



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
MESTRADO PROFISSIONAL EM SAÚDE DA MULHER E DA CRIANÇA

KARLA MARIA RÊGO LEOPOLDO MELO

**FATORES ASSOCIADOS A INFECÇÃO POR HPV E LESÃO INTRAEPITELIAL EM
CANAL ANAL DE MULHERES IMUNOCOMPETENTES COM LESÃO
INTRAEPITELIAL GENITAL.**

FORTALEZA

2020

KARLA MARIA RÊGO LEOPOLDO MELO

FATORES ASSOCIADOS A INFECÇÃO POR HPV E LESÃO INTRAEPITELIAL EM
CANAL ANAL DE MULHERES IMUNOCOMPETENTES COM LESÃO
INTRAEPITELIAL GENITAL.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Profissional da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Saúde da Mulher e da Criança. Área de concentração: Atenção Integrada e Multidisciplinar à Saúde da Mulher e da Criança.

Orientador: Prof. Dr. José Eleutério Junior.

Coorientadora: Prof. Dra. Raquel Autran
Coelho Peixoto.

FORTALEZA

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M485f Melo, Karla Maria Rêgo Leopoldo.
FATORES ASSOCIADOS A INFECÇÃO POR HPV E LESÃO INTRAEPITELIAL EM CANAL ANAL
DE MULHERES IMUNOCOMPETENTES COM LESÃO INTRAEPITELIAL GENTAL. / Karla Maria
Rêgo Leopoldo Melo. – 2020.
68 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Mestrado Profissional
em Saúde da Mulher e da Criança, Fortaleza, 2020.
Orientação: Prof. Dr. José Eleutério Junior.
Coorientação: Profa. Dra. Raquel Autran Coelho Peixoto.

1. Citologia. 2. Papillomaviridae. 3. colposcopia. 4. neoplasias do ânus. 5. Reação em Cadeia de
Polimerase. I. Título.

CDD 610

KARLA MARIA RÊGO LEOPOLDO MELO

FATORES ASSOCIADOS A INFECÇÃO POR HPV E LESÃO INTRAEPITELIAL EM
CANAL ANAL DE MULHERES IMUNOCOMPETENTES COM LESÃO
INTRAEPITELIAL GENITAL.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Profissional da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Saúde da Mulher e da Criança. Área de concentração: Atenção Integrada e Multidisciplinar à Saúde da Mulher e da Criança.

Aprovada em: __/__/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Eleutério Junior (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. José Ananias Vasconcelos Neto
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Renata Mirian Nunes Eleutério
Centro Universitário Unichristus

A Deus.
Ao meu marido, Alan e meu filho, Caio.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. José Eleutério Junior, pelos seus esclarecimentos, sua excelente orientação e pelo empenho, atenção e paciência durante o desenvolvimento deste projeto.

À Prof. Dra. Raquel Autran Coelho Peixoto, pela confiança, incentivo, apoio e incansável dedicação na coorientação deste projeto.

Aos professores participantes da Banca examinadora, Prof. Dr. José Ananias Vasconcelos Neto e Prof. Dra. Renata Miriam Nunes Eleutério pela disponibilidade de tempo e pelas valiosas contribuições e sugestões.

À amiga e colega de trabalho, Dra. Karinne Cisne Fernandes Rebouças, pela colaboração na entrevista e coleta de dados, durante o decorrer do projeto.

À Universidade Federal do Ceará e a todos os professores da pós-graduação, pelo incentivo ao conhecimento e fomento à pesquisa, pelos ensinamentos transmitidos durante estes dois anos de mestrado e pela oportunidade que me deram de amadurecimento acadêmico e profissional.

A todos os funcionários desta instituição de ensino, pelo apoio e colaboração neste projeto.

Aos colegas da turma de mestrado, pelas reflexões, críticas e sugestões recebidas.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo auxílio financeiro que possibilitou o desenvolvimento da pesquisa.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos
não é senão uma gota de água no mar.
Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.”
(Madre Teresa de Calcutá)

RESUMO

O Papilomavírus humano (HPV) foi encontrado em cerca de 90% dos pacientes com câncer anal. A citologia anal tem-se mostrado útil no rastreio de lesões intraepiteliais anais e carcinoma anal, principalmente em populações de alto risco, podendo seu uso indicar os pacientes que devem se submeter à anuscopia. Em mulheres brasileiras com lesões genitais HPV induzidas, pouco se tem estudado sobre a prevalência de infecções causadas pelo HPV em outros sítios e quais métodos podem ser utilizados para identificar casos positivos, levando-se em conta fatores de risco. O objetivo deste estudo foi pesquisar HPV de alto risco oncogênico e citologia anal alterada em mulheres imunocompetentes com lesão genital HPV induzida. Foi realizado estudo transversal quantitativo, observacional analítico em mulheres imunocompetentes, com e sem lesões intraepiteliais genitais, atendidas em ambulatório especializado de hospital terciário, em Fortaleza-CE, no período de julho de 2017 a dezembro de 2018. Foram avaliadas 57 mulheres, divididas em 2 grupos: Grupo 1 – mulheres com lesão genital HPV induzida (n=26) e Grupo 2 – mulheres sem lesão genital HPV induzida (n=31). As pacientes foram submetidas a coleta de amostras cervical e anal para citologias em meio líquido e pesquisa de DNA-HPV de alto risco por PCR em tempo real. Todas foram submetidas a avaliação anal por anuscopia de alta resolução, sendo realizada biópsia quando identificada alteração. Para estudo de variáveis, foi organizada uma planilha de Excel, com exportação dos dados para o programa Jamovi 0.9.5.12. Foram aplicados testes do quiquadrado e exato de Fisher para dados consolidados em tabela de contingência, bem como teste t de Student e teste U de Mann-Whitney para variáveis independentes. **Resultados:** Não houve diferença estatística entre os grupos em relação a citologia anal ou anuscopia alterada e não houve resultado histopatológico de lesão intraepitelial anal em nenhum dos grupos. A infecção por HPV oncogênico em sítio anal foi mais frequente no grupo 1 (OR 4.95; IC 95%, 1.34-18.3; P=0.012) e a infecção por HPV oncogênico simultaneamente em colo uterino e ânus também foi mais frequente no grupo 1 (OR 18.8; IC 95%, 2.20-160; P<.001). A presença de HPV oncogênico cervical teve associação com a presença de HPV oncogênico anal (OR 4.95; IC 95%, 1.34-18.3; P=0.012). **Conclusão:** Mulheres com lesão genital HPV induzida e HPV oncogênico cervical apresentam mais frequência de HPV oncogênico anal.

Palavras-chave: Citologia, Papillomaviridae, colposcopia, neoplasias do ânus, Reação em Cadeia de Polimerase.

ABSTRACT

Human papillomavirus (HPV) occurs in 90% of patients with anal cancer. Anal cytology seems to be useful in screening for anal intraepithelial lesions and anal carcinoma, especially in high-risk populations, and its use may indicate patients who should undergo anoscopy. In Brazilian women with HPV genital lesions, there are few studies about the prevalence of HPV infections in other sites and which methods can identify positive cases, leading to risk factors into account. This study aimed to research oncogenic high-risk HPV and abnormal anal cytology in immunocompetent women with HPV genital lesion. An analytical cross-sectional, observational study was conducted in immunocompetent women, with and without genital intraepithelial lesions, attended in a specialized outpatient clinic of a tertiary hospital in Fortaleza-CE, from July 2017 to December 2018. There were 57 women, divided into 2 groups: Group 1 – women with HPV genital lesion (n=26) and Group 2 – women without HPV genital lesion (n=31). Patients were submitted to cervical and anal samples for liquid-based cytology and high-risk DNA-HPV research by real-time PCR. All of them were submitted to anal evaluation by high-resolution anoscopy, and biopsies were performed when needed. Excel spreadsheet with variables data was organized, and the data were exported to the Jamovi 0.9.5.12 program. Fisher's exact and chi-square tests were applied for consolidated data in the contingency table, as well as the Student t-test and Mann-Whitney U test for independent variables. Results: There was no statistical difference between the groups in relation to abnormal anal cytology or anoscopy, and there was no histopathological result of anal intraepithelial lesion in any of the groups. Anal oncogenic HPV infection was more frequent in group 1 (OR 4.95; 95% CI, 1.34-18.3; P= .012) and oncogenic HPV infection simultaneously in the cervix and anus was also more frequent in group 1 (OR 18.8; 95% CI, 2.20-160; P< .001). The presence of cervical oncogenic HPV was associated with anal oncogenic HPV (OR 4.95; 95% CI, 1.34-18.3; P= .012). Conclusion: Women with HPV genital lesion and cervical oncogenic HPV have a higher frequency of anal oncogenic HPV.

Keywords: Cytology, papillomaviridae, colposcopy, anus neoplasms, polymerase chain reaction.

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1** - Positividade e distribuição de HPV oncogênico em colo uterino e ânus entre as 57 mulheres imunocompetentes atendidas no serviço de Patologia do Trato Genital Inferior da Maternidade Escola Assis Chateaubriand entre Julho de 2017 a dezembro de 2018..... 33
- Gráfico 2** - Positividade e distribuição dos tipos de HPV oncogênico entre o grupo de mulheres imunocompetentes com lesão genital HPV induzida (Grupo 1) e o grupo de mulheres imunocompetentes sem lesão genital HPV induzida (Grupo 2) atendidas no serviço de Patologia do Trato Genital Inferior da Maternidade Escola Assis Chateaubriand entre Julho de 2017 a dezembro de 2018..... 36

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Características dos casos com infecção concomitante por HPV oncogênico em sítio anal e cervical entre as 57 mulheres imunocompetentes atendidas no serviço de Patologia do Trato Genital Inferior da Maternidade Escola Assis Chateaubriand entre Julho de 2017 a dezembro de 2018..... 33
- Tabela 2** - Características gerais do grupo de mulheres imunocompetentes com lesão genital HPV induzida (Grupo 1) e do grupo de mulheres imunocompetentes sem lesão genital HPV induzida (Grupo 2) atendidas no serviço de Patologia do Trato Genital Inferior da Maternidade Escola Assis Chateaubriand entre Julho de 2017 a dezembro de 2018..... 34
- Tabela 3** - Associação de infecção por HPV oncogênico em colo uterino e ânus entre o grupo de mulheres imunocompetentes com lesão genital HPV induzida (Grupo 1) e o grupo de mulheres imunocompetentes sem lesão genital HPV induzida (Grupo 2) atendidas no serviço de Patologia do Trato Genital Inferior da Maternidade Escola Assis Chateaubriand entre Julho de 2017 a dezembro de 2018..... 35
- Tabela 4** - Associação de infecção por HPV oncogênico cervical e anal simultaneamente entre o grupo de mulheres imunocompetentes com lesão genital HPV induzida (Grupo 1) e o grupo de mulheres imunocompetentes sem lesão genital HPV induzida (Grupo 2) atendidas no serviço de Patologia do Trato Genital Inferior da Maternidade Escola Assis Chateaubriand entre Julho de 2017 a dezembro de 2018..... 36
- Tabela 5** - Associação entre infecção por HPV oncogênico anal e infecção por HPV oncogênico cervical entre as 57 mulheres imunocompetentes atendidas no serviço de Patologia do Trato Genital Inferior da Maternidade Escola Assis Chateaubriand entre Julho de 2017 a dezembro de 2018..... 37

Tabela 6 - Associação entre citologia cervical em meio líquido HSIL e citologia anal alterada entre as 57 mulheres imunocompetentes atendidas no serviço de Patologia do Trato Genital Inferior da Maternidade Escola Assis Chateaubriand entre Julho de 2017 a dezembro de 2018..... 38

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|---------|--|
| ACS | American Cancer Society |
| AGC | Atipias de células glandulares |
| AIS | Adenocarcinoma in situ |
| ANCHOR | Anal Cancer/HSIL Outcomes Research |
| AR | Alto Risco |
| ASC | Atipias de células escamosas |
| ASCCP | American Society for Colposcopy and Cervical Pathology |
| ASC-H | Atypical squamous cells can not rule out high-grade squamous intraepithelial lesion ou células escamosas atípicas de significado indeterminado não podendo excluir lesão intraepitelial de alto grau |
| ASC-US | Atypical squamous cells of undetermined significance ou células escamosas atípicas de significado indeterminado |
| CH2 | Captura Híbrida de segunda geração |
| CNPq | Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico |
| DNA HPV | DNA do Papilomavírus humano |
| EAB | Epitélio acetobranco |
| HIV | Human immunodeficiency virus ou vírus da imunodeficiência humana |
| HPV | Human papillomavirus ou papilomavírus humano |
| HPV AR | HPV de alto risco oncogênico |
| HSH | Homens que fazem sexo com homens |
| HSIL | High-grade squamous intraepithelial lesion ou lesão intraepithelial escamosa de alto grau |
| IARC | International Agency for Research on Cancer |
| IC | Intervalo de Confiança |
| ICO | Institut Català d'Oncologia |

| | |
|-------|---|
| ISTs | Infecções Sexualmente Transmissíveis |
| LSIL | Low-grade squamous intraepithelial lesion ou lesão intraepithelial escamosa de baixo grau |
| MCTI | Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação |
| MEAC | Maternidade Escola Assis Chateaubriand |
| NCI | National Cancer Institute |
| OR | Odds Ratio |
| PCR | Reação em Cadeia da Polimerase |
| PTGIC | Patologia do Trato Genital Inferior e Colposcopia |
| SEER | Surveillance, Epidemiology and End Results |
| SIL | Squamous intraepithelial lesion ou lesão intraepitelial escamosa |
| UFC | Universidade Federal do Ceará |

LISTA DE SÍMBOLOS

| | |
|---|--------------------------------|
| + | Mais |
| ™ | Marca não registrada |
| ® | Marca registrada |
| % | Porcentagem |
| p | Probabilidade de significância |
| n | Tamanho da amostra |

SUMÁRIO

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 18 |
| 1.1 | Carcinoma anal de células escamosas..... | 18 |
| 1.2 | Papilomavírus humano..... | 18 |
| 1.3 | Lesão intraepitelial escamosa anal..... | 19 |
| 1.4 | Progressão de lesão intraepitelial anal para carcinoma anal invasor..... | 20 |
| 1.5 | Associação entre lesão intraepitelial genital e lesão intraepitelial anal..... | 21 |
| 1.6 | Rastreio para lesão intraepitelial anal..... | 21 |
| 1.6.1 | Citologia anal..... | 21 |
| 1.6.2 | Biologia molecular para pesquisa de HPV em ânus..... | 23 |
| 1.6.3 | Anuscopia de alta resolução..... | 23 |
| 1.7 | Justificativa..... | 24 |
| 2 | HIPÓTESES | 25 |
| 3 | OBJETIVOS | 26 |
| 3.1 | Geral | 26 |
| 3.2 | Específicos | 26 |
| 4 | MÉTODOS | 27 |
| 4.1 | Modelo do estudo..... | 27 |
| 4.2 | População de estudo..... | 27 |
| 4.3 | Período..... | 27 |
| 4.4 | Critérios de inclusão..... | 27 |
| 4.5 | Critérios de exclusão..... | 27 |
| 4.6 | Número de participantes do estudo..... | 27 |
| 4.7 | Seleção de participantes..... | 28 |
| 4.8 | Coleta de dados..... | 28 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 4.8.1 | Coleta de citologia, PCR em colo uterino e colposcopia..... | 28 |
| 4.8.2 | Coleta de citologia, PCR de escovado anal, anuscopia de alta resolução e biópsia | 29 |
| 4.9 | Análise estatística..... | 30 |
| 4.10 | Outras considerações..... | 30 |
| 5 | RESULTADOS | 31 |
| 5.1 | Avaliação global das mulheres imunocompetentes (sem divisão por grupos)..... | 31 |
| 5.2 | Grupo de estudo <i>versus</i> Grupo controle..... | 34 |
| 5.3 | Mulheres com pesquisa de HPV anal positiva..... | 37 |
| 5.4 | HPV cervical <i>versus</i> HPV anal..... | 37 |
| 5.5 | Citologia cervical <i>versus</i> citologia anal..... | 37 |
| 6 | DISCUSSÃO..... | 39 |
| 7 | CONCLUSÃO..... | 45 |
| | REFERÊNCIAS | 46 |
| | APÊNDICE A – INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS | 57 |
| | APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) | 59 |
| | APÊNDICE C - FLUXO SUGERIDO PARA RASTREIO DE LESÃO INTRAEPITELIAL ESCAMOSA DE ALTO GRAU E CÂNCER ANAL EM MULHERES ACOMPANHADAS NO AMBULATÓRIO DE PATOLOGIA DO TRATO GENITAL INFERIOR E COLPOSCOPIA..... | 61 |
| | ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA (CEP) | 62 |
| | ANEXO B – TERMO DE ACEITE PARA FINANCIAMENTO PELO CNPq | 63 |

1 INTRODUÇÃO

1.1 Carcinoma anal de células escamosas

O carcinoma anal de células escamosas corresponde a cerca de 5% de todas as neoplasias malignas do trato digestivo baixo (ACS, 2020). Apesar de raro, é um câncer que vem ganhando maior evidência devido ao aumento de sua incidência a partir da década de 60 em ambos os sexos (FRISCH, MELBYE, MØLLER, 1993; ISLAMI *et al.*, 2017). Esse crescimento mostra-se mais expressivo em homens que fazem sexo com homens (HSH) e em mulheres (FRISCH, MELBYE, MØLLER, 1993; GIRALDO *et al.*, 2009).

