecimento dos pesquisadores;

Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação.

A pesquisadora se compromete a utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim.

Eu discuti com o Dr. Cintia Mayumi Sakurai Kimura sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente

Data ____ / ____ / ____

Assinatura da testemunha

Data ____ / ____ / ____

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo

Data ____ / ____ / ____

8 REFERÊNCIAS

8. REFERÊNCIAS

1. Sporn MB. Approaches to Prevention of Epithelial Cancer during the Preneoplastic Period'. 1976;36:5.
2. zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer*. 2002 May;2(5):342–50.
3. Dürst M, Gissmann L, Ikenberg H, zur Hausen H. A papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1983 Jun;80(12):3812–5.
4. Boshart M, Gissmann L, Ikenberg H, Kleinheinz A, Scheurlen W, zur Hausen H. A new type of papillomavirus DNA, its presence in genital cancer biopsies and in cell lines derived from cervical cancer. *EMBO J*. 1984 May;3(5):1151–7.
5. Schiffman MH, Bauer HM, Hoover RN, Glass AG, Cadell DM, Rush BB, et al. Epidemiologic Evidence Showing That Human Papillomavirus Infection Causes Most Cervical Intraepithelial Neoplasia. *J Natl Cancer Inst*. 1993;85(12):7.
6. Papanicolaou GN, Traut HF. The diagnostic value of vaginal smears in carcinoma of the uterus. 1941. *Arch Pathol Lab Med*. 1997 Mar;121(3):211–24.
7. Palmer JG, Shepherd NA, Jass JR, Crawford LV, Northover JM. Human papillomavirus type 16 DNA in anal squamous cell carcinoma. *Lancet Lond Engl*. 1987 Jul 4;2(8549):42.
8. Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program Populations (1969-2019) (www.seer.cancer.gov/popdata), National Cancer Institute, DCCPS, Surveillance Research Program, released February 2021.
9. Roberts JR, Siekas LL, Kaz AM. Anal intraepithelial neoplasia: A review of diagnosis and management. *World J Gastrointest Oncol*. 2017 Feb 15;9(2):50–61.
10. Brickman C, Palefsky JM. Cancer in the HIV-Infected Host: Epidemiology and Pathogenesis in the Antiretroviral Era. *Curr HIV/AIDS Rep*. 2015 Dec;12(4):388–96.
11. Silverberg MJ, Lau B, Justice AC, Engels E, Gill MJ, Goedert JJ, et al. Risk of Anal Cancer in HIV-Infected and HIV-Uninfected Individuals in North America. *Clin Infect Dis*. 2012 Apr 1;54(7):1026–34.
12. Shiels MS, Pfeiffer RM, Gail MH, Hall HI, Li J, Chaturvedi AK, et al. Cancer Burden in the HIV-Infected Population in the United States. *JNCI J Natl Cancer Inst*. 2011 May 4;103(9):753–62.

13. Patel P, Hanson DL, Sullivan PS, Novak RM, Moorman AC, Tong TC, et al. Incidence of Types of Cancer among HIV-Infected Persons Compared with the General Population in the United States, 1992–2003. *Ann Intern Med*. 2008 May 20;148(10):728.
14. Fox P, Stebbing J, Portsmouth S, Winston A, Frances N, Nelson M, et al. Lack of response of anal intra-epithelial neoplasia to highly active antiretroviral therapy: *AIDS*. 2003 Jan;17(2):279–80.
15. Diamond C, Taylor TH, 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: *Sex Transm Dis*. 2005 May;32(5):314–20.
16. Piketty C, Selinger-Leneman H, Grabar S, Duvivier C, Bonmarchand M, Abramowitz L, et al. Marked increase in the incidence of invasive anal cancer among HIV-infected patients despite treatment with combination antiretroviral therapy: *AIDS*. 2008 Jun;22(10):1203–11.
17. Clifford GM, Georges D, Shiels MS, Engels EA, Albuquerque A, Poynten IM, et al. A meta-analysis of anal cancer incidence by risk group: Toward a unified anal cancer risk scale. *Int J Cancer*. 2021 Jan;148(1):38–47.
18. Goldie SJ, Kuntz KM, Weinstein MC, Freedberg KA, Palefsky JM. Cost-effectiveness of screening for anal squamous intraepithelial lesions and anal cancer in human immunodeficiency virus-negative homosexual and bisexual men. *Am J Med*. 2000 Jun 1;108(8):634–41.
19. Stewart DB, Gaertner WB, Glasgow SC, Herzig DO, Feingold D, Steele SR. The American Society of Colon and Rectal Surgeons Clinical Practice Guidelines for Anal Squamous Cell Cancers (Revised 2018): *Dis Colon Rectum*. 2018 Jul;61(7):755–74.
20. Geh I, Gollins S, Renehan A, Scholefield J, Goh V, Prezzi D, et al. Association of Coloproctology of Great Britain & Ireland (ACPGBI): Guidelines for the Management of Cancer of the Colon, Rectum and Anus (2017) - Anal Cancer. *Colorectal Dis Off J Assoc Coloproctology G B Irel*. 2017;19 Suppl 1:82–97.
21. Aberg JA, Gallant JE, Ghanem KG, Emmanuel P, Zingman BS, Horberg MA. Primary Care Guidelines for the Management of Persons Infected With HIV: 2013 Update by the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2014 Jan 1;58(1):e1–34.
22. New York State Department of Health AIDS Institute. HIV Clinical Resource: anal dysplasia and cancer. New York, NY: New York State Department of Health (2007).;
23. Siegenbeek van Heukelom ML, Marra E, Cairo I, Van Eeden A, Schim van der Loeff MF, De Vries HJC, et al. Detection Rate of High-Grade Squamous

