

Sensibilidade e Especificidade da Citologia Anal com Escova no Diagnóstico das Lesões Clínicas Provocadas pelo Papilomavírus Humano, Comparando Uma com Duas Coletas

Sensibility and Specificity of Anal Cytology with Cytobrush in the HPV Induced Clinical Lesions Diagnosis, Comparing One to Two Smears

SIDNEY ROBERTO NADAL, TSBCP¹; EDENILSON EDUARDO CALORE²;
CARMEN RUTH MANZIONE, TSBCP³; CIBELLE NUNES DE ARRUDA⁴; JONATHAN DOYUN CHA⁴;
FERNANDA BELLOTTI FORMIGA, ASBCP⁵; THIAGO DA SILVEIRA MANZIONE, ASBCP⁵

¹ Doutor pela Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo. Supervisor de Equipe Técnica de Proctologia do Instituto de Infectologia Emilio Ribas; ² Livre Docente pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Supervisor de Equipe Técnica de Proctologia do Instituto de Infectologia Emilio Ribas; ³ Doutor pela Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo. Médica de Equipe Técnica de Proctologia do Instituto de Infectologia Emilio Ribas; ⁴ Acadêmico da Liga de Proctologia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo; ⁵ Médico Residente da Disciplina de Proctologia do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo.

NADAL SR; CALORE EE; MANZIONE CR; ARRUDA CN; CHA JD; FORMIGA FB; MANZIONE TS. Sensibilidade e Especificidade da Citologia Anal com Escova no Diagnóstico das Lesões Clínicas Provocadas pelo Papilomavírus Humano, Comparando Uma com Duas Coletas. *Rev bras Coloproct*, 2009;29(3): 297-302.

RESUMO: OBJETIVO: comparar os resultados da coleta única com duas amostras para avaliar se haverá melhora da sensibilidade e especificidade do exame. **MÉTODO:** Foram 112 doentes masculinos HIV-positivo com doença anal progressiva ou atual pelo Papilomavírus humano (HPV). As lesões HPV induzidas foram observadas em 58 deles. Colhemos material do canal anal utilizando duas escovas (cytobrush) Comparamos estatisticamente os resultados da primeira amostra com a soma das duas coletas. **RESULTADOS:** dos 58 doentes com lesões clínicas, a primeira amostra confirmou a doença em 40 (69%) e a soma das duas coletas revelou lesões em 51 (88%). Os resultados mostraram sensibilidade de 69% com a primeira coleta e 88% quando somadas as duas amostras. Essa diferença foi confirmada estatisticamente. A especificidade foi menor para as duas amostras, porém sem diferença estatística. **CONCLUSÃO:** Concluímos que a sensibilidade foi maior e a especificidade foi semelhante quando os resultados foram obtidos com a soma das duas amostras da citologia anal.

Descritores: Neoplasia intra-epitelial. Infecção pelo papilomavirus humano. Infecção pelo HIV. Carcinoma de células escamosas, canal anal.

INTRODUÇÃO

Com o surgimento da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), o carcinoma espinocelular (CEC) anal vem aumentando nos homens entre 30 e 40 anos de idade, especialmente nos praticantes do sexo anal receptivo,¹ aparece

estartintimamente relacionado com a infecção pelo papilomavírus humano (HPV).^{2,3}

O HPV é responsável pelos condilomas acuminados e muitos deles contêm displasias. Vários são os fatores associados à maior probabilidade do desenvolvimento dessas displasias: a prática do sexo anal, a soropositividade para HIV,⁴⁻⁷ a imunodepressão,⁸ as

Trabalho realizado pelas Equipes Técnicas de Proctologia e de Anatomia Patológica do Instituto de Infectologia Emilio Ribas e pela Liga de Coloproctologia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo.

Recebido em 10/08/2009

Aceito para publicação em 17/09/2009

fases avançadas da infecção pelo HIV,⁹ as lesões verrucosas acima da linha pectínea,⁶ as contagens de linfócitos T CD4 inferiores a 500/mm³ ^{8,11-13} e o tipo viral do HPV.^{14,15} Entretanto, o tempo de aparecimento dos condilomas, o tratamento tópico anterior e a associação com outras doenças sexualmente transmissíveis não parecem representar fatores de risco.⁶ Além disso, parece que o aspecto mais importante para o desenvolvimento do CEC anal é a duração da infecção pelo HIV.¹⁶