Nos Estados Unidos, nas últimas 3 décadas ou mais, a incidência de câncer anal entre as mulheres dobrou (SHIELS *et al.*, 2015). Uma avaliação recente do programa “*Surveillance, Epidemiology and End Results*” (SEER), com base de dados no número de casos e mortes por câncer anal entre 2012-2016, nos Estados Unidos, mostrou que a taxa de incidência de câncer anal foi de 1,9 novos casos por 100.000 pessoas por ano, sendo um pouco mais frequente em mulheres: 2,2 novos casos por 100.000 mulheres versus 1,6 novos casos por 100.000 homens. A taxa de mortalidade foi 0,3 casos por 100.000 pessoas por ano. O câncer anal é mais frequentemente diagnosticado em pessoas com idade entre 55 e 64 anos. Análises estatísticas dos dados demonstraram um aumento médio de 2,2% ao ano na taxa de incidência e de 3,1% na de mortalidade por câncer anal no período de 2007 a 2016 (NCI, 2019).

A incidência do câncer anal aumentou em todos os grupos de mulheres, especialmente naquelas convivendo com o vírus da imunodeficiência humana (HIV), mesmo com o uso generalizado da terapia antirretroviral combinada (STIER *et al.*, 2015). Atualmente, segundo a *American Cancer Society* (ACS), o câncer anal é mais frequente em mulheres do que em homens. São estimados para os Estados Unidos em 2020 cerca de 8590 casos novos, 2.690 em homens e 5.900 em mulheres, com uma estimativa total de 1350 mortes em ambos os sexos (ACS, 2020).

1.2 Papilomavírus humano

O Papilomavírus humano (HPV) é um vírus de DNA não envelopado altamente infeccioso, capaz de infectar epitélios mucosos e cutâneos de diversas partes do corpo humano, com tropismo pelas células pouco diferenciadas e em intensa atividade proteica,

como células da camada basal, células de reserva, células metaplásicas imaturas e células juncionais. Existem, até o momento, mais de 200 tipos de HPV identificados, que podem causar desde lesões benignas até tumores invasivos, a depender do potencial oncogênico do tipo viral. São divididos em HPV de baixo risco oncogênico e de alto risco (AR) oncogênico. Em mais de 80% dos indivíduos infectados, a infecção pelo HPV é transitória, com completa eliminação do vírus pelo sistema imune; porém uma infecção viral persistente pode se estabelecer, com risco substancial de desenvolvimento de lesões pré-malignas e malignas. Dentro da célula, o HPV pode permanecer na sua forma episomal ou integrar-se ao seu DNA. Na forma integrada, ele promove alterações no controle do ciclo celular e da apoptose, predispondo ao desenvolvimento de lesões pré-malignas e malignas (VALENTE, 2014).

A infecção pelo HPV parece ser crucial no desenvolvimento do câncer anal, assim como na oncogênese do câncer de colo uterino (MELBYE & SPRØGEL, 1991; FRISCH *et al.*, 1999; HOOTS, PALEFSKY, PIMENTA, 2009; DE VUYST, CLIFFORD, NASCIMENTO, 2009; ABRAMOWITZ *et al.*, 2011). O HPV AR está presente em 99% dos cânceres de colo uterino e 90% dos cânceres de ânus, sendo os subtipos HPV 16 e HPV 18 responsáveis por 70% dos casos de câncer cervical e 78% de câncer anal (ABRAMOWITZ *et al.*, 2011).

O HPV pode estar presente em vários sítios simultaneamente, ou seja, sua infecção tem caráter multicêntrico, podendo acometer não somente o colo uterino, como vagina, vulva, pênis, região perianal e canal anal. Na mulher, a presença do HPV no canal anal pode ocorrer por contiguidade a outras lesões genitais, mesmo que não haja coito anal (HERÁCLIO *et al.*, 2015). A transmissão do vírus é na maioria das vezes via sexual e um estudo nacional recente mostrou uma prevalência de infecção genital por HPV de 54,6% em mulheres e homens jovens, de 16 a 25 anos, sexualmente ativos; o HPV de alto risco oncogênico foi presente em 38,4 % dos participantes (PROADI-SUS, 2017).

1.3 Lesão intraepitelial escamosa anal

As lesões intraepiteliais escamosas (SIL) anais são classificadas em: 1- lesões intraepiteliais escamosas de baixo grau (LSIL), quando as alterações nucleares estão confinadas apenas ao terço basal do epitélio ou há evidentes coilócitos e 2- lesões intraepiteliais escamosas de alto grau (HSIL), quando as alterações nucleares envolvem dos dois terços basais do epitélio a toda a sua espessura (DARRAGH *et al.*, 2012). A persistência

viral do HPV AR é fator de risco para surgimento de HSIL e carcinoma de canal anal (GERVAZ, HIRSCHL, MOREL, 2006; KOST *et al.*, 2017).

No ânus, a HSIL é considerada uma lesão pré-cancerosa, precursora do câncer anal e pode acometer tanto pele perianal como canal anal, incluindo a zona de transformação anal (SCHOLEFIELD, CASTLE, WATSON, 2005; WATSON *et al.*, 2006; SCHOLEFIELD, HARRIS, RADCLIFFE, 2011). Vários estudos já demonstraram associação do HPV com lesões anais. Em metanálise de 2009, DNA de HPV foi encontrado em 91,5%; 93,9% e 84,3% dos pacientes com LSIL, HSIL e carcinoma anal, respectivamente (DE VUYST, CLIFFORD, NASCIMENTO, 2009). Resultados semelhantes foram encontrados em revisão sistemática do mesmo ano, onde a prevalência de HPV foi de 88%, 91% e 71%, respectivamente, para LSIL, HSIL e carcinoma anal (HOOTS, PALEFSKY, PIMENTA, 2009). Em ambos os estudos, o tipo viral mais encontrado no câncer anal foi o HPV 16, assim como acontece no câncer de colo uterino (DE VUYST, CLIFFORD, NASCIMENTO, 2009; HOOTS, PALEFSKY, PIMENTA, 2009).

Condições, como imunossupressão sistêmica (transplantados ou usuários crônicos de corticóides), mulheres com história de câncer ou lesão intraepitelial escamosa genital, condiloma anal extenso, ou com presença de outras infecções sexualmente transmissíveis (ISTs), como por exemplo sífilis, são possíveis fatores de risco para SIL de canal anal (ABRAMOWITZ *et al.*, 2007; MELBYE, SPRØGEL, 1991).

1.4 Progressão de lesão intraepitelial anal para carcinoma anal invasor

Apesar das semelhanças etiológicas e clínicas entre as SIL de ânus e as de colo uterino; ao contrário deste último, não existem muitos estudos sobre taxa de progressão em HSIL anal. Dois pequenos estudos prospectivos, já relataram taxa de progressão de 8,5% e 14,5% para carcinoma anal invasor, a despeito de tratamento, em um período médio de 5 anos. (SCHOLEFIELD, CASTLE, WATSON, 2005; WATSON *et al.*, 2006). Nestes estudos, o principal fator de risco para progressão foi imunossupressão, mas história de HSIL de outro sítio genital e lesão extensa em canal anal também se mostraram como fatores de risco (SCHOLEFIELD, CASTLE, WATSON, 2005; WATSON *et al.*, 2006).

A maioria dos estudos sobre progressão e prevalência de SIL anal avalia pacientes infectados pelo HIV, e neste grupo a evolução natural (temporal) normalmente segue um curso mais agressivo (SCHOLEFIELD, HARRIS, RADCLIFFE, 2011). Em HSH portadores

de HIV, há maior risco para desenvolvimento dessas lesões (PALEFSKY *et al.*, 1998). Neste grupo, já foi documentada uma incidência de carcinoma anal de 137 casos por 100.000 pessoas por ano (D'SOUZA *et al.*, 2008). Entretanto, estudo de metanálise calculou uma taxa teórica de progressão de HSIL anal para carcinoma em HSH HIV+ de 2,7% em 10 anos, na ausência de tratamento; taxa muito menor que a comparada para a progressão em lesão cervical (MACHALEK *et al.*, 2012).

1.5 Associação entre lesão intraepitelial genital e lesão intraepitelial anal

No que diz respeito à associação entre lesões cervicais e anais em mulheres, existem evidências de que a infecção cervical pelo HPV de alto risco oncogênico também aumenta risco para infecção anal pelo mesmo tipo viral (SLAMA *et al.*, 2015; STIER *et al.*, 2015; ROBISON *et al.*, 2015; STIER, CHIAO, 2017; KOST *et al.*, 2017; BREGAR, *et al.*, 2018). Um estudo prospectivo demonstrou que a positividade para HPV de alto risco no colo uterino está associada a uma maior positividade de HPV anal de alto risco e de citologia anal anormal. (LAMMÉ *et al.*, 2014). Apesar de haver poucos estudos em mulheres, aquelas com história de lesão intraepitelial genital parecem ter maior risco para HSIL e câncer anal em relação à população geral (MOSCICKI *et al.*, 2012; MOSCICKI *et al.*, 2015). Estudos sobre a prevalência de SIL anal em mulheres imunocompetentes com história de SIL genital mostram prevalências de 10,4 a 19% (KOPPE *et al.*, 2011; GIRALDO *et al.*, 2009; JACHYNTO *et al.*, 2011; SCHOLEFIELD *et al.*, 1992).

1.6 Rastreamento para lesão intraepitelial anal

Considerando que o programa de rastreamento para câncer de colo uterino com citologia oncológica cervical (Papanicolaou) tem sido associado à diminuição nas taxas de incidência e mortalidade por este câncer, a citologia anal tem sido utilizada como um método de triagem para lesão anal em indivíduos de alto risco. Na presença de qualquer anormalidade citológica anal, estes devem ser encaminhados para anuscopia de alta resolução, também conhecida como avaliação colposcópica do ânus. Este exame permite direcionar os locais onde as biópsias serão feitas, para confirmação do grau da lesão (MOSCICKI *et al.*, 2015).

1.6.1 Citologia anal

A citologia anal é um método não invasivo de triagem realizado com a coleta de células anais através de uma escova (*swab Dacron*) introduzida no canal anal, até cerca de 4 cm da margem anal, e removida com movimentos suaves de rotação, para fazer um esfregaço da zona de transformação anal, sendo um exame com boa tolerabilidade (NADAL *et al.*, 2009; CHIN-HONG *et al.*, 2008; DAVIS, GOLDSTONE, CHEN, 2013). A interpretação citológica é realizada segundo o Sistema Bethesda de 2001 (SOLOMON *et al.*, 2002). A controvérsia reside em definir a população em que esse rastreio é custo-efetiva.

Alguns autores recomendam rastreio citológico anal em pacientes HIV positivos, HSH, mulheres com HSIL ou câncer genital (DOMGUE *et al.*, 2019; CARVALHO, FERREIRA, BUENO, 2011; VASCONCELOS FILHO *et al.*, 2013; MOSCICKI *et al.*, 2015). Citologia anal também deve ser indicada para excluir malignidade em pacientes que apresentem sangramento anal, dor, desconforto ou outros sintomas, mesmo havendo explicação aparente como hemorroidas (DEMIREL & RAMZY, 2013).

Estudos comparando a eficácia da citologia anal na detecção de lesões intraepiteliais anais com outros métodos como anuscopia e histologia, mostraram que, quando se considera a histologia como padrão-ouro, a sensibilidade da citologia anal pode variar de 16% a 77%, a depender do grupo de estudo (PALEFSKY *et al.*, 1997; NAHAS *et al.*, 2009; GOLDSTONE *et al.*, 2012; GELTZEILER *et al.*, 2019). Acredita-se, contudo, que a melhoria das técnicas de citologia nos últimos anos e uma padronização da coleta possa contribuir para melhorar essa sensibilidade (CARVALHO, FERREIRA, BUENO, 2011). Revisão sistemática e metanálise recente, com 12 estudos e 2541 participantes, avaliou a citologia anal na detecção de qualquer grau de SIL anal, encontrando uma sensibilidade combinada 79% e uma especificidade combinada de 66%, demonstrando que a citologia anal pode ser eficaz no diagnóstico da lesão intraepitelial escamosa anal (CHEN & CHOU, 2019). Uma outra revisão sistemática e metanálise de 2019, com 34 estudos e 5093 participantes, que avaliou a citologia anal na detecção de HSIL anal, mostrou uma sensibilidade combinada de 85% e especificidade combinada de 43,2%. A acurácia foi maior especificamente nos subgrupos de HSH e HSH HIV+; este estudo, contudo, não trouxe informações suficientes sobre mulheres infectadas com HPV e imunocompetentes (GONÇALVES *et al.*, 2019). Mais recentemente, um estudo transversal latino, com 128 mulheres porto-riquenhas (71,1% HIV+) submetidas a rastreamento para SIL anal, mostrou uma menor sensibilidade da citologia anal (70,3%) em relação à anuscopia de alta resolução (81,3%), demonstrando que muitas vezes a citologia anal pode subestimar os achados à anuscopia (RAMOS-CARTAGENA *et al.*, 2020).

No que diz respeito à citologia em meio líquido no rastreio de SIL anal, um estudo nacional que comparou citologia convencional com citologia em meio líquido por Liqui-PREP™ mostrou que as duas técnicas foram equivalentes (EVARISTO *et al.*, 2018). No rastreio de lesão cervical, uma metanálise com 25 estudos que comparou citologia convencional e em meio líquido com meio ThinPrep mostrou que esta última é igual ou superior à primeira técnica (BERNSTEIN, SANCHEZ-RAMOS, NDUBISI, 2001). Com meio líquido SurePath, entretanto, parece haver incremento na detecção de lesões cervicais em comparação à citologia convencional e à citologia em meio líquido com ThinPrep (ROZEMEIJER *et al.*, 2015).

1.6.2 Biologia molecular para pesquisa de HPV em ânus

Nos últimos anos, o diagnóstico da infecção pelo HPV tem sido permitido pela biologia molecular, que pode definir casos de infecção por HPV de alto risco oncogênico e persistência viral. Atualmente, estão disponíveis várias técnicas, entre elas a reação em cadeia da polimerase (PCR), que se destaca por sua alta sensibilidade, e a captura híbrida de segunda geração (CH2) (ELEUTÉRIO JR *et al.*, 2007). Além disso, o desenvolvimento de novos testes diagnósticos, imunohistoquímicos para detecção de marcadores tumorais, permite que se identifiquem casos com maior risco de progressão (ELEUTÉRIO JR *et al.*, 2010). A utilidade dos testes moleculares em lesões intraepiteliais anais não está totalmente esclarecida, mas em estudo que avaliou o rastreamento de lesão anal utilizando PCR e comparou com o padrão histológico, demonstrou que quando utilizada apenas citologia anal, a sensibilidade e especificidade para identificação de lesão intraepitelial escamosa anal foram de 56% e 77%, respectivamente. Quando utilizada pesquisa por PCR, a sensibilidade e especificidade foram 60,8% e 84,5%, respectivamente. A combinação dos 2 testes aumentou a sensibilidade para 78%, porém com queda na especificidade para 68%, mostrando que o teste para HPV AR pode ser útil neste rastreio (ETIENNEY *et al.*, 2012).