- Intraepithelial Lesions as a Quality Assurance Metric for High-Resolution Anoscopy in HIV-Positive Men. *Dis Colon Rectum*. 2018 Jul;61(7):780–6.
24. Nahas CSR, da Silva Filho EV, Segurado AAC, Genevcius RFF, Gerhard R, Gutierrez EB, et al. Screening Anal Dysplasia in HIV-Infected Patients: Is There an Agreement Between Anal Pap Smear and High-Resolution Anoscopy-Guided Biopsy?: *Dis Colon Rectum*. 2009 Nov;52(11):1854–60.
 25. Phanuphak N, Teeratakulpisarn N, Keelawat S, Pankam T, Barisri J, Triratanachat S, et al. Use of Human Papillomavirus DNA, E6/E7 mRNA, and p16 Immunocytochemistry to Detect and Predict anal High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions in HIV-Positive and HIV-Negative Men Who Have Sex with Men. Gao J-X, editor. *PLoS ONE*. 2013 Nov 12;8(11):e78291.
 26. Sambursky JA, Terlizzi JP, Goldstone, SE. Testing for Human Papillomavirus Strains 16 and 18 Helps Predict the Presence of Anal High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions: *Dis Colon Rectum*. 2018 Oct;1.
 27. Nishimura M, Miyatake T, Nakashima A, Miyoshi A, Mimura M, Nagamatsu M, et al. Clinical Significance of Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance among Patients Undergoing Cervical Conization. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2016 Jan 11;16(18):8145–7.
 28. Wright TC, Stoler MH, Parvu V, Yanson K, Eckert K, Kodsi S, et al. Detection of Cervical Neoplasia by Human Papillomavirus Testing in an Atypical Squamous Cells-Undetermined Significance Population. *Am J Clin Pathol*. 2019 Jan 1;151(1):53–62.
 29. Fujiwara H, Suzuki M, Morisawa H, Sayama M, Kimura K. The Impact of Triage for Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance with Human Papillomavirus Testing in Cervical Cancer Screening in Japan. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2019 Jan 1;20(1):81–5.
 30. Stoler MH, Wright TC, Sharma A, Apple R, Gutekunst K, Wright TL. High-Risk Human Papillomavirus Testing in Women With ASC-US Cytology. *Am J Clin Pathol*. 2011 Mar 1;135(3):468–75.
 31. Jahic M. Diagnostic Approach to Patients with Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance Cytologic Findings on Cervix. *Med Arch*. 2016;70(4):296.
 32. Ramos-Cartagena JM, Pérez CM, Guiot HM, Amaya-Ardilla CP, Tirado-Gómez M, Ortiz AP. Assessment of Anal Cancer Screening Tools in Detecting High-Grade Anal Squamous Intraepithelial Lesions in Women: *J Low Genit Tract Dis*. 2020 Jan;24(1):75–81.
 33. Burgos J, Hernández-Losa J, Landolfi S, Guelar A, Dinares M, Villar J, et al. The role of oncogenic human papillomavirus determination for diagnosis of high-grade anal intraepithelial neoplasia in HIV-infected MSM: *AIDS*. 2017 Oct;31(16):2227–33.