Essas displasias são atualmente conhecidas como neoplasias intra-epiteliais anais (NIA), que são as prováveis precursoras do tumor invasivo, com clara associação com os tipos de HPV de alto risco.⁶ Prova disso é a identificação do DNA do HPV nas células tumorais, que variou entre 35 e 90% nas diversas casuísticas publicadas.^{11-15,17}

O risco de progressão pode estar ligado à severidade da NIA^{9,10} e, embora ainda não haja comprovação, o tratamento dessas lesões preveniria a evolução para carcinoma.^{6,8,9,11} NIA e câncer anal têm sido vistos com maior frequência na junção escamocolumnar, na linha pectínea, que na margem anal (relação de 6:1), o que torna necessária a avaliação minuciosa dessa região.

Devido à possibilidade de detectar as lesões precursoras, programas padronizados para rastreamento do câncer anal, e dos seus precursores, e protocolos para tratamento da NIA deveriam ser instituídos.⁸ Sugere-se que a maioria dos casos de CEC anal tenha padrão biológico idêntico ao do câncer cervical. Da mesma forma que no colo do útero, o HPV no canal anal tem predileção pela junção escamocelular, parecendo lógico que esfregaços celulares colhidos dessa região possam auxiliar na detecção precoce das lesões citopáticas provocadas pelo vírus, selecionando os doentes para colposcopia anal, ou anoscopia ampliada, e biópsias.

Para candidatar técnicas para tratar as lesões precursoras, a padronização e a melhora dos métodos diagnósticos são essenciais,^{12,18} e acreditamos que a citologia anal possa servir para rastreamento, evitando a progressão para o carcinoma anal.¹⁹ Os vários trabalhos da literatura referiram sensibilidades para lesões subclínicas entre 45 e 98%,^{14,20,21} talvez por falta de padronização quando à forma e local de coleta. Além disso, falhas de viés intra e interobservadores foram notadas na interpretação da NIA,⁷ colocando restrições ao método e justificando esses resultados variados.⁷ Também, não encontramos trabalhos sobre a efi-

cácia do método para lesões clínicas do canal anal, o que seria importante, já que muitos profissionais não dispõem do anuscópio e nem sempre o toque retal é suficiente para sugerir sua presença.

Temos realizado citologia anal como rotina no seguimento dos doentes tratados de condilomas anais, com sensibilidade de 74% quando a escova foi introduzida até quatro centímetros a partir da margem anal.²² Nenhum deles referiu dor ou sangramento durante a coleta ou nos dias que se seguiram. No entanto, não há consenso na literatura sobre a real sensibilidade e especificidade da citologia na detecção da infecção pelo HPV, bem como há dúvidas sobre possíveis melhores resultados com a colheita de mais de uma amostra.

Assim sendo, idealizamos estudo de avaliação da citologia anal em doentes HIV-positivo portadores de infecção pelo HPV, com lesões pregressas ou presentes, utilizando duas coletas.

OBJETIVO

Avaliar a sensibilidade e a especificidade da citologia anal com escova para o diagnóstico de infecção clínica pelo HPV no canal anal de doentes HIV-positivo, comparando a coleta com uma segunda amostra retirada imediatamente após a primeira.

MÉTODO

Realizamos o estudo após avaliação e autorização da Comissão Científica e do Comitê de Ética em Pesquisa.

Os critérios de inclusão foram:

- homens adultos, com idade superior a 18 anos, portadores do HIV,
- com presença atual ou pregressa de condilomas no canal anal;
- que assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)

Nesses doentes, após a assinatura do TCLE e antes de completar o exame proctológico com toque retal e anoscopia, faremos a coleta do material para citologia anal com escova apropriada (cytobrush), da seguinte maneira:

- a) afastamento das nádegas para observar verrugas ou feridas anais na porção externa do canal anal.
- b) introdução da escova fazendo movimentos suaves de rotação até o desaparecimento completo de

suas cerdas evitando contato com as lesões externas, quando existentes.

c) da mesma maneira a retiramos e o material foi espalhado em lâminas de vidro acondicionados em frasco de plástico, cheio com álcool etílico a 70%.

d) realizamos coleta da segunda amostra, seguindo a mesma técnica, utilizando outra escova e acondicionando a lâmina em outro frasco.

Os frascos foram enviados para o Laboratório de Anatomia Patológica para colorações pela hematoxilina-eosina e Papanicolaou, e posterior leitura. O mesmo patologista avaliou todas as lâminas.