1.6.3 Anuscopia de alta resolução

A anuscopia de alta resolução ajuda na identificação destas lesões. Assim como a colposcopia em colo uterino, parece ser útil no diagnóstico de HSIL anal, pois as alterações anuscópicas se assemelham àquelas descritas na colposcopia de colo uterino; portanto, a aparência ao exame pode ajudar a distinguir LSIL e HSIL, indicando o melhor sítio para

biópsia (JAY *et al.*, 1997). Em um estudo transversal com 205 mulheres com lesão genital, enquanto as citologias foram alteradas em apenas 5,9% das amostras, a anuscopia de alta resolução foi alterada em 38% dos exames, melhorando a sensibilidade do rastreamento e mostrando que este exame parece aumentar a acurácia no diagnóstico de HSIL anal (SANTOSO *et al.*, 2010).

1.7 Justificativa

Como o carcinoma anal origina-se de infecção por HPV de alto risco oncogênico, associado a uma HSIL e provavelmente depois a câncer, o rastreamento dessas condições precisa ser definido, bem como qual a população alvo que deve ser rastreada e qual o melhor método a ser utilizado. Citologia anal e anuscopia de alta resolução parecem ser métodos adequados em populações específicas, mas existem poucos estudos em mulheres imunocompetentes. A *American Cancer Society* sugere que mulheres com história prévia de câncer cervical ou vulvar possam se beneficiar com rastreamento para câncer anal por citologia anal e exame anal digital. Revisão recentemente feita por um grupo de experts da ASCCP (*American Society for Colposcopy and Cervical Pathology*) recomenda que mulheres com história de neoplasia do trato genital inferior devem ser rastreadas para câncer anal minimamente com exame anal digital, e que citologia anal deve ser considerada (MOSCICKI *et al.*, 2015). Portanto, apesar de ser bem estabelecido que pacientes com SIL genital têm maior risco para HSIL e carcinoma anal, ainda falta definir qual método de rastreamento seria mais adequado para mulheres imunocompetentes com diagnóstico de SIL genital.

Especificamente em mulheres brasileiras, existem poucos estudos sobre a prevalência de HPV anal e SIL anal. O rastreamento citológico e sua associação com histologia e com PCR para detecção de HPV AR não foram avaliados em populações com baixa prevalência de SIL anal. Até o momento, não há abordagem ideal para identificação de SIL anal em pacientes imunocompetentes, havendo a necessidade de identificar qual a frequência de tal patologia, fatores de risco associados, bem como os métodos adequados para rastreamento e diagnóstico. Este estudo avalia os diferentes métodos de diagnóstico de SIL anal e permite ainda um diagnóstico situacional quanto aos tipos virais de HPV oncogênicos mais prevalentes em nosso meio, tanto em ânus como em colo uterino, de mulheres com e sem SIL genital HPV induzida.

2. HIPÓTESES

- Mulheres com SIL genital terão mais frequentemente DNA-HPV AR anal e citologia anal alterada que mulheres sem lesão genital.
- Mulheres com SIL genital terão mais frequentemente achados anuscópicos e histopatológicos anais alterados que mulheres sem lesão genital.
- Mulheres com citologia anal alterada deverão ter pesquisa positiva para DNA-HPV AR.
- Mulheres com anoscopia e estudo histopatológico alterado deverão ter resultado de citologia anal também alterado, bem como pesquisa positiva para DNA-HPV AR.
- Deverá haver fatores associados à presença de DNA-HPV AR e citologia anal alterada, similarmente ao observado em SIL genital.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar a presença de HPV de alto risco oncogênico e de citologia em meio-líquido anal alterada entre mulheres imunocompetentes com e sem SIL genital.

3.1 Específicos

- Pesquisar a presença HPV de alto risco oncogênico anal e cervical entre mulheres imunocompetentes com e sem lesão genital HPV associada.
- Avaliar a presença de citologia anal alterada entre mulheres imunocompetentes com e sem lesão genital HPV associada.
- Descrever as alterações evidenciadas em anuscopia de mulheres com e sem lesão genital.
- Avaliar a associação entre lesão intraepitelial escamosa anal diagnosticada em estudo histopatológico com resultados citológicos e pesquisa de DNA-HPV em mulheres com e sem lesão genital.
- Avaliar possíveis fatores associados à lesão intraepitelial escamosa anal.

4 MÉTODOS

4.1 Modelo do estudo

Pesquisa de natureza quantitativa, observacional analítica do tipo transversal.

4.2 População de estudo

Mulheres atendidas no ambulatório de Patologia do Trato Genital Inferior e Colposcopia (PTGIC) da Maternidade Escola Assis Chateaubriand– MEAC, da Universidade Federal do Ceará (UFC).

4.3 Período

Julho de 2017 a dezembro de 2018.

4.4 Critérios de inclusão

Mulheres atendidas no ambulatório, maiores que 18 anos de idade, que aceitaram participar da pesquisa.

4.5 Critérios de exclusão

Mulheres grávidas, com diagnóstico de imunossupressão, com lesão condilomatosa genital, portadoras de câncer anogenital e em tratamento quimioterápico ou radioterápico.

4.6 Número de participantes do estudo

Ao todo, foram avaliadas 57 mulheres. Estas foram divididas em 2 grupos: o Grupo 1, constituído por 26 mulheres com diagnóstico histopatológico de SIL genital de alto grau (HSIL) ou baixo grau (LSIL) e, o Grupo 2, constituído por 31 mulheres sem lesão intraepitelial genital.

As mulheres do Grupo 1 foram encaminhadas ao ambulatório de PTGIC pela unidade básica de saúde ou por outros ambulatórios do hospital para tratamento e

acompanhamento das lesões genitais.

As mulheres do Grupo 2 também foram referenciadas ao ambulatório pela unidade básica de saúde ou outro ambulatório do hospital devido a alterações ao exame genital ou queixas ginecológicas, como ectopia cervical, corrimentos, pólipos cervicais, infecções sexualmente transmissíveis, ou suspeita de lesão intraepitelial genital não confirmada à colposcopia ou histopatológico.

4.7 Seleção de participantes

As mulheres foram selecionadas para amostra por conveniência.

4.8 Coleta de dados

Após responderem ao questionário (Apêndice A) com informações pessoais, sobre hábitos e história gineco-obstétrica, as mulheres foram examinadas por um dos três pesquisadores, todos ginecologistas e experientes colposcopistas do ambulatório de PTGIC.

As mulheres foram submetidas a exame ginecológico com coleta de citologia cervical e anal, pesquisa de DNA-HPV de alto risco oncogênico em colo e ânus por reação em cadeia da polimerase (PCR), vulvoscopia, colposcopia, anoscopia de alta resolução e biópsia quando necessário.

4.8.1 Coleta de citologia, PCR em colo uterino e colposcopia

Com a paciente em posição ginecológica, após exame vulvoscópico, foi realizado exame especular com coleta de amostra cervical com a escova destacável Rovers® Cervex-Brush® Combi. A escova foi destacada em meio líquido BD SurePath™ e o material enviado a laboratório de referência da cidade (Laboratório Prof. Eleutério da Costa Ltda), com frasco devidamente etiquetado e identificado. O material cervical foi utilizado para coloração e montagem de lâmina, a qual foi lida por citopatologista experiente. Os resultados citológicos, conforme sistema Bethesda 2001 (APGAR, *et al.*, 2003; SOLOMON *et al.*, 2002), foram: negativo para lesão intraepitelial e malignidade; atipias de células escamosas (ASC), incluindo atipias escamosas de significado indeterminado (ASC-US), quando não se pode excluir lesão de alto grau (ASC-H); lesão intraepitelial de baixo grau (LSIL); lesão

intraepitelial de alto grau (HSIL); carcinoma de células escamosas; atipias de células glandulares (AGC), adenocarcinoma in situ (AIS) e adenocarcinoma.

O restante do material do frasco de Surepath™ foi utilizado para pesquisa de DNA de HPV oncogênico por PCR em tempo real. Foram pesquisados DNA de HPV16, HPV 18/45 e outros 11 tipos de HPV AR, que incluam HPV do grupo 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68 (método CEPHEID XPERT™. CEPHEID. Sunnyvale, CA 94089. United States).

Após coleta de amostra cervical para citologia em meio líquido e pesquisa de DNA HPV por PCR, foi realizada aplicação de ácido acético a 5% em colo e vagina, seguida por exame colposcópico. Na presença de alteração colposcópica, foi realizada biópsia com pinça professor Medina sem anestesia local ou, nos casos de suspeição ou tratamento de HSIL cervical, foi realizada cirurgia de alta frequência com exérese da zona de transformação cervical sob anestesia local. O material biopsiado foi fixado em formol a 10% e enviado, devidamente etiquetado e identificado, ao laboratório de patologia da Universidade Federal do Ceará.

4.8.2 Coleta de citologia, PCR de escovado anal, anuscopia de alta resolução e biópsia

Após o exame vulvosscópico, coleta de material cervical e colposcopia, a paciente foi submetida a coleta de material anal para citologia e pesquisa de DNA HPV oncogênico. Com a paciente em posição ginecológica, uma escova macia (escova endocervical) foi introduzida no canal anal a uma profundidade de aproximadamente 3 - 4 cm, com realização de rotação. As nádegas foram separadas para expor o ânus e a escova foi removida com cuidado para evitar tocar na região perianal. A escova foi destacada em meio líquido BD SurePath™ e o material enviado a laboratório de referência da cidade (Laboratório Prof. Eleutério Costa Ltda), com frasco devidamente etiquetado e identificado. O material anal foi utilizado para coloração e montagem de lâmina, a qual foi lida por citopatologista experiente. Os resultados citológicos incluam negativos para malignidade/lesão intraepitelial escamosa ou presença de atipias epiteliais, incluindo células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US), células escamosas atípicas, não podendo excluir alto grau (ASC-H), lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL), lesão intraepitelial escamosa de alto grau (HSIL) e carcinoma espinocelular.

O restante do material do frasco de Surepath™ foi utilizado para pesquisa de DNA de HPV oncogênico por PCR em tempo real. Assim como no material cervical, foram

pesquisados DNA de HPV16, HPV 18/45 e outros 11 tipos de HPV AR, do grupo 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68 (método CEPHEID XPERT™. CEPHEID. Sunnyvale, CA 94089. United States).

Após coleta de amostra anal para citologia em meio líquido e pesquisa de DNA HPV por PCR, foi realizada introdução de anuscópio com visualização de zona de transformação anal, seguida por aplicação de ácido acético a 5% e exame colposcópico do ânus ou anoscopia de alta resolução. Na presença de qualquer anormalidade ao exame anuscópico, foi realizada biópsia com pinça professor Medina sem anestesia local. O material biopsiado foi fixado em formol a 10% e enviado, devidamente etiquetado e identificado, ao laboratório de patologia da Universidade Federal do Ceará.

4.9 Análise estatística

Para estudo das variáveis, foi organizada uma planilha no Microsoft Excel 2016, da qual se exportaram os dados para o programa Jamovi 0.9.5.12. Para as variáveis numéricas, os dados foram apresentados em média e desvio-padrão, e em mediana e percentis. Para as variáveis categóricas os dados foram expostos em frequência de modo a investigar associações entre as variáveis. Para análise das variáveis independentes foi utilizado o teste de t de Student e o teste U de Mann-Whitney, conforme adequação dos dados à distribuição gaussiana. Na investigação de associação entre as variáveis categóricas utilizou-se o teste de qui-quadrado de Pearson e o teste exato de Fisher. Adotou-se um nível de significância de 5%.

4.10 Outras considerações

Este estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Maternidade Escola Assis Chateaubriand da Universidade Federal do Ceará e aprovado, com CAAE 44961515.5.0000.5050 e sob o parecer nº. 1.102.621, juntamente com o termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Todas as pacientes foram esclarecidas acerca da pesquisa e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

A pesquisa foi financiada pelo Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação – MCTI, o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq.

5 RESULTADOS

5.1 Avaliação global das mulheres imunocompetentes (sem divisão por grupos)

Ao todo foram avaliadas 57 mulheres, com média de 34,1 anos, variando de 18 a 57 anos (34.1 ± 9.0). A sexarca ocorreu aos 17,3 anos em média, variando de 12 a 27 anos (17.3 ± 3.1). Quando questionadas acerca do número de parceiros sexuais durante a vida, 8 (8/57) mulheres não souberam ou não quiseram informar. Dentre as 49 mulheres que responderam, a maior parte, 55,1% (27/49) tiveram até 2 parceiros; 24,5% (12/49) tiveram 3 a 4 parceiros; 14,3% (7/49), 5 a 9 parceiros e 6,1% (3/49), 10 parceiros ou mais. No que diz respeito ao hábito de fumar, apenas 5 mulheres referiram tabagismo atual. Não foi questionado sobre passado de tabagismo.

Quanto a infecções sexualmente transmissíveis (ISTs), 39 pacientes realizaram sorologias ou testes rápidos recentes para Sífilis e HIV. Todas foram negativas para HIV. Dessas, apenas 3 tiveram resultados positivos no teste rápido treponêmico para Sífilis. Foi solicitado VDRL, que em 2 mulheres foi reagente 1:2 e em uma foi não reagente. Para Hepatite C, 37 mulheres realizaram exames sorológicos ou testes rápidos, todas negativas e 38 mulheres para hepatite B, todas negativas. Afirmaram ter história prévia de ISTs 33,3% (18/54) das entrevistadas.

Como método contraceptivo, 35,1% das mulheres (20/57) relataram usar contracepção hormonal oral, 7,0% (4/57) medicação hormonal injetável, 24,6% (12/57) condom, 8,8% (5/57) laqueadura tubária e 29,8% (17/57) nenhum método ou método natural (coito interrompido). Disseram já ter realizado coito anal ao menos uma vez 56,9% (29/51) das mulheres. Apenas 3,9% (2/51) relataram relacionamento anterior ou atual com parceiro bissexual. Tiveram queixa de alguma doença anal 29,4% (15/51) das mulheres: 3 com fissura, 10 com hemorroidas, uma paciente com fístula e uma com dor anal. Tiveram queixa de sangramento anal 33,3% (17/51) das mulheres.

Dentre as mulheres avaliadas, apenas 8 (14,3%) tiveram citologia anal em meio líquido alterada: 7 resultados ASC-US e 1 resultado LSIL. No que diz respeito à citologia cervical em meio líquido, 24 mulheres (42,1%) tiveram este exame alterado: 9 resultados ASC-US, 3 ASC-H, 5 LSIL e 7 HSIL.

A anoscopia de alta resolução foi realizada satisfatoriamente em 52 mulheres; em 5 mulheres o exame não foi realizado adequadamente ou foi insatisfatório. Dentre as anoscopias

realizadas, 11 foram anormais (21,1%) e 41 normais (78,8%). As alterações encontradas à anuscopia foram: 3 mulheres com epitélio acetobranco (EAB) tênue, 2 com pontilhado fino, 3 com EAB tênue e pontilhado fino, 1 com lesão nodular hiperocrômica e discreto EAB, 1 com lesão polipoide e 1 descrita apenas como alterada, sem definir qual alteração. Anuscopia anormal não teve associação com a presença de HPV oncogênico anal ($p=0.71$) ou com alteração da citologia anal ($p=0.32$), porém teve associação com queixa de doença anal (OR 11.6, IC95% 1.96-68.9, $p=0.005$) e sangramento anal (OR 7.64, IC95% 1.33-43.8, $p=0.019$).

Entre as 11 mulheres com anuscopia alterada, nove realizaram biópsia anal. Nenhum resultado de exame histopatológico mostrou lesão intraepitelial escamosa anal. Os resultados foram: inespecífico (1), mucosa normal (3), pólipos benignos (2), metaplasia intestinal (1), anusite crônica leve (1) e retite crônica leve (1).

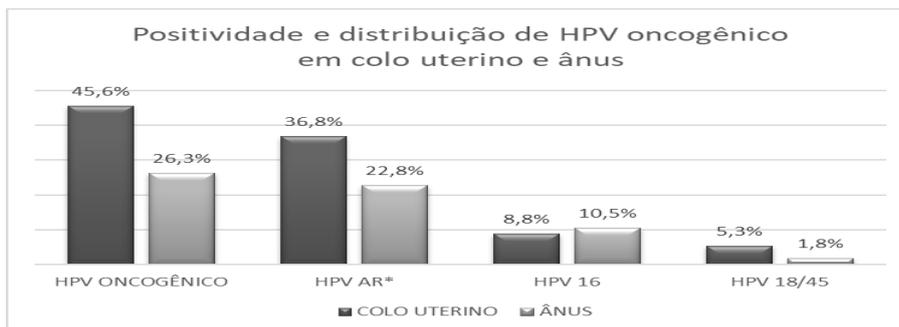
História de coito anal não se mostrou como fator de associação com HPV oncogênico anal ($p=0.7$), citologia anal alterada ($p=1.0$), tampouco com anuscopia de alta resolução alterada ($p=0.7$).