34. Goldstone SE, Lowe B, Rothmann T, Nazarenko I. Evaluation of the hybrid capture 2 assay for detecting anal high-grade dysplasia. *Int J Cancer*. 2012 Oct 1;131(7):1641–8.
35. Cheng S-H, Wang C-C, Chang S-L, Chu F-Y, Hsueh Y-M. Oncogenic human papillomavirus is not helpful for cytology screening of the precursor lesions of anal cancers in Taiwanese men who are infected with human immunodeficiency virus. *Int J Clin Oncol*. 2015 Oct;20(5):943–51.
36. Castle PE, Stoler MH, Wright TC, Sharma A, Wright TL, Behrens CM. Performance of carcinogenic human papillomavirus (HPV) testing and HPV16 or HPV18 genotyping for cervical cancer screening of women aged 25 years and older: a subanalysis of the ATHENA study. *Lancet Oncol*. 2011 Sep;12(9):880–90.
37. de Martel C, Shiels MS, Franceschi S, Simard EP, Vignat J, Hall HI, et al. Cancers attributable to infections among adults with HIV in the United States: AIDS. 2015 Oct;29(16):2173–81.
38. Salit IE, Lytwyn A, Raboud J, Sano M, Chong S, Diong C, et al. The role of cytology (Pap tests) and human papillomavirus testing in anal cancer screening: AIDS. 2010 May;1.
39. 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. Liu X, editor. *PLOS ONE*. 2015 Apr 7;10(4):e0123590.
40. Berry JM, Palefsky JM, Jay N, Cheng S-C, 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 Feb;52(2):239–47.
41. Scholefield JH, Talbot IC, Whatrup C, Sonnex C, Palmer JG, Mindel A, et al. ANAL AND CERVICAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA: POSSIBLE PARALLEL. *The Lancet*. 1989 Sep;334(8666):765–9.
42. Darragh TM, Colgan TJ, Cox JT, Heller DS, Henry MR, Luff RD, et al. 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. *Arch Pathol Lab Med*. 2012 Oct 1;136(10):1266–97.
43. Heard I, Etienney I, Potard V, Poizot-Martin I, Moore C, Lesage AC, et al. High prevalence of Anal Human Papillomavirus-associated cancer

- precursors in a contemporary cohort of asymptomatic HIV-infected women. *Clin Infect Dis*. 2015 Feb 2;civ049.
44. Pernot S, Boucheron P, Péré H, Lucas M-L, Veyer D, Fathallah N, et al. Comparison of anal cancer screening strategies including standard anoscopy, anal cytology, and HPV genotyping in HIV-positive men who have sex with men. *Br J Cancer*. 2018 Aug;119(3):381–6.
 45. Albuquerque A, Stirrup O, Nathan M, Clifford GM. Burden of anal squamous cell carcinoma, squamous intraepithelial lesions and HPV16 infection in solid organ transplant recipients: A systematic review and meta-analysis. *Am J Transplant*. 2020 May 16;ajt.15942.
 46. Madeleine MM, Finch JL, Lynch CF, Goodman MT, Engels EA. HPV-Related Cancers After Solid Organ Transplantation in the United States: HPV-Related Cancers After Solid Organ Transplant. *Am J Transplant*. 2013 Dec;13(12):3202–9.
 47. Global Observatory on Donation and Transplantation [Internet]. Available from: <http://www.transplant-observatory.org/>
 48. Dantal J, Souillou J-P. Immunosuppressive Drugs and the Risk of Cancer after Organ Transplantation. *N Engl J Med*. 2005 Mar 31;352(13):1371–3.
 49. Chin-Hong PV, Reid GE, the AST Infectious Diseases Community of Practice. Human papillomavirus infection in solid organ transplant recipients: Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clin Transplant* [Internet]. 2019 Sep [cited 2020 Oct 7];33(9). Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/ctr.13590>
 50. Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) database [Internet]. Available from: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/anus.html>
 51. Han JJ, Beltran TH, Song JW, Klaric J, Choi YS. Prevalence of Genital Human Papillomavirus Infection and Human Papillomavirus Vaccination Rates Among US Adult Men: National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2013-2014. *JAMA Oncol*. 2017 Jun 1;3(6):810.
 52. Martins TR, Mendes de Oliveira C, Rosa LR, de Campos Centrone C, Rodrigues CLR, Villa LL, et al. HPV genotype distribution in Brazilian women with and without cervical lesions: correlation to cytological data. *Virology*. 2016 Dec;13(1):138.
 53. de Sanjosé S, Diaz M, Castellsagué X, Clifford G, Bruni L, Muñoz N, et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2007 Jul;7(7):453–9.
 54. Fernandes JV, Meissner R de V, de Carvalho MGF, Fernandes TAA de M, de Azevedo PRM, Villa LL. Prevalence of HPV infection by cervical cytologic