Como o objetivo foi saber se a segunda coleta aumentou a eficácia do exame na detecção das lesões induzidas pelo HPV no canal anal, a primeira coleta serviu como grupo-controle para somas dos resultados das duas amostras. Aplicamos os métodos apropriados para avaliação estatística dos resultados, utilizando o índice de 5% para rejeição da hipótese de nulidade, e usamos a tabela 2x2, para conhecer a sensibilidade e a especificidade.

Alguns parâmetros são obtidos da Tabela 2x2. Os principais são:

· Sensibilidade: É a fração dos doentes que o teste é capaz de detectar. Matematicamente, $a/(a+c)$.

· Especificidade (ou Taxa de Verdadeiro Negativo): É a fração dos não-doentes que o teste é capaz de detectar. Matematicamente, $d/(b+d)$.

· Valor Preditivo Positivo: É a fração dos doentes com teste positivo que efetivamente tem a doença. Matematicamente, $a/(a+b)$.

· Valor Preditivo Negativo: É a fração dos doentes com teste negativo que efetivamente não tem a doença. Matematicamente, $d/(c+d)$.

Os resultados obtidos foram submetidos ao teste de comparação de duas amostras aceitando os resultados quando a probabilidade do acaso for menor ou igual a 5%.

RESULTADOS

Colhemos amostras de 112 doentes masculinos com idades variando entre 18 e 62 anos e com média de 38 anos. Todos tinham história progressiva ou atual de verrugas anais. O procedimento foi realizado sem a necessidade de anestesia, devido não causar dor ou desconforto.

Durante o exame proctológico, incluindo anoscopia, identificamos lesões HPV induzidas no canal anal de 58 doentes. Neles, a primeira amostra foi positiva em 40 (69%). Observamos a presença de NIA em outros 11 doentes cujo resultado da primeira coleta foi negativo, aumentando a eficácia para 88%. A análise estatística (χ^2 quadrado) confirmou a diferença ($p = 0,001$) (Tabela 1)

Utilizando a tabela 2x2, observamos que a sensibilidade para a primeira amostra foi de 68,96% e a especificidade foi de 53,76%. Para as duas amostras, a sensibilidade foi 87,93% e a especificidade foi 42,74%. Os valores preditivos positivos e negativos estão na Tabela 2. A avaliação estatística utilizando método de comparação de duas amostras mostrou diferença significativa para a sensibilidade o valor preditivo negativo. (Tabela 2)

Entre os 54 doentes cuja anoscopia não revelou lesão HPV induzida, a primeira amostra da citologia detectou NIA em 22 (40,7%) e a segunda coleta mostrou-se positiva em mais sete. A análise estatística (χ^2 quadrado) não mostrou diferença ($p = 0,247$). Submetemos esses 29 doentes à colposcopia anal para biópsia dirigida e a lesão foi identificada e confirmada histologicamente em 22 (76%).

DISCUSSÃO

Em diversos trabalhos, as escovas foram enfiadas no canal anal até a distância de dois,²³ três,^{24,25} ou

Tabela 1 – Distribuição de 58 doentes HIV-positivo com doença clínica HPV induzida no canal anal, comparando os achados da citologia da primeira coleta com os das duas amostras. IIER, 2009.

Lesão clínica HPV induzida	Citologia (+)		Citologia (-)	
	N	%	N	%
1ª amostra	40	69	18	31
1ª + 2ª amostras	51	88	07	12

$p = 0,0001$.

Tabela 2 – Comparação dos parâmetros obtidos com a Tabela 2x2 nos achados da primeira coleta e das duas amostras de citologia anal de 112 doentes HIV-positivo. IIER, 2009.

Parâmetros	primeira amostra(%)	duas amostras (%)	p
Sensibilidade	68,96	87,93	0,001 *
Especificidade	53,76	42,74	0,125
Valor preditivo positivo	61,53	61,44	0,908
Valor preditivo negativo	61,75	75,86	0,033*

(*) Análise da comparação de duas amostras – resultado com diferença significativa.

quatro^{26,27} centímetros (cm) a partir da margem anal. Outros estudos relataram que o comprimento do canal anal variou entre 3,27 e 3,4 cm, em homens e entre 2,52 e 2,93 cm, nas mulheres.²⁸⁻³¹ Esses dados justificaram os resultados que encontramos em pesquisa anterior, em que a eficácia da citologia anal foi superior quando as amostras foram obtidas até quatro cm, quando comparadas às conseguidas em 2 cm.²²

Em relação ao tipo de coleta, atualmente dispomos do método do Papanicolaou, em que as amostras são colhidas com escova (*cytobrush*) e o método da coleta úmida, o *Thin Prep*, em que a escova vem acondicionada em meio líquido e retorna a esse após seu uso. Estudos comparando ambos os métodos mostraram sensibilidade maior com o *Thin Prep*.^{32,33} No nosso estudo, aplicamos a escova seca por ser o meio disponível no Serviço.