Na pesquisa de HPV oncogênico cervical, 26 mulheres (45,6%) foram positivas: 3 positivas apenas para HPV 16; 2 apenas para HPV 18/45; 2 para HPV 16 e outros tipos de AR; 1 para HPV 18/45 e outros tipos de AR e 18 apenas para outros tipos de AR, dos grupos 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68.

Quinze mulheres (26,3%) tiveram pesquisa positiva para HPV oncogênico anal: 2 positivas apenas para HPV 16; 4 positivas para HPV 16 e outros tipos de AR; 1 para HPV 18/45 e outros tipos de AR e 8 apenas para outros tipos de HPV AR.

Em colo uterino, os tipos de HPV oncogênico pesquisados por PCR tiveram a seguinte distribuição: HPV AR foi positivo em 36,8% das mulheres avaliadas, HPV 16 em 8,8%, e HPV 18/45 em 5,3%. No ânus, a distribuição foi a seguinte: HPV AR foi positivo em 22,8% das mulheres avaliadas; HPV 16 em 10,5%, e HPV 18/45 em 1,8% (Gráfico 1).

Gráfico 1 - Positividade e distribuição de HPV oncogênico em colo uterino e ânus entre as 57 mulheres imunocompetentes atendidas no serviço de Patologia do Trato Genital Inferior da Maternidade Escola Assis Chateaubriand entre Julho de 2017 a dezembro de 2018.



* HPV dos grupos 31,33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68.

Onze mulheres (19,3%) tiveram pesquisa positiva para HPV oncogênico nos 2 sítios simultaneamente, colo uterino e ânus (Tabela 1).

Tabela 1 - Características dos casos com infecção concomitante por HPV oncogênico em sítio anal e cervical entre as 57 mulheres imunocompetentes atendidas no serviço de Patologia do Trato Genital Inferior da Maternidade Escola Assis Chateaubriand entre Julho de 2017 a dezembro de 2018.

| ID | IDADE | GRUPO DE ESTUDO | CITOLOGIA CERVICAL | CITOLOGIA ANAL | HPV GENÓTIPO COLO | HPV GENÓTIPO ÂNUS |
|----|-------|-----------------|--------------------|----------------|-------------------|-------------------|
| 1 | 21 | GRUPO 2 | LSIL | Negativo | HPV AR*, HPV18/45 | HPV AR*, HPV18/45 |
| 2 | 20 | GRUPO 1 | HSIL | Negativo | HPV AR* | HPV AR*, HPV 16 |
| 3 | 28 | GRUPO 1 | Negativo | Negativo | HPV AR* | HPV AR* |
| 4 | 31 | GRUPO 1 | HSIL | Negativo | HPV AR* | HPV AR*, HPV 16 |
| 5 | 34 | GRUPO 1 | HSIL | ASCUS | HPV AR*, HPV 16 | HPV AR*, HPV 16 |
| 6 | 40 | GRUPO 1 | ASCUS | Negativo | HPV AR* | HPV AR* |
| 7 | 44 | GRUPO 1 | HSIL | ASCUS | HPV AR* | HPV AR* |
| 8 | 18 | GRUPO 1 | LSIL | Negativo | HPV AR* | HPV AR* |
| 9 | 19 | GRUPO 1 | LSIL | Negativo | HPV AR* | HPV AR* |
| 10 | 21 | GRUPO 1 | LSIL | LSIL | HPV AR* | HPV AR* |
| 11 | 45 | GRUPO 1 | Negativo | Negativo | HPV 16 | HPV 16 |

GRUPO 1: Mulheres com lesão genital HPV induzida. GRUPO 2: Mulheres sem lesão genital HPV induzida.

*HPV AR: grupos 31,33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68.

5.2 Grupo de estudo *versus* Grupo controle

O grupo de estudo, Grupo 1, foi constituído por 26 mulheres com diagnóstico histológico de lesão genital HPV induzida: 18 mulheres com HSIL de colo uterino, 1 com HSIL de vagina, 6 com LSIL de colo e 1 com LSIL de vagina. O grupo controle, Grupo 2, foi constituído por 31 mulheres sem lesão genital HPV induzida confirmada por estudo histológico. Os grupos foram homogêneos (Tabela 2).

Tabela 2 - Características gerais do grupo de mulheres imunocompetentes com lesão genital HPV induzida (Grupo 1) e do grupo de mulheres imunocompetentes sem lesão genital HPV induzida (Grupo 2) atendidas no serviço de Patologia do Trato Genital Inferior da Maternidade Escola Assis Chateaubriand entre Julho de 2017 a dezembro de 2018.

| | GRUPO 1 (N:26) | GRUPO 2 (N:31) | P |
|--|----------------------------------|----------------------------|------------|
| Idade (média [SD]) (mediana [p25; p75]) | 32,7 (9,27) 32,5 (28,3; 37,8) | 35,3 (8,80) 35 (29; 41) | 0.276* |
| Sexarca (mediana [p25; p75]) | 16 (14;18) | 17 (16;20) | 0.045** |
| Nº parceiros (mediana [p25; p75]) | 2 (1; 3,25) | 2 (2; 4) | 0.731** |
| Gestações (mediana [p25; p75]) | 1,5 (0; 3,75) | 2 (0,5; 3) | 0.915** |
| Coito anal (n [%]) | 12/22 (54,5%) | 17/29 (58,6%) | 0.770*** |
| Tabagismo (n [%]) | 3/25 (12%) | 2/30 (6,7%) | 0.650**** |
| IST prévia (n [%]) | 9/24 (37,5%) | 9/30 (30%) | 0.560*** |
| Doença anal (n [%]) | 6/22 (27,3%) | 9/29 (31%) | 0.770*** |
| Sangramento anal (n [%]) | 6/22 (27,3%) | 11/29 (37,9%) | 0.420*** |
| Parceiro bissexual (n [%]) | 1/22 (4,5%) | 1/29 (3,4%) | >0.990**** |

* t de Student; ** Mann-Whitney U; *** qui-quadrado de Pearson, **** Exato de Fisher

Em colo uterino, 76,9% (20/26) das mulheres do grupo 1 tiveram pesquisa para HPV oncogênico positiva; enquanto no grupo 2, apenas 19,4% (6/31) tiveram (OR 13.9, IC95% 3.88-49.7, $p < 0.001$). Em ânus, a pesquisa para HPV oncogênico foi positiva em 42,3% das mulheres do grupo 1 (11/26) e 12,9% das mulheres do grupo 2 (4/31) (OR 4.95, IC95% 1.34-18.3, $p = 0.012$) (Tabela 3).

Tabela 3 - Associação de infecção por HPV oncogênico em colo uterino e ânus entre o grupo de mulheres imunocompetentes com lesão genital HPV induzida (Grupo 1) e o grupo de mulheres imunocompetentes sem lesão genital HPV induzida (Grupo 2) atendidas no serviço de Patologia do Trato Genital Inferior da Maternidade Escola Assis Chateaubriand entre julho de 2017 a dezembro de 2018.

| | HPV oncogênico n (%) | | Total | Odds ratio (OR) | IC 95% | p* |
|--------------|-------------------------|-------------------|------------|-----------------|-------------|--------|
| | GRUPO 1 (n:26) | GRUPO 2 (n:31) | | | | |
| Colo uterino | 20 (76,9%) | 6 (19,4%) | 26 (45,6%) | 13.9 | 3.88 – 49.7 | < .001 |
| Ânus | 11 (42,3%) | 4 (12,9%) | 15 (26,3%) | 4.95 | 1.34 – 18.3 | 0.012 |

* qui-quadrado de Pearson

Apesar da associação de lesão genital com a presença de HPV anal, não houve associação de lesão genital com citologia anal alterada: 19,2% (5/26) das mulheres do grupo 1 tiveram citologia anal anormal, enquanto apenas 9,7% (3/31) no grupo 2 (p=0.45). Também não houve associação de lesão genital com resultado de anuscopia: 21,7% (5/23) alterada no grupo 1 e 20,7% (6/29) alterada no grupo 2 (p=0.95). A citologia cervical em meio líquido foi alterada em 61,5% (16/26) das mulheres do grupo 1 e 25,8% (8/31) das mulheres do grupo 2 (p=0.006).

Quanto à distribuição de HPV oncogênico cervical, no grupo 1: quinze mulheres tiveram pesquisa positiva apenas para HPV AR (grupo 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68); 2 apenas para o HPV 16; 1 para o HPV 18/45 e 2 positivas tanto para HPV AR como HPV 16. Já no grupo 2: três mulheres foram positivas apenas para HPV AR; 1 apenas para HPV 16, 1 apenas para HPV 18/45 e 1 para HPV 18/45 e HPV AR.

Quanto à distribuição do HPV oncogênico anal, no grupo 1: sete mulheres foram positivas apenas para HPV AR; 1 apenas para HPV 16 e 3 para HPV 16 e HPV AR. Já no grupo 2: uma mulher foi positiva apenas para HPV AR; 1 apenas para HPV 16; 1 para HPV 16 e HPV AR e 1 para HPV 18/45 e HPV AR.

A presença de HPV simultaneamente em colo uterino e em ânus foi mais comum no grupo de mulheres com lesão genital HPV induzida. Dez (38,5%) mulheres do grupo 1 e apenas 1 (3,2%) mulher do grupo 2 (OR 18.8, IC95% 2.20-160, p<0.001) (Tabela 4). Entretanto, a presença de HPV nos 2 sítios simultaneamente não se associou com alteração na citologia anal ou anuscopia (p=0.17, p=1.00; respectivamente).

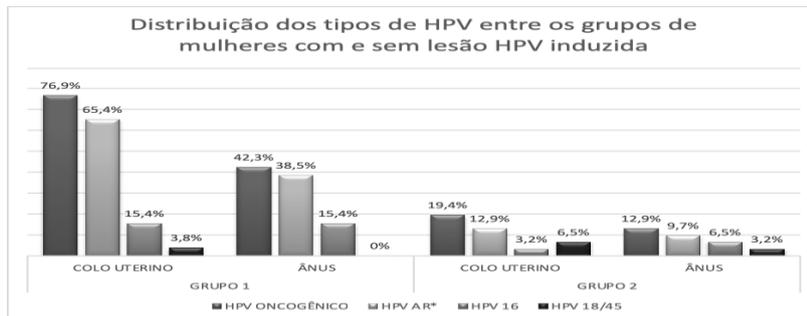
Tabela 4 - Associação de infecção por HPV oncogênico cervical e anal simultaneamente entre o grupo de mulheres imunocompetentes com lesão genital HPV induzida (Grupo 1) e o grupo de mulheres imunocompetentes sem lesão genital HPV induzida (Grupo 2) atendidas no serviço de Patologia do Trato Genital Inferior da Maternidade Escola Assis Chateaubriand entre Julho de 2017 a dezembro de 2018.

| | GRUPO 1 (n:25) | GRUPO 2 (N:30) | Odds ratio (OR) | IC 95% | p* |
|--|-------------------|-------------------|-----------------|------------|-------|
| HPV oncogênico cervical e anal [n (%)] | 10 (38,5%) | 1 (3,2%) | 18.8 | 2.20 – 160 | <.001 |

* qui-quadrado de Pearson

Quando avaliada a distribuição dos tipos de HPV oncogênico por PCR entre os grupos e por sítio; entre as mulheres com lesão genital HPV induzida (Grupo 1), 65,4% teve HPV AR positivo em colo uterino e 38,5% em ânus; 15,4% teve HPV 16 em colo uterino e 15,4% em ânus, e 3,8% teve HPV18/45 em colo uterino e nenhuma em ânus (0%). Entre as mulheres sem lesão HPV induzida (Grupo 2), 12,9% teve HPV AR em colo uterino e 9,7% em ânus; 3,2% teve HPV 16 em colo uterino e 6,5% em ânus, 6,5% teve HPV18/45 em colo uterino e 3,2% em ânus (Gráfico 2).

Gráfico 2 - Positividade e distribuição dos tipos de HPV oncogênico entre o grupo de mulheres imunocompetentes com lesão genital HPV induzida (Grupo 1) e o grupo de mulheres imunocompetentes sem lesão genital HPV induzida (Grupo 2) atendidas no serviço de Patologia do Trato Genital Inferior da Maternidade Escola Assis Chateaubriand entre Julho de 2017 a dezembro de 2018.



* HPV AR: grupos 31,33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68.

5.3 Mulheres com pesquisa de HPV anal positiva

Dentre as 15 pacientes que tiveram pesquisa de algum HPV anal oncogênico positivo, 26,7% (n: 4) tiveram citologia anal alterada, e dentre as 42 pacientes com pesquisa negativa, apenas 9,5% (n: 4) tiveram citologia anal alterada (p= 0.19). Avaliando o tipo viral isoladamente, os tipos de HPV AR, o HPV 16 e o HPV 18/45 não tiveram associação com citologia anal alterada (p= 0.07, p=0.20, p= 1.00; respectivamente). A presença de HPV oncogênico anal também não se associou com alteração na anuscopia (p= 0.71).

5.4 HPV cervical versus HPV anal

A presença de HPV oncogênico cervical teve associação com a presença de HPV oncogênico anal, com *odds ratio* (OR) de 4.95 (IC95% 1.34-18.3, p= 0.012). Essa associação também foi estatisticamente significativa quando avaliado isoladamente o tipo viral de HPV AR (OR 10, IC95% 2.32-43, p= 0.002), porém não quando avaliados isoladamente o HPV 16 (OR 7.8, IC95% 0.99-61.5, p= 0.084) e o HPV 18/45 (OR 65.4, IC95% 2.09-2045, p= 0.053) (Tabela 5).

Tabela 5 - Associação entre infecção por HPV oncogênico anal e infecção por HPV oncogênico cervical entre as 57 mulheres imunocompetentes atendidas no serviço de Patologia do Trato Genital Inferior da Maternidade Escola Assis Chateaubriand entre Julho de 2017 a dezembro de 2018.

| TIPO DE HPV POSITIVO EM ÂNUS | HPV similar em colo uterino | | Odds ratio (OR) | IC 95% | p |
|------------------------------|-----------------------------|----------------|-----------------|-------------|----------|
| | Presente | Ausente | | | |
| HPV 16, 18/45 ou HPVVAR* | 42,3% - (11/26) | 12,9% - (4/31) | 4.95 | 1.34 – 18.3 | 0.012** |
| HPVAR* | 47,6% - (10/21) | 8,3% - (3/36) | 10 | 2.32 – 43 | 0.002*** |
| HPV 16 | 40% - (2/5) | 7,7% - (4/52) | 7.8 | 0.99 – 61.5 | 0.084*** |
| HPV 18/45 | 33,3% - (1/3) | 0% - (0/54) | 65.4 | 2.09 – 2045 | 0.053*** |

* HPV dos grupos 31,33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68. ** qui-quadrado de Pearson. *** Exato de Fisher

5.5 Citologia cervical versus citologia anal

Ao todo, 8 mulheres tiveram citologia anal em meio líquido alterada (7 ASCUS e 1 LSIL) e 24 mulheres tiveram citologia cervical em meio líquido alterada (5 LSIL, 9 ASC-US, 3 ASC-H e 7 HSIL). Quando comparamos citologia anal com citologia cervical, observou-se

que 57,1% das mulheres com citologia cervical HSIL tiveram citologia anal anormal, enquanto que apenas 8% das mulheres com citologia normal, LSIL, ASC-US ou ASC-H tiveram citologia anal anormal (OR 15.3, IC95% 2.5-93.9, p= 0.005).

Tabela 6 - Associação entre citologia cervical em meio líquido HSIL e citologia anal alterada entre as 57 mulheres imunocompetentes atendidas no serviço de Patologia do Trato Genital Inferior da Maternidade Escola Assis Chateaubriand entre Julho de 2017 a dezembro de 2018.

| | Citologia cervical | | Odds ratio (OR) | IC 95% | p* |
|-------------------------|--------------------|---|--------------------|----------|-------|
| | Resultado HSIL | Resultado normal, ASC- US, LSIL ou ASC-H | | | |
| Citologia anal alterada | 57,1% | 8% | 15.3 | 2.5-93.9 | 0.005 |

* Exato de Fisher

6. DISCUSSÃO

A maioria dos estudos sobre o rastreamento de lesão intraepitelial anal foi realizada com pacientes HIV positivos e homossexuais. Entretanto, é bem definido que mulheres com lesão genital HPV induzida de outros sítios tem um risco maior de lesão intraepitelial anal e carcinoma anal (MOSCICKI *et al.*, 2012; MOSCICKI *et al.*, 2015).