- status in Brazil. *Int J Gynaecol Obstet Off Organ Int Fed Gynaecol Obstet*. 2009 Apr;105(1):21–4.
55. Shvetsov YB, Hernandez BY, McDuffie K, Wilkens LR, Zhu X, Ning L, et al. Duration and Clearance of Anal Human Papillomavirus (HPV) Infection among Women: The Hawaii HPV Cohort Study. *Clin Infect Dis*. 2009 Mar;48(5):536–46.
 56. Geskus RB, González C, Torres M, Del Romero J, Viciano P, Masiá M, et al. Incidence and clearance of anal high-risk human papillomavirus in HIV-positive MSM: estimates and risk factors. *AIDS*. 2015 Sep;1.
 57. Tong WWY, Jin F, McHugh LC, Maher T, Sinclair B, Grulich AE, et al. Progression to and spontaneous regression of high-grade anal squamous intraepithelial lesions in HIV-infected and uninfected men: *AIDS*. 2013 Sep;27(14):2233–43.
 58. Liu S, Zhong G, Zhou W, Xue H, Pan W, Xu L, et al. Can Endorectal Ultrasound, MRI, and Mucosa Integrity Accurately Predict the Complete Response for Mid-Low Rectal Cancer After Preoperative Chemoradiation? A Prospective Observational Study from a Single Medical Center: *Dis Colon Rectum*. 2018 Jun;1.
 59. de Pokomandy A, Rouleau D, Ghattas G, Trottier H, Vezina S, Cote P, et al. HAART and Progression to High-Grade Anal Intraepithelial Neoplasia in Men Who Have Sex with Men and Are Infected with HIV. *Clin Infect Dis*. 2011 May 1;52(9):1174–81.
 60. Burgos J, Curran A, Tallada N, Guelar A, Navarro J, Landolfi S, et al. Risk of progression to high-grade anal intraepithelial neoplasia in HIV-infected MSM: *AIDS*. 2015 Mar;29(6):695–702.
 61. Longatto-Filho A, Levi JE, Martins TR, Cohen D, Cury L, Villa LL, et al. Critical Analyses of the Introduction of Liquid-Based Cytology in a Public Health Service of the State of São Paulo, Brazil. *Acta Cytol*. 2015;59(3):273–7.
 62. Jeong H, Hong SR, Chae S-W, Jin S-Y, Yoon HK, Lee J, et al. Comparison of Unsatisfactory Samples from Conventional Smear versus Liquid-Based Cytology in Uterine Cervical Cancer Screening Test. *J Pathol Transl Med*. 2017 May;51(3):314–9.
 63. Sharma J, Toi P, Siddaraju N, Sundareshan M, Habeebullah S. A comparative analysis of conventional and SurePath liquid-based cervicovaginal cytology: A study of 140 cases. *J Cytol*. 2016;33(2):80.
 64. Etienney I, Vuong S, Si-Mohamed A, Fléjou J-F, Atienza P, Bauer P, et al. Value of cytologic Papanicolaou smears and polymerase chain reaction screening for human papillomavirus DNA in detecting anal intraepithelial neoplasia: Comparison with histology of a surgical sample. *Cancer*. 2012 Dec 15;118(24):6031–8.

65. Stier EA, Lensing SY, Darragh TM, Deshmukh AA, Einstein MH, Palefsky JM, et al. Prevalence of and Risk Factors for Anal High-grade Squamous Intraepithelial Lesions in Women Living with Human Immunodeficiency Virus. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2020 Apr 10;70(8):1701–7.
66. Moss SM, Bailey A, Cubie H, Denton K, Sargent A, Muir P, et al. Comparison of the performance of HPV tests in women with abnormal cytology: results of a study within the NHS cervical screening programme. *Cytopathology.* 2015 Dec;26(6):373–80.
67. Poljak M, Oštrbenk A. The Abbott RealTime High Risk HPV test is a clinically validated human papillomavirus assay for triage in the referral population and use in primary cervical cancer screening in women 30 years and older: a review of validation studies. *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat.* 2013;22(2):43–7.
68. Lin C, Franceschi S, Clifford GM. Human papillomavirus types from infection to cancer in the anus, according to sex and HIV status: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis.* 2018 Feb;18(2):198–206.
69. Goldstone SE, Enyinna CS, Davis TW. Detection of Oncogenic Human Papillomavirus and Other Predictors of Anal High-Grade Dysplasia in Men Who Have Sex with Men with Abnormal Cytology: *Dis Colon Rectum.* 2009 Jan;52(1):31–9.
70. Albuquerque A, Sheaff M, Stirrup O, Cappello C, Bowring J, Cuming T, et al. Performance of Anal Cytology Compared With High-Resolution Anoscopy and Histology in Women With Lower Anogenital Tract Neoplasia. *Clin Infect Dis.* 2018 Sep 28;67(8):1262–8.
71. Nathan M, Singh N, Garrett N, Hickey N, Prevost T, Sheaff M. Performance of anal cytology in a clinical setting when measured against histology and high-resolution anoscopy findings: *AIDS.* 2010 Jan;24(3):373–9.
72. Goldstone SE, Moshier E. Detection of Oncogenic Human Papillomavirus Impacts Anal Screening Guidelines in Men Who Have Sex With Men: *Dis Colon Rectum.* 2010 Aug;53(8):1135–42.