O patologista avaliou a amostra, identificando a quantidade e a qualidade das células presentes (percentagem de células glandulares / transicionais) e classificando do mesmo modo que o esfregaço cervical, pelo Sistema Bethesda.³⁴ Nesse sistema, os achados são distribuídos em: insatisfatório devido a celularidade deficiente; negativo para lesão intra-epitelial ou malignidade.(NIL), células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASCUS), lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau (LSIL) ou lesão intra-epitelial escamosa de alto grau (HSIL).³⁵ No nosso estudo, optamos por usar a nomenclatura NIA, que tem correspondência histológica, com a SIL, sendo NIAA igual a HSIL e NIAB como LSIL.

Acreditamos que a citologia anal é bom método para rastreamento e seguimento, selecionando pacientes para colposcopia anal e biópsias, métodos mais caros, elaborados e invasivos. Sugerimos que pode ser usada por profissionais que não tenham anuscópios disponíveis, ou que realizem anuscopia,

para diagnóstico de lesões HPV induzidas no canal anal, que muitas vezes não são detectadas ao toque retal. Todavia, a sensibilidade precisa ser melhorada, sendo necessárias mais pesquisas a esse respeito. Nesse ínterim, resolvemos pesquisar a sensibilidade com duas coletas, baseados na citação que a eficácia melhorou quando as citologias foram colhidas em intervalos de seis meses e os resultados foram somados.³⁶ Não encontramos estudos semelhantes na literatura revista.

Consideramos que a melhora da sensibilidade de 69%, com a primeira coleta, para 88%, quando as duas amostras são consideradas, um alento para os portadores das lesões HPV induzidas e seus parceiros sexuais, no sentido de diagnosticar, com um método simples, as lesões precursoras do carcinoma anal. De qualquer forma, vamos aumentar a casuística e esperamos que o estudo seja repetido para confirmar o achado. Também, pretendemos avaliar a eficácia da *Thin Prep*, comparando-o ao método tradicional.

Observamos, também, que 59% dos doentes sem lesões diagnosticadas ao exame proctológico completo apresentaram SIL à citologia. A colposcopia anal e o ácido acético não revelaram lesões no canal anal de 20% deles. Sugerimos, que a justificativa para essa observação seria o fato de se tratarem de doentes masculinos HIV-positivo, que têm elevado índice de infecção pelo HPV, sendo que muitos deles apresentavam lesões externas. Talvez, as células provenientes da doença clínica ou subclínica da margem anal pudessem contaminar o canal anal e ocasionar o resultado positivo. Também, suspeitamos que lesões existentes no interior das criptas anais, não detectadas pela colposcopia, poderiam ser reveladas pelo raspado. Concordamos com aqueles que sugeriram que, nos casos de citologia positiva com exame colposcópico discordante, elevada suspeição deve ser mantida e que

nova avaliação seja feita em curto intervalo.³⁷ De qualquer forma, quando a citologia revelar diagnóstico diferente da normalidade, a avaliação com o colposcópio deve ser realizada para permitir biópsias dirigidas.

Os resultados obtidos nas condições de execução do presente estudo permitiram concluir que a sensibilidade da citologia anal com duas coletas foi maior que com a coleta única e que a especificidade foi semelhante.

ABSTRACT: OBJECTIVE: The aim of this study was to know if two smears may have better sensibility and specificity than a unique smear for anal cytology. **METHOD:** There were 112 patients, males, HIV-positive, with current or previous anal HPV-induced lesions. Proctological examination revealed clinical disease in the anal canal of 58 of them. Smears were collect with cytobrushes. We compared results of the first smear to a sum of this with a second one. **RESULTS:** First smear was positive in 40 patients (69%), and with both smears this incidence reached 88%. Results showed sensibility of 69% to the unique smear, and 88% when both were summed. Statistics revealed significant difference. Specificity was higher when both smears were summed, but statistics showed no difference. **CONCLUSION:** We concluded sensibility of anal cytology was better and specificity was similar when results were obtained with a sum of two smears.