O presente estudo mostrou que o grupo de mulheres com lesão genital induzida por HPV teve maior frequência de HPV oncogênico em sítio anal detectado por PCR em tempo real (42,3%) em relação ao grupo de mulheres sem lesão genital (12,9%). Essa frequência de HPV anal é compatível com revisão sistemática de 2015 (23 estudos), que mostrou uma presença de HPV oncogênico anal em mulheres com patologia do trato genital inferior negativas para HIV, variando entre 23-86% (STIER *et al.*, 2015). Um estudo prospectivo que avaliou 196 mulheres encaminhadas para colposcopia por citologia cervical ASCUS+ encontrou 32,5% de HPV oncogênico anal (LAMMÉ *et al.*, 2014). Outro estudo menor e transversal, nacional, com 27 mulheres com lesão genital ou citologia cervical alterada, encontrou 77,7% de HPV anal (incluindo tipos de baixo risco oncogênico) (BRITO *et al.*, 2016). Posteriormente, outro estudo prospectivo com 166 mulheres HIV negativas com patologia genital, encontrou HPV oncogênico anal em 64,46% dos casos (DONAIRE *et al.*, 2017). A identificação de HPV anal parece variar bastante conforme grupo estudado. No que diz respeito à maior frequência de HPV anal em mulheres com lesão genital, em relação às mulheres sem lesão, outros estudos semelhantes, também já demonstraram associação. Um deles (n= 272) encontrou HPV oncogênico anal em 19,8% das mulheres do grupo com lesão e em 10% das mulheres sem lesão (SLAMA *et al.*, 2015). Outro estudo (n= 273) também encontrou diferença com 20,8% de HPV oncogênico anal no grupo de mulheres com história prévia de lesão e 1,2% no grupo sem história prévia (ROBISON *et al.*, 2015). Recentemente, estudo em 184 mulheres com e sem história prévia de lesão genital encontrou 17,4% e 1,5% de HPV oncogênico anal, respectivamente nos grupos com e sem história anterior de lesão genital (BREGAR *et al.*, 2018).

O estudo também demonstrou uma maior detecção de infecção simultânea pelo HPV oncogênico em colo e em ânus de mulheres com lesão genital (38,5%) em relação ao grupo sem lesão (3,2%). Estudo anterior encontrou HPV oncogênico concomitante em colo e ânus de 4,4% das mulheres com história de lesão genital e em nenhuma das mulheres sem história, porém sem significância estatística (BREGAR *et al.*, 2018). A frequência bem maior de

infecção concomitante em nosso estudo em relação ao anterior, provavelmente se deve ao fato de que as mulheres de nosso estudo apresentavam lesão genital atual por ocasião da coleta e não apenas a história prévia.

Não houve associação de HPV oncogênico anal com citologia anal alterada no presente estudo, dado que difere de outros estudos na literatura, e talvez seja explicado pela limitação no tamanho da amostra (LAMMÉ *et al.*, 2014; ELEUTÉRIO *et al.*, 2015)

No grupo de mulheres com lesão genital, houve tendência a maior frequência de citologia anal em meio líquido alterada (19,2%) em relação ao grupo de mulheres sem lesão (9,7%), contudo, não houve significância estatística ($p=0.45$), o que também provavelmente pode ser explicado pela pequena amostra do estudo. Um estudo local anterior ($n=142$), mostrou uma frequência de 29,3% de citologia anal em meio líquido alterada (meio SurePath™) no grupo de mulheres com lesão genital e 17,8% no grupo de mulheres sem lesão genital, também sem diferença estatística (ELEUTÉRIO JR *et al.*, 2015). Outros estudos prévios já mostraram frequência de citologia anal alterada em mulheres com lesão genital variando de 3,61% (DONAIRE *et al.*, 2017); 9,2% (CRONIN *et al.*, 2016); 17,4% (NOBRE *et al.*, 2016); 17,6% (LAMMÉ *et al.*, 2014), 21,3% (DOMGUE *et al.*, 2019) a 41,2% (ROBISON *et al.*, 2015). E dois destes estudos mostraram associação de citologia anal alterada no grupo de mulheres com história de lesão genital em relação ao grupo de mulheres sem lesão, contudo ambos tiveram amostras bem maiores comparadas ao presente estudo ($n=273$ e $n=200$), o que pode ter influenciado nesta diferença (ROBISON *et al.*, 2015; NOBRE *et al.*, 2016).

Em relação à anuscopia de alta resolução, houve poucos exames alterados quando comparado com estudos prévios: 21,7% (5/23) dos exames realizados no grupo de mulheres com lesão genital e 20,7% (6/29) no grupo de mulheres sem lesão. Estudos já mostraram percentual de alteração de anuscopia de alta resolução em mulheres com lesão genital em torno de 38,7% (DOMGUE *et al.*, 2019) e 38% (SANTOSO *et al.*, 2010). Entretanto, a anuscopia é um exame relativamente difícil com curva de aprendizado rigorosa, o que pode ter subestimado, no nosso estudo, o número de exames alterados (BRITO *et al.*, 2016).

Não houve nenhum caso de histopatológico com resultado de lesão intraepitelial anal, seja no grupo de mulheres com ou sem lesão genital HPV induzida. Essa maior frequência de HPV anal sem correspondência com lesão intraepitelial anal pode ser relacionada à possível necessidade de maior tempo para surgimento e desenvolvimento de lesões anais a partir da infecção primária pelo HPV. Em outros estudos que avaliaram a prevalência de HSIL anal em mulheres com lesão genital HPV induzida, a prevalência

encontrada foi 5,8%; 4,2%; 4,2%; 8% e 8,3%, respectivamente; entretanto em tais estudos, a população estudada foi bem maior, com amostras de 481, 273, 190, 75 e 205 mulheres, respectivamente (TATTI *et al.*, 2012; ROBISON *et al.*, 2015; CRONIN *et al.*, 2016; DOMGUE *et al.*, 2019; SANTOSO *et al.*, 2010). Além disso, dois destes estudos avaliaram a prevalência de HSIL anal em mulheres com HSIL ou câncer de colo, vagina ou vulva, diferente do presente estudo que incluiu mulheres com LSIL e HSIL genital, bem como pacientes sem lesão (CRONIN *et al.*, 2016; DOMGUE *et al.*, 2019). Alguns estudos incluíram mulheres HIV positivo, o que pode sabidamente ter influenciado nessa maior prevalência (SANTOSO *et al.*, 2010; TATTI *et al.*, 2012; DOMGUE *et al.*, 2019). Outro dado que pode ter influenciado na ausência de lesão intraepitelial anal nas pacientes deste estudo é a experiência dos pesquisadores em realização de anoscopia de alta resolução, pois este exame é fundamental no diagnóstico, direcionando o melhor local a ser biopsiado (JAY *et al.*, 1997). Esse fato pode ser constatado pelo baixo número de exames de anoscopia de alta resolução alterados no presente estudo comparados a outros estudos. Outro dado que pode explicar a ausência de SIL anal em nosso estudo é o fato de a maioria das infecções por HPV em sítio anal neste estudo terem sido causadas por HPV não 16 e não 18. Nosso estudo encontrou apenas 10,5% de HPV 16 e 1,8% de HPV 18/45 em amostras anais; a maior parte das amostras positivas em ânus (22,8%) ocorreu em sonda com outros tipos de alto risco: 31,33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68. Estes parecem ter uma menor agressividade e baixa associação com HSIL, quando comparados ao HPV 16 e 18. Estudo recente já demonstrou essa associação, encontrando mais HSIL em pacientes com HPV 16 e HPV 18 (67%) quando comparados à pacientes com infecção por outros tipos de HPV oncogênico (25%) (LIU, SIGEL, GAISA, 2018). Semelhante ao nosso estudo, um trabalho anterior com 166 mulheres com lesão genital e HIV negativas também não encontrou nenhum histopatológico com HSIL anal; neste estudo a frequência de HPV oncogênico anal foi de 64,46%, entretanto os tipos não 16 e não 18 estavam presentes em 50,47% dos casos, sendo, portanto, os mais frequentes (DONAIRE *et al.*, 2017).

Estudos nacionais que realizaram anoscopia de alta resolução e biópsia anal, em mulheres imunocompetentes com lesão genital, encontraram uma frequência de HSIL anal de 4,7% (n=106) e 3,2% (n=184) (KOPPE *et al.*, 2011; JACYNTHO *et al.*, 2011). Nosso estudo não encontrou nenhum caso de SIL anal, entretanto, ressaltamos que nossa amostra foi limitada e ainda incluiu no estudo mulheres com e sem lesão genital.

Embora algumas vezes, queixas ou sintomas anais possam ser sinais de alerta para o câncer anal, que pode se manifestar clinicamente com sangramento, dor ou desconforto anal,

um estudo recente, com 414 HSH, avaliou a associação de sintomas anais com HSIL anal, não encontrando correlação na população estudada (GODDARD *et al.*, 2019). Em nosso estudo, queixa de doença anal (hemorroida, fissura, fístula, dor e sangramento) se associou com alteração no exame de anuscopia de alta resolução; sem haver, contudo, nenhum resultado histopatológico de SIL anal. Esse achado pode significar algum viés pelo conhecimento de queixa prévia anal ou ainda que alguns outros sintomas ou queixas anais podem cursar com alterações à anuscopia de alta resolução.

Assim como em outros estudos, coito anal não se mostrou como fator de associação à presença de HPV anal, citologia anal ou anuscopia alteradas (CALORE, GIACCIO, NADAL, 2011; NOBRE *et al.*, 2016; DONAIRE *et al.*, 2017). Entretanto, estudos já demonstraram associação significativa de coito anal com a presença de HPV anal (MOSCICKI *et al.*, 2014; MOSCICKI *et al.*, 2015; SLAMA *et al.*, 2015); de coito anal com citologia anal alterada (MOSCICKI *et al.*, 1999; MOSCICKI *et al.*, 2015; HOSSEINI *et al.*, 2018), além de aumento da persistência do HPV anal (MOSCICKI *et al.*, 2014). Um estudo nacional, transversal, com mulheres imunocompetentes com lesão genital HPV induzida também encontrou associação de coito anal com SIL anal (JACYNTHO *et al.*, 2011). Outro estudo nacional, local, em mulheres negativas para HIV com e sem lesão genital HPV induzida também encontrou associação entre coito anal e alteração na citologia anal; sem associação, entretanto, com a presença de HPV anal (ELEUTÉRIO JR *et al.*, 2015). É possível que a limitação da amostra do presente estudo tenha influenciado nessa ausência de associação.

A presença de HPV oncogênico cervical teve associação com a presença de HPV oncogênico anal. Esse dado pode ser explicado pela multicentricidade da infecção pelo HPV, uma vez presente em um sítio genital, vagina, colo ou vulva, também por contiguidade pode estar presente em sítio anal. Essa associação permaneceu quando avaliada isoladamente a positividade por reação em cadeia de polimerase para os 11 tipos de HPV oncogênico (31,33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68). Isso não foi observado para os tipos de HPV 16 e HPV 18/45, talvez pelo tamanho limitado da amostra, falhando em mostrar essa associação. Um estudo prospectivo de 2014 também encontrou associação de HPV oncogênico cervical aumentando o risco de infecção por HPV oncogênico anal (LAMMÉ *et al.*, 2014). E recente revisão sistemática realizada por um grupo da *International Agency for Research on Cancer* (IARC), com 36 estudos, confirmou associação da presença de HPV oncogênico anal em mulheres com HPV oncogênico cervical; essa associação manteve-se individualmente para o HPV 16, em mulheres HIV positivas e negativas (LIN *et al.*, 2019).

Mulheres com resultado de citologia em meio líquido cervical HSIL, tiveram mais resultados de citologia anal alterada em relação às mulheres com citologia cervical em meio líquido normal, LSIL, ASC-US ou ASC-H. Resultado semelhante foi encontrado em estudo prévio com mulheres HIV negativas em relação ao grupo de mulheres com citologia cervical normal (HOSSEINI *et al.*, 2018). Estudos em mulheres imunocomprometidas, pós transplante renal e HIV positivas, respectivamente, também já demonstraram associação entre citologia cervical e citologia anal anormais (ELEUTÉRIO JR *et al.*, 2019; SANANPANICHKUL *et al.*, 2015). Recente revisão sistemática encontrou, em mulheres HIV negativas, associação de HSIL anal com citohistopatológico cervical alterado, particularmente em mulheres com HSIL cervical comparado a mulheres com citologia cervical normal (LIN *et al.*, 2019).

Neste estudo, observou-se maior frequência dos tipos de HPV oncogênico não 16 e não 18/45 em colo uterino e em canal anal, nos dois grupos de mulheres com e sem lesão genital HPV induzida. Dados de uma revisão sistemática realizada pelo *HPV Information Centre*, em associação com *Institut Català d'Oncologia* (ICO) e IARC, sobre a distribuição mundial de HPV oncogênico cervical, encontraram as seguintes prevalências de HPV 16: 2,8%; 19,3%, e 45,1% em mulheres com citologia normal, LSIL e HSIL cervical, respectivamente. Para HPV 18, prevalências de 1,1%; 6,5% e 6,8%, respectivamente. E para outros tipos de HPV oncogênico, 8,6%; 58,2% e 52,6%, respectivamente; mostrando que, assim como em nosso estudo, os tipos oncogênicos não 16 e não 18, foram os mais frequentes em colo uterino. Quando avaliada a distribuição mundial de HPV oncogênico em mulheres com carcinoma cervical invasor, os HPV 16 e HPV 18 foram positivos em 55,2% e 14,2%, respectivamente, enquanto os outros tipos oncogênicos foram positivos em 24,7% (BRUNI *et al.*, 2019). A distribuição de HPV oncogênico em nosso país parece variar conforme população estudada e região avaliada. Estudos nacionais já mostraram frequência de infecção por HPV 16 cervical variando de 18,5 a 47,8% em mulheres com pesquisa de HPV cervical positiva (OLIVEIRA-SILVA *et al.*, 2011; MARTINS *et al.*, 2016; BRUNO *et al.*, 2014; BRITO *et al.*, 2016). No presente estudo, dentre 26 mulheres positivas para HPV oncogênico cervical, 5 foram positivas para HPV 16 (19,2%). Em outro estudo, no Maranhão, com 353 mulheres quilombolas encaminhadas para rastreio e teste de HPV, apenas 10,2% (36/353) confirmaram HPV de alto risco oncogênico em colo uterino e, destas, apenas 2,8% (1/36) teve HPV 16 positivo por genotipagem; os HPV dos tipos 68 e 58 foram mais frequentes nesta população, 30,6% (11/36) e 25% (9/36), respectivamente (BATISTA *et al.*, 2017).

Importante ressaltar que a vacina é atualmente o melhor meio de prevenção da lesão intraepitelial anal e carcinoma anal, assim como também o é para outros cânceres HPV

induzidos e com o tempo e a ampla cobertura vacinal, deverá observar uma redução nos números de câncer anal. Então, é fundamental ampliar os esforços para que haja uma cobertura vacinal adequada, melhor método de prevenção tanto para carcinoma anal, como outros cânceres do trato genital inferior, em especial o cervical, ainda tão prevalente em nosso meio.

Ainda é preciso definir na literatura se o rastreamento para HSIL anal e o tratamento desta condição precursora previne o câncer anal (MACAYA *et al.*, 2012). No momento, estão em andamento estudos para definir esta questão: o estudo *Anal Cancer/HSIL Outcomes Research* (ANCHOR), apoiado pelo *National Cancer Institute* (NCI), é um estudo em andamento na fase III, randomizado, multi-institucional para determinar se o tratamento do HSIL anal é eficaz na redução da incidência de câncer anal em homens e mulheres infectados pelo HIV (WANG, PALEFSKY, 2019). Esses resultados deste grande estudo devem levar a mudanças nas diretrizes padrão de cuidado. Portanto, apesar de os estudos sugerirem maior risco de lesão anal em mulheres com lesão genital de outros sítios, ainda não é estabelecido se o rastreamento e o tratamento destas lesões precursoras anais previnem o surgimento de câncer. É um importante tema para estudos futuros e estudos a longo prazo. Até a melhor evidência chegar, contudo, muitos especialistas estão optando por rastrear e tratar indivíduos em risco de câncer anal, e isso exige treinamento extensivo em anuscopia de alta resolução (PALEFSKY, 2017).