Key words: Intra-epithelial neoplasia. Human papillomavirus infections. HIV infection. Squamous-cell carcinoma, anal canal.

REFERÊNCIAS

01. Lytwyn A, Salit IE, Raboud J, Chapman W, Darragh T, Winkler B et al. Interobserver agreement in the interpretation of anal intraepithelial neoplasia. *Cancer*. 2005;103:1447-56.
02. Frisch M, Fenger C, van den Brule AJ, Sorensen P, Meijer CJ, Walboomers JM et al. Variants of squamous cell carcinoma of the anal canal and perianal skin and their relation to human papillomaviruses. *Cancer Res*. 1999;59:753-7.
03. Gervaz P, Allal AS, Villiger P, Buhler L, Morel P. Squamous cell carcinoma of the anus: another sexually transmitted disease. *Swiss Med Wkly*. 2003;133:353-9.
04. Palefsky JM, Holly EA, Gonzales J, Lamborn K, Hollander H. Natural history of anal cytologic abnormalities and papillomavirus infection among homosexual men with group IV HIV disease. *J AIDS* 1992;5:1258-65.
05. Carter PS, de Ruyter A, Whatrup C, Katzet DR, Ewings P, Mindel A et al. Human immunodeficiency virus infection and genital warts as risk factors for anal intraepithelial neoplasia in homosexual men. *Br J Surg* 1995;82:473-4.
06. Metcalf AM, Dean T. Risk of dysplasia in anal condyloma. *Surgery* 1995; 118:724-6.
07. Holly EA, Whittimore AS, Aston DA, Ahn DK, Nickoloff BJ, Kristiansen JJ. Anal cancer incidence: genital warts, anal fissure or fistula, hemorrhoids and smoking. *J Natl Cancer Inst* 1989; 81:1726-31.
08. Palefsky JM, Holly EA, Gonzales J, Lamborn K, Hollander H. Detection of human papillomavirus DNA in anal intraepithelial neoplasia and anal cancer. *Cancer Res* 1991; 51:1014-9.
09. Nadal SR, Manzione CR, Galvão VM, Salim VR, Speranzini MB. Perianal diseases in HIV-positive patients compared with a seronegative population. *Dis Colon Rectum* 1999;42:649-54.
10. Manzione CR, Nadal SR, Calore EE. Oncogenicidade do papilomavírus humano e o grau de neoplasia intra-epitelial anal em doentes HIV positivo. *Rev Assoc Med Bras* 2004;50:282-285.
11. Critchlow CW, Surawicz CM, Holmes KK, Kuypers J, Daling JR, Hawes SE et al. Prospective study of high grade anal squamous intraepithelial neoplasia in a cohort of homosexual men: influence of HIV infection, immunosuppression and human papillomavirus infection. *AIDS* 1995;9: 1255-62.
12. Kiviat N, Rompalo A, Bowden R, Galloway D, Holmes KK, Corey L et al. Anal human papillomavirus infection among human immunodeficiency virus-seropositive and seronegative men. *J Infect Dis* 1990;162:358-61.
13. Levy AJ. Anal carcinoma. In: Levy AJ, HIV infection and development of cancer. Washington D.C., ASM Press, 1994.
14. Xi LF, Critchlow CW, Wheeler CM, Koutsky LA, Galloway DA, Kuypers J et al. Risk of anal carcinoma in situ in relation to human papillomavirus type 16 variants. *Cancer Res* 1998;58:3839-44.
15. Ryan DP, Campton CC, Mayer RJ. Carcinoma of the anal canal. *N Engl J Med* 2000;342:798-800.
16. Fagan SP, Bellows CF 3rd, Albo D, Rodriquez-Barradas M, Feanny M, Awad SS et al. Length of human immunodeficiency virus disease and not immune status is a risk factor for development of anal carcinoma. *Am J Surg*. 2005;190:732-5.
17. Palefsky J. Human papillomavirus and anal neoplasia. *Curr HIV/AIDS Rep*. 2008; 5:78-85.
18. Kreuter A, Brockmeyer NH, Hochdorfer B, Weissenborn SJ, Stucker M, Swoboda J et al. Clinical spectrum and virologic characteristics of anal intraepithelial neoplasia in HIV infection. *J Am Acad Dermatol*. 2005;52:603-8.