7. CONCLUSÃO

Nossa pesquisa demonstrou maior presença de HPV de alto risco oncogênico anal em mulheres imunocompetentes com SIL genital em relação às mulheres sem SIL genital. Os tipos de HPV não 16 e não 18/45 (cuja sonda incluiu os tipos 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68) foram mais comuns tanto em colo uterino, como em ânus. Houve tendência de maior frequência de citologia anal anormal no grupo de mulheres com SIL genital, porém não houve diferença estatística. A presença de HPV oncogênico cervical teve associação com a presença de HPV oncogênico anal. E ocorreu maior frequência de infecção cervical e anal simultânea em mulheres imunocompetentes com SIL genital. Apenas 21,1% dos exames de anuscopia de alta resolução foram alterados e não houve diferença nas alterações anuscópicas entre os grupos de mulheres com e sem SIL genital. Não houve histopatológico de SIL anal, portanto, não foi possível correlacionar com resultados de citologia anal e da pesquisa de HPV oncogênico anal. Mais estudos são necessários para confirmar essa associação e definir se o rastreamento e tratamento de lesões precursoras, nessa população, pode prevenir o câncer anal.

Comentado [KL1]: Modifiquei para tentar deixar mais enxuto

REFERÊNCIAS

ABRAMOWITZ, L.; BENABDERRAHMANE, D.; RAVAUD, P. *et al.* Anal squamous intraepithelial lesions and condyloma in HIV infected heterosexual men, homosexual men and women: prevalence and associated factors. **AIDS**, USA, v. 21, n. 11, p. 1457-65, jul., 2007.

ABRAMOWITZ, L.; JACQUARD, A.; JAROUD, F. *et al.* Human papillomavirus genotype distribution in anal cancer in France: The EDiTH V study. **Int. J. Cancer**, Germany, v.129, n. 2, p. 433-439, jul., 2011.

ACS. American Cancer Society: **Cancer Facts and Figures 2020**. Disponível em: <https://www.cancer.org/research/cancer-facts-statistics/all-cancer-facts-figures/cancer-facts-figures-2020.html>. Acessado em 19 jun 2020.

APGAR, B. S.; ZOSCHNICK, L.; WRIGHT, T. C JR. The 2001 Bethesda System terminology. **Am Fam. Physician.**, USA, v. 68, n. 10, p.1992-8, nov., 2003.

BATISTA, J. E.; SADDI, V. A.; CARVALHO, K. P. A., *et al.* Human papillomavirus genotypes 68 and 58 are the most prevalent genotypes in women from quilombo communities in the state of Maranhão, Brazil. **International Journal of Infectious Diseases**, Canadá, v. 55, p. 51-5, feb., 2017.

BERNSTEIN, S. J.; SANCHEZ-RAMOS, L.; NDUBISI, B. Liquid-based cervical cytologic smear study and conventional Papanicolaou smears: A metaanalysis of prospective studies comparing cytologic diagnosis and sample adequacy. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, USA, v. 185, n. 2, p. 308-17, aug., 2001.

BREGAR, A. J.; CRONIN, B.; LUIS, C., *et al.* Anal and cervical high-risk human papillomavirus genotyping in women with and without genital neoplasia. **Journal of Lower Genital Tract Disease**, USA v. 22, n. 2, p. 115-9, apr., 2018.

BRITO, L. M. O., CHEIN, M. B. C., MONTEIRO, S. C. M., *et al.* Human papillomavirus (HPV) and its association between cervical and anal injuries in women. **J. Health Biol Sci**, Brasil, v. 4, n. 3, p.174-80, aug., 2016.

BRUNI, L.; ALBERO, G.; SERRANO, B., *et al.* ICO/IARC Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). **Human Papilloma virus and Related Diseases in the World. Summary Report 17 June 2019**. Disponível em <https://www.hpvcentre.net/statistics/reports/XWX.pdf>. Acessado em 21 mai 2020.

BRUNO, A.; SERRAVALLE, K.; TRAVASSOS, A. G., *et al.* Distribuição dos genótipos de papilomavírus humano em mulheres do estado da Bahia, Brasil. **Rev Bras Ginecol Obstet.**, Brasil, v. 36, n. 9, p.416-22, Ssep., 2014.

CALORE, E. E.; GIACCIO, C. M.; NADAL, S. R. Prevalence of anal cytological abnormalities in women with positive cervical cytology. **Diagn Cytopathol.**, USA, v. 39, n. 5, p. 323-7, may, 2011.

CARVALHO, N. S.; FERREIRA, A. M.; BUENO, C. C. T. HPV infection and intraepithelial lesions from the anal region: how to diagnose? **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Brasil, v. 15, n. 5, p. 473-477, sep., 2011.

CHEN, C. C.; CHOU, Y. Y. Predictive value of the anal cytology for detecting anal intraepithelial neoplasia or worse: A systematic review and meta-analysis. **Diagn Cytopathol.**, USA, v. 47, n. 4, p. 307-314, apr., 2019.

CHIN-HONG, P. V.; BERRY, J. M.; CHENG, S. C. *et al.* Comparison of patient- and clinician-collected anal cytology samples to screen for human papillomavirus-associated anal intraepithelial neoplasia in men who have sex with men. **Ann Intern Med.**, USA, v. 149, n. 5, p. 300-6, set., 2008.

CRONIN, B.; BREGAR, A. LUIS, C. *et al.* Evaluation of anal cytology and dysplasia in women with a history of lower genital tract dysplasia and malignancy. **Gynecologic Oncology**, USA, v. 141, n. 3, p 492-6, jun., 2016.

D'SOUZA, G.; WILEY, D. J.; LI, X. *et al.* Incidence and epidemiology of anal cancer in the multicenter AIDS cohort study. **J Acquir Immune Defic Syndr.**, Holanda, v. 48, n. 4, p. 491-499, aug., 2008.

DARRAGH, T. M.; COLGAN, T. J.; COX, J. T. *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.**, USA, v. 136, n. 10, p. 1266-99, oct., 2012.

DAVIS, T. W.; GOLDSTONE, S. E.; CHEN, G. Tolerability of Anal Dysplasia Screening. **J Low Genit Tract Dis.**, Holanda, v. 17, n. 4, p. 404-8, oct., 2013.

DE VUYST, H.; CLIFFORD, G. M.; NASCIMENTO, M. C. Prevalence and type distribution of human papillomavirus in carcinoma and intraepithelial neoplasia of the vulva, vagina and anus: A meta-analysis. **Int. J. Cancer**, Germany, v. 124, n. 7, p. 1626-36, apr., 2009.

DEMIREL, D.; RAMZY, I. Anorectal smear in the diagnosis of anorectal adenocarcinoma. **J Cytol.**, Índia, v. 30, n. 1, p. 52-54, jan., 2013.

DOMGUE, J. F.; MESSICK, C.; MILBOURNE, A. *et al.* Prevalence of high-grade dysplasia among women with high-grade lower genital tract dysplasia or cancer: Results of a pilot study. **Gynecol Oncol.**, USA, v. 153, n. 2, p. 266-70, may, 2019.

DONAIRE, C.; REILLO, M.; MARTÍNEZ-ESCORIZA, J.C. *et al.* Anal study in immunocompetent women with human papilomavírus related lower genital tract pathology. **Eur. J. Obstet Gynecol Reprod. Biol.**, United Kingdom, v. 217, p. 15-20, jan., 2017.

ELEUTÉRIO JR, J.; BARROS, I. C.; CAVALCANTE, D, I. *et al.* HPV-DNA Hybrid Capture Test Influence of Cellularity in Penile Samples. **Acta Cytol.**, Switzerland, v. 54, n. 4, p. 546-50, jul., 2010.

ELEUTÉRIO JR, J.; BENÍCIO, G. C.; GIRALDO, P. C. *et al.* Liquid-Based Cytology and HPV DNA Testing Using Intra-Anal Specimens From HIV-Negative Women With and

Without Genital HPV-Induced Lesions. **Diagn Cytopathol.**, USA, v. 43, n. 5, p.360-5, may, 2015.

ELEUTÉRIO JR, J.; CAVALCANTE, L. R.; GONÇALVES, A. K. S. *et al.* Prevalence of High-Risk HPV and Atypia in Liquid-Based Cytology of Cervical and Intra-Anal Specimens From Kidney-Transplanted Women. **Diagn Cytopathol.**, USA, v. 47, n. 8, p.783-7, aug., 2019.

ELEUTÉRIO JR, J.; GIRALDO, P. C., GONÇALVES, A. K. S. *et al.* Prognostic markers of high-grade squamous intraepithelial lesions: the role of p16INK4a and high-risk human papillomavirus. **Acta Obst Gynecol Scand.**, USA, v. 86, n. 1, p. 94-8, 2007.

ETIENNEY, I.; VUONG, S.; SI-MOHAMED, A. *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**, USA, v. 118. n. 24, p. 6031-8, dec., 2012.

EVARISTO, S. M.; PINTO, J. F. C.; GONÇALVES, C. C. A. *et al.* Conventional and liquid-based cytology (Liqui-PREPTM) anal findings in male HIV anoreceptive patients in a referral University hospital in Rio de Janeiro, Brazil. **J bras Doenças Sex Transm**, Brasil, v. 30, n. 1, p. 20-4, 2018.

FRISCH, M.; FENGER, C.; VAN DEN BRULE, A. J. C. *et al.* Variants of Squamous Cell Carcinoma of the Anal Canal and Perianal Skin and Their Relation to Human Papillomaviruses. **Cancer Research**, USA, v. 59, p. 753-7, feb., 1999.

FRISCH, M.; MELBYE, M.; MØLLER, H. Trends in incidence of anal cancer in Denmark. **BMJ.**, United Kingdom, v. 306, n. 6875, p. 419-422, feb., 1993.

GELTZEILER, G. B., SON, J., CARCHMAN, E. H, *et al.*, Anal intraepithelial neoplasia screening with anal pap tests: Follow-up and correspondind histology. **Journal of surgical research.**, USA, v. 244, p. 117-21, dec., 2019.

GERVAZ, P.; HIRSCHL, B.; MOREL, P. Molecular biology of squamous cell carcinoma of the anus. **British Journal of Surgery**, USA, v. 93, n. 5, p. 531-8, may., 2006.

GIRALDO, P.; JACYNTHO, C.; COSTA, C. *et al.* Prevalence of anal squamous intra-epithelial lesion in women presenting genital squamous intra-epithelial lesion. **Eur. J. Obstet Gynecol Reprod. Biol.**, USA, v. 142, n. 1, p. 73-75, jan., 2009.

GODDARD, S.L.; TEMPLETON, D.J.; PETOUMENOS, K., *et al.* Association of anal symptoms with anal high grade squamous intraepithelial lesions (HSIL) among men who have sex with men: Baseline data from the study of the prevention of anal cancer (SPANC). **Cancer Epidemiology.**, USA v. 58, p. 12-6, feb., 2019.

GOLDSTONE, S. E.; LOWE, B.; ROTHMANN, T., *et al.* Evaluation of the Hybrid Capture 2 assay for detecting anal high-grade dysplasia. **Int. J. Cancer**, Germany, v. 131, p. 1641-8, jan., 2012.

GONÇALVES, J. C. N.; MACEDO, A. C. L; MADEIRA, K. *et al.* Accuracy of Anal Cytology for Diagnostic of Precursor Lesions of Anal Cancer: Systematic Review and Meta-analysis. **Dis Colon Rectum.**, USA, v. 62, n. 1, p. 112-20, jan., 2019.

HERÁCLIO, S. A.; ARAÚJO, T, A.; SOUZA, A. S. R. *et al.* Prevalência da lesão HPV induzida em canal anal de mulheres com neoplasia intraepitelial cervical 2 e 3: um estudo de corte transversal. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.**, Brasil, v. 37, n. 10, p. 480-485, oct., 2015.

HOOTS, B. E.; PALEFSKY, J. M.; PIMENTA, J. M. Human papillomavirus type distribution in anal cancer and anal intraepithelial lesions. **Int. J. Cancer**, Germany, v. 124, n. 10, p. 2375-83, may., 2009.

HOSSEINI, M. S.; KHOSRAVI, D. FARZANEH, F. *et al.* Evaluation of Anal Cytology in Women with History of Abnormal Pap Smear, Cervical Intraepithelial Neoplasia, Cervical Cancer and High Risk HPV for Anogenital Dysplasia. **Asian Pac J Cancer Prev.**, China, v. 19, n. 11, p. 3071-5, nov., 2018.

ISLAMI, F.; FERLAY, J.; LORTET-TIEULENT, J. *et al.* International trends in anal cancer incidence rates, **International Journal of Epidemiology**, United Kingdom, v. 46, n. 3, p. 924–938, jun., 2017.

JACYNTHO, C. M. A.; GIRALDO, P. C.; HORTA, A. A. *et al.* Association Between genital intraepithelial lesions and anal squamous intraepithelial lesions in HIV-negative women. **American Journal of Gynecology and Obstetrics**, 205, n. 2, p. 115.e1-e5, aug., 2011.

JAY, N.; BERRY, J. M.; HOGEBOOM, C. J. *et al.* Colposcopic appearance of anal squamous intraepithelial lesions: relationship to histopathology. **Dis. Colon. Rectum.**, USA, v. 40, n. 8, p. 919-28, aug., 1997.

KOPPE, D.C.; BANDEIRA, C. B.; ROSA, M. R. *et al.* Prevalence of anal intraepithelial neoplasia in women with genital neoplasia. **Dis Colon Rectum.**, USA, v. 54, n. 4, p. 442-5, apr., 2011.

KOST, B. P.; HOFMANN, J.; STOELLNBERGER, S. *et al.* Prevalence of human papillomavirus infection of the anal canal in women: A prospective analysis of high-risk populations. **Oncol Lett.**, Greece, v. 13, n. 4, p. 2495-2501, apr., 2017.

LAMMÉ, J.; PATTARATORNKOSOHN, T.; MERCADO-ABADIE, J. *et al.* Concurrent Anal Human Papillomavirus and Abnormal Anal Cytology in Women With Known Cervical Dysplasia. **Obstetrics & Gynecology.**, USA, v. 124, n. 2, p. 242–248, aug., 2014.

LIN, C.; SLAMA, J.; GONZALEZ, P. *et al.* Cervical determinants of anal HPV infection and high-grade anal lesions in women: a collaborative pooled analysis. **Lancet Infect Dis.**, United Kingdom, v. 19, n. 8, p. 880-891, aug., 2019.

LIU, Y.; SIGEL, K.; GAISA, M. M. Human Papillomavirus Genotypes Predict Progression of Anal Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesions. **The Journal of Infectious Diseases**, United Kingdom, v. 218, p. 1746–52, jul., 2018.

MACAYA, A.; MUÑOZ-SANTOS, C.; BALAGUER, A. *et al.* Interventions for anal canal intraepithelial neoplasia. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, v. 12, n. 12, 2012. CD009244.

MACHALEK, D. A.; POYNTEN, M.; JIN, F. *et al.* Anal human papillomavirus infection and associated neoplastic lesions in men who have sex with men: a systematic review and meta-analysis. **Lancet Oncol.**, United Kingdom, v. 13, n. 5, p. 487-500, may., 2012.

MARTINS, T. R.; MENDES DE OLIVEIRA, C.; ROSA, L. R. *et al.* HPV genotype distribution in Brazilian women with and without cervical lesions: correlation to cytological data. **Virology Journal**, USA, v. 13, n. 138. aug., 2016.

MELBYE, M.; SPRØGEL, P. Aetiological parallel between anal cancer and cervical cancer. **Lancet.**, United Kingdom v. 338, n. 8768, p. 657-9, sep., 1991.

MOSCICKI, A. B.; DARRAGH, T. M.; BERRY-LAWHORN, J. M. *et al.* Screening for Anal Cancer in Women. **Journal of lower genital tract disease**, USA, v. 19, n. 3, p.27-42, jul., 2015.

MOSCICKI, A. B.; HILLS, N. K.; SHIBOSKI, S. *et al.* Risk Factors for Abnormal Anal Cytology in Young Heterosexual Women. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, USA, v. 8, p. 173–178, feb., 1999.

MOSCICKI, A. B.; MA, Y.; FARHAT, S. *et al.* Natural History of Anal Human Papillomavirus Infection in Heterosexual Women and Risks Associated With Persistence. **Clin Infect Dis.**, United Kingdom, v. 58, n. 6, p. 804-11, mar., 2014.

MOSCICKI, A. B.; SCHIFFMAN, M.; BURCHELL, A. *et al.* Updating the natural history of human papillomavirus and anogenital cancers. **Vaccine**, United Kingdom, v. 30 n. 5, p.24-33, nov., 2012.

NADAL, S. R.; HORTA, S. H. C.; CALORE, E. E. *et al.* How deep must the brush be introduced in the anal canal for a more effective cytological evaluation?. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, Brasil, v. 55, n. 6, p. 749-751, 2009.

NAHAS, C. S.; DA SILVA FILHO, E. V.; SEGURADO, A. A. *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.**, USA, v. 52, n. 11, p. 1854-60, nov., 2009.

NCI. National Cancer Institute: **SEER Stat Fact Sheets: Anal Cancer.** Bethesda, MD: National Cancer Institute. Available online. Last accessed May 9, 2019. Disponível em <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/anus.html>. Acessado em 19 fev 2019.

NOBRE, M. S.; JACYNTHO, C. M.; ELEUTÉRIO JR, J. *et al.* Abnormal anal cytology risk in women with known genital squamous intraepithelial lesion. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Brasil, v. 20, n. 3, p. 294-297, may., 2016.

OLIVEIRA-SILVA, M.; LORDELLO, C. X.; ZARDO, L. M. G. *et al.* Human Papillomavirus in Brazilian women with and without cervical lesions. **Virology Journal**, USA, v. 8, n. 4, jan., 2011.

PALEFSKY, J. M. HPV-associated anal and cervical cancers in HIV-infected individuals: Incidence and prevention in the antiretroviral therapy era. **Curr Opin HIV AIDS**, USA, v. 12, n. 1, p. 26-30, jan., 2017.

PALEFSKY, J. M.; HOLLY, E. A.; HOGEBROOM, C. J. *et al.* Anal cytology as a screening tool for anal squamous intraepithelial lesions. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.**, USA, v. 14, n. 5, p. 415-22, apr., 1997.

PALEFSKY, J. M.; HOLLY, E. A.; RALSTON, M. L. *et al.* Prevalence and risk factors for human papillomavirus infection of the anal canal in immunodeficiency virus HIV-positive and HIV-negative homosexual men. **J Infect Dis.**, United Kingdom, v. 177, n. 2, p. 361-7, feb., 1998.

PROADI-SUS. Programa de Apoio ao Desenvolvimento Institucional do Sistema Único de Saúde. **Estudo Epidemiológico sobre a Prevalência Nacional de Infecção pelo HPV**

(POP-Brasil): Resultados preliminares – Associação Hospitalar Moinhos de Vento – Porto Alegre, 2017.

RAMOS-CARTAGENA, J. M.; PÉREZ, C. M.; GUIOT, H. M. *et al.* Assessment in anal cancer screening tools in detecting high-grade anal squamous intraepithelial lesions in women. **Journal of Lower Genital Tract Disease**, USA, v. 24, n. 1, jan., 2020.

ROBISON, K.; CRONIN, B. BREGAR, A. *et al.* Anal cytology and Human Papillomavirus genotyping in women with a history of lower genital tract neoplasia compared with low-risk women. **Obstetrics & Gynecology**, USA, v. 126, n. 6, p.1294-300, dec., 2015.

ROZEMEIJER, K.; PENNING, C.; SIEBERS, A. G. *et al.* Comparing SurePath, ThinPrep, and conventional cytology as primary test method: SurePath is associated with increased CIN II+ detection rates. **Cancer Causes Control**, Germany, v. 27, n. 1, p. 15-25, oct., 2015.

SANANPANICHKUL, P.; PITYYANONT, S.; YUTHAVISUTHI, P. *et al.* Anal Papanicolaou Smear in Women with Abnormal Cytology: a Thai Hospital Experience. **Asian Pac J Cancer Prev**, China, v. 16, n. 3, p. 1289-93, 2015.

SANTOSO, J. T., LONG, M.; CRIGGER, M., *et al.* Anal intraepithelial neoplasia in women with genital intraepithelial neoplasia. **Obstetrics & Gynecology**. USA, v. 116, n. 3, p. 578-82, sep., 2010.

SCHOLEFIELD J. H., CASTLE, M. T., WATSON, N. F. S. Malignant transformation of high-grade anal intraepithelial neoplasia. **British Journal of Surgery**, USA, v. 92, p. 1133-6, jul., 2005.

SCHOLEFIELD, J. H.; HARRIS, D.; RADCLIFFE, A. 2011. Guidelines for Management of Anal Intraepithelial Neoplasia. **Colorectal Disease**, USA, v. 1, p. 3-10, feb., 2011.

SCHOLEFIELD, J.H.; HICKSON, W. G.; SMITH, J. H. *et al.* Anal intraepithelial neoplasia: part of a multifocal disease process. **Lancet**, United Kingdom, v. 340, n. 8830, p. 1271-3, nov., 1992.

SHIELDS, M. S.; KREIMER, A. R.; COGHILL, A. E. *et al.* Anal Cancer Incidence in the United States, 1977-2011: Distinct Patterns by Histology and Behavior. **Cancer epidemiology, biomarkers Prev.**, USA, v. 24, n. 10, p. 1548-56, oct., 2015.

SLAMA J.; SEHNAL, B.; DUSEK, L. *et al.* Impact of risk factors on prevalence of anal HPV infection in women with simultaneous cervical lesion. **Neoplasma**, USA, v. 62, n. 2, p. 308-14, 2015.

SOLOMON, D.; DAVEY, D.; KURMAN, R. *et al.* Forum Group Members; Bethesda 2001 Workshop. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. **JAMA**, USA, v. 287, n. 16, p. 2114-9, aapr., 2002.

STIER, E. A.; CHIAO, E.Y., 2017. Anal Cancer and anal Cancer precursors in Women with a history of HPV-Related Dysplasia and Cancer. **Semin Colon Rectal Surg.**, Amsterdã, v. 28, n. 2, p. 97-101, jun., 2017.

STIER, E. A.; SEBRIG M. C.; MENDEZ, A. E. *et al.* Prevalence of anal human papillomavirus infection and anal HPV related disorders in women: a systematic review. **Am J Obstet Gynecol.**, USA, v. 213, n. 3, p. 278-309, sep., 2015.

TATTI, S.; SUZUKI V.; FLEIDER L. *et al.* Anal intraepithelial lesions in women with Human Papillomavirus-related disease. **Journal of Lower Genital Tract Disease.**, USA, v. 16, n. 4, 454-9, 2012.

VALENTE, M. N. Patologia do Trato Genital: Diagnóstico e Tratamento. **Capítulo 6: Imunologia das Infecções pelo Papilomavírus Humano**. 2ª Ed. – São Paulo: Santos, Editora Roca, 2014.

VASCONCELOS FILHO, F. E.; ELEUTÉRIO JUNIOR.; DIAS, B. H. M. *et al.* Is screening for anal squamous intraepithelial lesions in women with genital human papillomavirus intraepithelial lesions necessary?. **DST - J Bras Doenças Sex Transm.**, Brasil, v. 25, n. 3, p. 145-149, 2013.

WANG, C. C. J., & PALEFSKY, J. M. HPV-Associated Anal Cancer in the HIV/AIDS Patient. In: Meyers C. (eds) **HIV/AIDS-Associated Viral Oncogenesis. Cancer Treatment and Research**, Switzerland, v. 177, p.183–209, dec., 2019.

WATSON, A. J.; SMITH, B. B.; WHITEHEAD, M. *et al.* Malignant Progression of Anal Intra-Epithelial Neoplasia. **ANZ Journal of Surg.**, Australia, v. 76, n. 8, p. 715-7, aug., 2006.

APÊNDICE A – INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS

Questionário

CITOLOGIA ANAL, PESQUISA DE DNA-HPV E ANUSCOPIA DE ALTA RESOLUÇÃO EM MULHERES COM LESÃO INTRAEPITELIAL GENITAL

Número de Identificação: ()

1. Idade _____ anos 2. Tabagista _____ 3. Contraceção _____
4. G__P__A__ Nascidos Vivos _____
5. Início da atividade sexual _____ número de parceiros _____
6. IST's _____ identificação da IST _____
7. Tratamento de HPV, verruga ou câncer genital _____
8. Parceiro com HPV, verrura ou câncer no pênis: _____ Número de relações por mês _____
9. Coito anal _____ Uso de camisinha _____
10. Aparecimento de doença anal _____
11. Sangramento anal _____
12. Algum parceiro bissexual _____

Resultado dos Exames

CITOLOGIA: Negativa () ASC () LSIL () HSIL () CA ()

DNA – HPV: POSITIVO () NEGATIVO ()

GENOTIPAGEM: HPV 16 () HPV 18 /45 ()

Outros HPV AR ()

ANUSCOPIA:

BIÓPSIA:

**APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
CITOLOGIA ANAL, PESQUISA DE DNA-HPV E ANUSCOPIA DE ALTA
RESOLUÇÃO EM MULHERES COM LESÃO INTRAEPITELIAL GENITAL**

Eu, _____, _____ anos, portadora do RG _____ endereço _____ cidade de _____ registrada no ambulatório de Ginecologia e Colposcopia da MEAC - UFC, prontuário _____, declaro concordar por minha livre e espontânea vontade em participar dessa pesquisa que objetiva avaliar “CITOLOGIA ANAL, PESQUISA DE DNA-HPV E ANUSCOPIA DE ALTA RESOLUÇÃO EM MULHERES COM LESÃO INTRA-EPITELIAL GENITAL”, que será desenvolvido e realizado no ambulatório de Patologia do Trato Genital Inferior e Colposcopia (PTGIC) da Maternidade Escola Assis Chateaubriand – MEAC da Universidade Federal do Ceará, pela professora Raquel Autran Coelho e colaboradores.

Com essa colaboração poderemos avaliar a presença de doença anal em mulheres com doença genital através de citologia anal e genital, captura híbrida e biopsia, se necessário.

Consciente diante do estudo e seus objetivos, estou sabendo que

a) Serei examinada pelos profissionais envolvidos na Pesquisa onde será colhido células (citologia e biologia molecular) e ou fragmentos (biopsia) anal e vaginal. Os procedimentos podem causar desconforto temporário e não trarão prejuízos na função nem estrutural a mim

b) Não serei beneficiada em participar do Estudo, a não ser recebendo o laudo dos exames que a mim foram direcionados e serei conduzida a especialistas quando houver necessidade.

c) Tenho o direito de receber respostas sobre minhas dúvidas a respeito da Pesquisa e dos resultados dos exames citológicos, biologia molecular e de biopsia

d) Tenho o direito de abandonar a pesquisa quando eu achar necessário sem que me traga prejuízos atuais e no futuro tanto a mim quanto a minha família

e) As informações a meu respeito jamais serão elucidadas usando minha identificação (meu nome)

f) Qualquer dúvida que eu tenha a respeito da pesquisa e minha inserção nela poderei entrar em contato com a Professora Doutora Raquel Autran Coelho pelos telefones (85) 33668570 e (85) 99217664 e Doutora Karla Maria Rêgo Leopoldo Melo pelo telefone (85) 996617128 de segunda a sexta feira entre 8h e 17h ou com o Comitê de Ética e Pesquisa da Maternidade Escola Assis Chateaubriand pelo telefone (85) 3366-8569.

Fortaleza, __ de _____ de 20__

Colaboradora

Pesquisadora

**APÊNDICE C – FLUXO SUGERIDO PARA RASTREIO DE LESÃO
INTRAEPITELIAL ESCAMOSA DE ALTO GRAU E CÂNCER ANAL EM
MULHERES ACOMPANHADAS NO AMBULATÓRIO DE PATOLOGIA DO TRATO
GENITAL INFERIOR E COLPOSCOPIA.**



Fonte: Autora

ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA

MATERNIDADE ESCOLA ASSIS CHATEAUBRIAND/ MEAC/ UFC 

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: CITOLOGIA ANAL, PESQUISA DE DNA-HPV E ANUSCOPIA DE ALTA RESOLUÇÃO EM MULHERES COM LESÃO INTRA- EPITELIAL GENITAL

Pesquisador: RAQUEL AUTRAN COELHO

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 44961515.5.0000.5050

Instituição Proponente: Maternidade Escola Assis Chateaubriand / MEAC/ UFC

Patrocinador Principal: MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.102.621

Data da Relatoria: 11/06/2015

Apresentação do Projeto:

Busca-se avaliar a presença de DNA-HPV de alto risco oncogênico e de lesão intra-epitelial anal por citologia em meio líquido e por anoscopia entre mulheres com e sem lesão intra-epitelial genital. Será realizada pesquisa de natureza quantitativa, descritiva, transversal, do tipo prospectivo controlado, seguida de estudo de coorte numa segunda fase. Serão avaliadas 150 mulheres atendidas no ambulatório de Patologia do Trato Genital Inferior e Colposcopia (PTGIC) da Maternidade Escola Assis Chateaubriand-MEAC, da Universidade Federal do Ceará. Serão realizados 150 atendimentos-coletas. Serão criados dois grupos: um grupo de estudo constituído por mulheres com lesão intraepitelial genital e outro constituído por mulheres sem lesão intraepitelial genital.

Coleta da amostra intra-anal e anoscopia, utilizando-se escova será colhido material Intra-anal, Introduzindo-se a escova cerca de 3 cm no sentido de alcançar a linha pectínia. O material será colocado em frasco de citologia em base líquida e encaminhado ao laboratório de citopatologia para processamento e coloração de Papanicolaou, para posterior leitura em microscópio óptico. No mesmo material será feita a pesquisa de DNA-HPV de baixo e alto risco por PCR e em casos positivos uso de sondas específicas para

identificação de tipos 16, 18 e 45 conforme as especificações do fabricante. As pacientes serão

Endereço: Rua Cel Nunes de Melo, s/n
 Bairro: Rodolfo Teófilo CEP: 60.430-270
 UF: CE Município: FORTALEZA
 Telefone: (85)3366-8569 Fax: (85)3366-8528 E-mail: meloventura@uol.com.br

MATERNIDADE ESCOLA ASSIS
CHATEAUBRIAND/ MEAC/ UFC 

Continuação do Protocolo: 1.102.021

submetidas à anuscopia. Caso lesões sejam diagnosticadas, estas serão biopsiadas com pinça em saca-bocado e encaminhadas, fixadas em formol 10%, para o laboratório de patologia para o diagnóstico histopatológico da lesão. Após 6 meses da primeira avaliação, as pacientes serão submetidas a nova citologia anal citologia e anuscopia, para comparação dos resultados nesse período.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar a presença de DNA-HPV de alto risco oncogênico e de lesão intra-epitelial anal por citologia em meio líquido e por anuscopia entre mulheres com e sem lesão intra-epitelial genital.

Objetivo Secundário:

- Pesquisar a presença de DNA-HPV de alto risco por reação em cadeia de polimerase entre mulheres com e sem lesão genital HPV associada.
- Avaliar a prevalência de citologia anal em meio líquido alterada entre mulheres com e sem lesão genital HPV associada.
- Descrever as alterações evidenciadas em anuscopia de mulheres com e sem lesão genital e/ou citologia anal alterada.
- Avaliar a associação entre lesão intra-epitelial anal diagnosticado em estudo histopatológico com resultados citológicos e pesquisa de DNA-HPV em mulheres com e sem lesão genital.
- Acompanhar as pacientes com e sem lesão intra-epitelial genital após 6 meses, por meio de citologia e anuscopia.
- Avaliar possíveis fatores de risco associados à lesão intraepitelial anal.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos mínimos e são inerentes à coleta do material para citologia e realização do exame de anuscopia.

Os benefícios para as participantes da pesquisa são: serão verificadas a presença de HPV em outros sítios que não o genital, que sabidamente se associam com maior risco de desenvolvimento de câncer e possível diagnóstico de lesões pré-cancerosas com maior probabilidade de cura e encaminhamento para centros especializados. Para a população geral serão fornecidas informações que podem contribuir com melhoria das atividades assistenciais para esse grupo de mulheres.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Especificamente entre mulheres brasileiras, pouco se tem estudado sobre a prevalência das

Endereço: Rua Cel Nunes de Melo, s/n
Bairro: Rodolfo Teófilo CEP: 60.430-270
UF: CE Município: FORTALEZA
Telefone: (85)3366-8569 Fax: (85)3366-8528 E-mail: meloventura@uol.com.br

MATERNIDADE ESCOLA ASSIS
CHATEAUBRIAND/ MEAC/ UFC 

Continuação do Parecer: 1.102.021

Infecções por HPV, das lesões intraepiteliais anais, possíveis precursoras do câncer anal, entre mulheres com lesões genitais e quais métodos podem ser de utilidade para identificar casos positivos, levando-se em conta fatores de risco. O screening citológico e sua associação com histologia e PCR para detecção de DNA -HPV não foram avaliados em populações com baixa prevalência de ASIL.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos obrigatórios foram apresentados.

No entanto, no TCLE não consta o telefone do CEP-MEAC

Recomendações:

Acelltar após ajustes de data de coleta e registro do contato do CEP-MEAC. No projeto de pesquisa o período de coleta se encontra como "novembro de 2014 a outubro de 2015", período sem avaliação desse CEP.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Atualizar cronograma e acrescentar telefone do CEP no TCLE. Notificar solicitações feitas, ao CEP.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Atualizar cronograma e acrescentar telefone do CEP no TCLE. Notificar solicitações feitas, ao CEP.

FORTALEZA, 11 de Junho de 2015

Assinado por:
Maria Sidneuma Melo Ventura
(Coordenador)

Endereço: Rua Cel Nunes de Melo, s/n
Bairro: Rodolfo Teófilo CEP: 60.430-270
UF: CE Município: FORTALEZA
Telefone: (85)3366-8569 Fax: (85)3366-8528 E-mail: meloventura@uol.com.br

ANEXO B – TERMO DE ACEITE PARA FINANCIAMENTO PELO CNPq



3269101205126440

TERMO DE ACEITAÇÃO DE APOIO FINANCEIRO A PROPOSTA DE NATUREZA CIENTÍFICA, TECNOLÓGICA E/OU DE INOVAÇÃO

Processo: 460485/2014-8
 Título do Projeto: CITOLOGIA ANAL, PESQUISA DE DNA-HPV E ANUSCOPIA DE ALTA RESOLUÇÃO EM MULHERES COM LESÃO INTRA-EPITELIAL GENITAL
 Instituição de Vínculo: Universidade Federal do Ceará/UFC-CE
 CNPJ: 07272636000131
 Instituição de Execução: Universidade Federal do Ceará
 CNPJ: 07272636000131
 Chamada: MCTI/CNPQ/Universal 14/2014 - Faixa A - até R\$ 30.000,00
 Eu, Raquel Autran Coelho, 767.681.043-49, declaro conhecer, concordar e atender integralmente às exigências Nº CPF (ou PASSAPORTE, se estrangeiro) da Chamada acima especificada e às Condições Gerais para Apoio Financeiro que regem a concessão dos recursos especificados abaixo:

AUXÍLIO FINANCEIRO

Custeio: R\$ 20.000,00

Valor Global: R\$ 20.000,00

Tenho ciência:

- a) de que o prazo para utilização dos recursos financeiros começa a vigorar a partir da data da assinatura deste Termo de Aceitação, pelo período constante na Chamada correspondente; e
- b) das disposições legais e procedimentos para a adequada utilização de recursos financeiros e a correta prestação de contas (Manual de Utilização de Recursos Financeiros e Prestação de Contas).

1. DA CONCESSÃO:

1.1. Ao aceitar o apoio financeiro, o BENEFICIÁRIO declara formalmente:

- a) dedicar-se às atividades pertinentes à proposta aprovada;
- b) observar o disposto nas Leis nº 8.666/93 e nº 10.973/04, nos Decretos nº 93.872/86 e nº 5.563/05 e na Lei nº 8.112/90, no que couber, bem como os demais instrumentos legais pertinentes;
- c) conhecer o Protocolo de Cooperação Técnica firmado entre a instituição de execução do projeto/plano de trabalho e o CNPq, publicado no Diário Oficial da União;
- d) conhecer e cumprir as exigências da Chamada à qual a proposta está relacionada, como também as normas do CNPq, ora em validade, relativas à modalidade de apoio financeiro aprovado, ciente que a eventual mudança dessas normas não afeta, altera ou incide sobre o presente documento, exceto quando proposta pelo CNPq e formalmente aceita pelo BENEFICIÁRIO;
- e) possuir anuência formal da instituição de execução do projeto/plano de trabalho, seja sob a forma de vínculo empregatício ou funcional ou, na ausência deste, sob a forma de declaração de autoridade institucional competente, segundo modelo disponível na página do CNPq na Internet;
- f) dispor das autorizações legais cabíveis de instituições como Instituto Brasileiro de Meio Ambiente - IBAMA, Fundação do

Nacional do Índio - FUNAI, Comitê de Ética na Pesquisa - CEP, Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP, das Comissões de Ética em pesquisa com animais, Comissão Nacional de Energia Nuclear - CNEN e outras, no caso em que a natureza do projeto, as exigir;

- g) manter os documentos referidos nas alíneas "e" e "f" em seu poder até cinco anos após a aprovação final das contas do CNPq pelo Tribunal de Contas da União, não sendo necessária sua remessa ao CNPq;
- h) ter ciência de que esta declaração é feita sob pena da incidência nos artigos [297-299 do Código Penal Brasileiro](#) sobre a falsificação de documento público e falsidade ideológica, respectivamente; e
- i) estar ciente que o prazo para utilização dos recursos financeiros começa a vigorar a partir da data da assinatura do Termo de Aceitação, pelo período constante na Chamada correspondente, devendo ser aplicados exclusivamente para a proposta aprovada.

1.2. O BENEFICIÁRIO compromete-se, ainda, a:

- a) responsabilizar-se pela adequada implementação e aplicação dos recursos financeiros aprovados, atendendo aos aspectos normativos definidos para a(s) modalidade(s) concedida(s), podendo estar previsto apenas recursos de capital e custeio, como também recursos para bolsas;
- b) utilizar os recursos financeiros em acordo com os critérios e procedimentos estabelecidos no Manual de Utilização de Recursos Financeiros e Prestação de Contas ;
- c) assumir todas as obrigações legais decorrentes de contratações eventuais necessárias à consecução do objeto, não tendo tais contratações qualquer vínculo com o CNPq;
- d) apresentar, nos prazos que lhe forem determinados, informações ou documentos referentes tanto ao desenvolvimento quanto à conclusão do projeto ou plano de trabalho aprovado;
- e) se necessárias, propor alterações ao projeto/plano de trabalho, sujeitas à prévia análise e autorização do CNPq, e de entidade co-financiadora quando for o caso, desde que não se altere o objeto do projeto/plano de trabalho, e não implique remanejamento de despesas entre rubricas (capital para custeio e vice-versa);
- f) permitir e facilitar ao CNPq o acesso aos locais de execução do projeto/plano de trabalho, o exame da documentação produzida e a vistoria dos bens adquiridos;
- g) apresentar o relatório técnico final das atividades desenvolvidas em até 60 (sessenta) dias após o término da vigência do projeto/plano de trabalho, via Plataforma Carlos Chagas;
- h) apresentar a prestação de contas financeira em até 60 (sessenta) dias após o término da vigência do projeto/plano de trabalho, em conformidade com o disposto no Manual de Utilização de Recursos Financeiros e Prestação de Contas, via Plataforma Carlos Chagas; e
- i) se necessário, solicitar prorrogação de prazo de execução do projeto/plano de trabalho, via Plataforma Carlos Chagas, no prazo mínimo de 30 (trinta) dias antes do término da vigência.

1.3. É vedado

- a) utilizar o recurso financeiro para fins distintos dos aprovados originalmente na proposta, sendo permitidas despesas exclusivamente com itens financeiros estabelecidos nas normas de bolsas e auxílios individuais do CNPq, convênios e/ou Chamadas;
- b) transferir a terceiros as obrigações assumidas sem prévia autorização do CNPq;
- c) executar despesas em data anterior à vigência do benefício; e
- d) efetuar pagamento em data posterior à vigência do benefício, salvo se expressamente autorizado pela autoridade competente do CNPq e desde que o fato gerador da despesa tenha ocorrido durante a vigência do Termo de Aceitação. Despesas realizadas fora do prazo de aplicação dos recursos serão glosadas.

2. DA GUARDA E DOAÇÃO DOS BENS

2.1. O BENEFICIÁRIO e a instituição de execução do projeto responderão pela manutenção do bem em perfeito estado de conservação e funcionamento.

2.2. Em caso de roubo, furto ou outro sinistro envolvendo o bem, o BENEFICIÁRIO ou a instituição de execução do projeto, após a adoção das medidas cabíveis, deverá comunicar imediatamente o fato ao CNPq, por escrito, juntamente com a justificativa e a prova de suas causas, anexando cópia autenticada da Ocorrência Policial, se for o caso.

2.3. É vedada a transferência dos bens para outro local ou estabelecimento, sem prévia e expressa autorização do CNPq.

Todas as despesas decorrentes da transferência dos bens e os eventuais danos causados correrão por conta e risco do BENEFICIÁRIO e da instituição de execução do projeto.

2.4. A doação dos bens patrimoniais adquiridos com apoio financeiro do CNPq deverá ser efetuada conforme estabelecido em norma específica e com o disposto no Protocolo de Cooperação Técnica.

3. DA PROPRIEDADE INTELECTUAL / CRIAÇÃO PROTEGIDA

Caso os resultados do projeto ou o relatório em si venham a ter valor comercial ou possam levar ao desenvolvimento de um produto ou método envolvendo o estabelecimento de uma patente, a troca de informações e a reserva dos direitos, em cada caso, dar-se-ão de acordo com o estabelecido na Lei de Inovação, nº 10.973, de 2 de dezembro de 2004, regulamentada pelo Decreto nº 5.563, de 11 de outubro de 2005 e pela RN-013/2008.

4. DAS PUBLICAÇÕES E DIVULGAÇÃO

4.1. Trabalhos publicados e sua divulgação, sob qualquer forma de comunicação ou por qualquer veículo, de resultados obtidos com recursos do projeto, deverão, obrigatoriamente, no idioma da divulgação, fazer menção expressa ao apoio recebido do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq - Brasil, bem como mencionar quaisquer outras entidades/órgãos financiadores, especialmente aqueles que participaram no apoio do projeto em conjunto com o CNPq.

4.2. Material de divulgação de eventos, impressos em geral, publicações e a publicidade relativa a eles, de trabalhos e atividades apoiadas ou financiadas pelo CNPq, deverão trazer a logomarca deste em lugar visível, de fácil identificação em escala e tamanho proporcionais à área de leitura. Esclarecimentos a respeito e os padrões a observar devem ser objeto de consulta prévia junto à área de comunicação social do CNPq (comunicacao@cnpq.br).

4.2.1. Os mesmos materiais de divulgação de eventos, impressos em geral, publicações e a publicidade relativa a eles deverão trazer a logomarca de outras entidades/órgãos financiadores, em lugar visível, de fácil identificação, e em escala e tamanho proporcionais à área de leitura. (NR)

4.3. As ações publicitárias atinentes a propostas financiadas com recursos da União deverão observar rigorosamente as disposições contidas no § 1º do art. 37 da Constituição Federal, como também aquelas consignadas em Instrução Normativa da Secretaria de Comunicação de Governo e Gestão Estratégica da Presidência da República.

5. DA DESISTÊNCIA E SUSPENSÃO

5.1. Quando o BENEFICIÁRIO desistir da execução do projeto/plano de trabalho, antes do seu início, os recursos serão devolvidos ao CNPq, com justificativa plausível da desistência, no prazo de 30 (trinta) dias de seu recebimento. A não observância desse prazo implicará a correção do valor originalmente concedido, na forma da legislação aplicável aos débitos da Fazenda Nacional.

5.2. O BENEFICIÁRIO deverá comunicar formalmente ao CNPq qualquer descontinuidade do plano de trabalho ou do projeto de pesquisa, acompanhada da devida justificativa. No prazo de 30 (trinta) dias da comunicação da descontinuidade, deverão ser apresentados o relatório técnico e a prestação de contas, como também deverá ser devolvido ao CNPq eventual saldo financeiro. A não observância desse prazo implicará a correção do valor originalmente concedido, na forma da legislação aplicável aos débitos da Fazenda Nacional.

5.3. A liberação dos recursos do apoio financeiro ao projeto/plano de trabalho, bem como de quaisquer outros benefícios aprovados pelo CNPq, será suspensa quando ocorrer uma das seguintes impropriedades, constatada, inclusive, por procedimentos de fiscalização realizados pelo CNPq, Ministério da Ciência e Tecnologia - MCT, Secretaria Federal de Controle Interno - SFCI ou Tribunal de Contas da União - TCU:

- a) não comprovação da utilização adequada da parcela anteriormente recebida, na forma da legislação pertinente, quando solicitada;
- b) verificação de desvio de finalidade na utilização dos recursos ou dos bens patrimoniais adquiridos no projeto;
- c) atrasos não justificados no cumprimento das etapas ou fases programadas no projeto/plano de trabalho; e
- d) quando for descumprida qualquer condição deste instrumento.

5.3.1. A suspensão dos benefícios persistirá até a correção da causa verificada.

5.4. O BENEFICIÁRIO, cuja prestação de contas e relatório técnico final do projeto/plano de trabalho, com vigência expirada não forem aprovados, será considerado inadimplente e terá suspenso o pagamento de projetos/planos de trabalho, vigentes, bem como a concessão de novas modalidades de apoio, sem prejuízo de outras medidas julgadas necessárias pelo CNPq e previstas na lei.

6. DAS DISPOSIÇÕES FINAIS

6.1. As presentes condições gerais referem-se a proposta a ser financiada com recursos do CNPq. Se financiada com recursos de outras fontes, poderão prevalecer disposições específicas constantes em Chamadas, Convênios e outros regulamentos pertinentes.

6.2. O Termo de Aceitação só será válido na vigência do Protocolo de Cooperação Técnica firmado entre o CNPq e a instituição de execução do projeto/plano de trabalho, indicada pelo proponente na solicitação.

6.3. O apoio financeiro aprovado pelo CNPq não gera vínculo de qualquer natureza ou relação de trabalho, constituindo doação com encargos feita ao BENEFICIÁRIO.

6.4. O pessoal envolvido na execução do projeto/plano de trabalho, não possuirá vínculo de qualquer natureza com o CNPq e deste não poderá demandar quaisquer pagamentos, sendo estes de inteira responsabilidade do BENEFICIÁRIO/Instituição de execução do projeto/plano de trabalho, que o tiver empregado na sua execução.

6.4.1. Se eventualmente o CNPq for demandado pelo pessoal utilizado nos trabalhos, o BENEFICIÁRIO e a instituição de execução do projeto/plano de trabalho, o ressarcirão das despesas que em decorrência realizar, atualizadas monetariamente.

6.5. O processo somente será encerrado após as aprovações do relatório técnico final e da prestação de contas e desde que cumpridas todas as condições previstas neste instrumento e nas normas aplicáveis.

6.6. O descumprimento de qualquer condição constante deste instrumento e a inobservância de dispositivos legais aplicáveis implicará o encerramento imediato do apoio financeiro aprovado e obrigará o BENEFICIÁRIO a ressarcir integralmente o CNPq de todas as despesas realizadas, atualizadas nos termos da legislação, sem prejuízo da aplicação de penalidades cabíveis.

6.6.1. A recusa ou omissão do BENEFICIÁRIO, quanto ao ressarcimento de que trata este item, ensejará a consequente abertura de tomada de contas especial e a decorrente inscrição do BENEFICIÁRIO e do débito no Cadastro de Inadimplência Institucional - CADIN e do Tesouro Nacional.

6.7. O BENEFICIÁRIO reconhece que ao CNPq compete exercer a autoridade normativa de controle e fiscalização sobre a execução do projeto/plano de trabalho, bem como assumir ou transferir a responsabilidade pela mesma, no caso da paralisação ou de fato relevante que venha a ocorrer, de modo a evitar a descontinuidade das atividades.

7. ACEITE

Declaro ainda que li e aceitei integralmente os termos deste documento, comprometendo-me a cumpri-los fielmente, não podendo, em nenhuma hipótese, deles alegar desconhecimento.

Termo de aceitação registrado eletronicamente por meio da internet junto ao CNPq, pelo agente receptor 10.0.2.20(srv256.cnpq.br), mediante uso de senha pessoal do Beneficiário em 27/11/2014, originário do número IP 200.130.33.73(200.130.33.73) e número de controle 1620691218206912:2753408956-507149316.

Para visualizar este documento novamente ou o PDF assinado digitalmente, acesse: <http://efomento.cnpq.br/efomento/termo?numeroAcesso=3269101205126440>.