

**THIAGO DA SILVEIRA MANZIONE**

**CONTROLE LOCAL DA INFECÇÃO PERIANAL PELO  
PAPILOMAVIRUS HUMANO APÓS A ERRADICAÇÃO DOS  
CONDILOMAS ACUMINADOS**

Dissertação apresentada ao Curso de  
Pós-Graduação da Faculdade de Ciências  
Médicas da Santa Casa de São Paulo  
para obtenção do título de Mestre em  
Pesquisa em Cirurgia

**São Paulo**

**2012**

**THIAGO DA SILVEIRA MANZIONE**

**CONTROLE LOCAL DA INFECÇÃO PERIANAL PELO  
PAPILOMAVIRUS HUMANO APÓS A ERRADICAÇÃO DOS  
CONDILOMAS ACUMINADOS**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Pesquisa em Cirurgia

Orientador: Prof. Dr. Sidney Roberto Nadal

Área de Concentração: Anormalidades da Proliferação e Morte Celular

**São Paulo**

**2012**

## **FICHA CATALOGRÁFICA**

**Preparada pela Biblioteca Central da  
Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo**

Manziona, Thiago da Silveira

Controle local da infecção perianal pelo papilomavirus humanos após a erradicação dos condilomas acuminados./ Thiago da Silveira Manzione. São Paulo, 2012.

Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo – Curso de Pós-Graduação em Pesquisa em Cirurgia.

Área de Concentração: Anormalidades da Proliferação e Morte Celular

Orientador: Sidney Roberto Nadal

1. Infecções por Papillomavirus 2. Condiloma acuminado 3. Colposcopia 4. Canal anal 5. Técnicas citológicas

BC-FCMSCSP/55-12

---

## DEDICATÓRIA

*A minha querida esposa, **Adriana**.*

*Ao meu filho, **Bruno**.*

*Aos meus pais, **Nancy e Vicente**, pelo incentivo, compreensão nos momentos de ausência e apoio incondicional a minha profissão.*

*Ao meu avô, **Paulo Guaracy Silveira**, que partiu antes da conclusão deste trabalho.*

*Ao meu avô, **Angelino Manzione**, o grande responsável por eu ter escolhido esta profissão e que, infelizmente, não pode ver o neto se formar médico como ele.*

---

## **AGRADECIMENTOS**

À Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo e Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, em especial ao Departamento de Cirurgia, que possibilitaram a conclusão desse trabalho.

Ao Instituto de Infectologia Emílio Ribas, em especial as equipes de Proctologia e Anatomia Patológica, que foram fundamentais na realização desse trabalho.

À FUNDAÇÃO CAPES, pelo auxílio na realização desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Sidney Roberto Nadal, pela orientação na realização deste trabalho e pela oportunidade de poder trabalhar e aprender com ele.

A Profª Drª Carmem Ruth Manzione, pelo auxílio na realização deste trabalho, pela orientação e oportunidades oferecidas na minha carreira médica.

Ao Prof. Dr. Edinílson Eduardo Calore, pela realização dos exames de anatomia patológica.

Ao Dr. Silvio Augusto Ciquini, pelas orientações durante a minha formação na faculdade de medicina da PUC-Campinas.

Aos Professores Doutores Fabio Gonçalves Ferreira, Carlos Augusto Real Martinez e Adriana Bittencourt Campaner, pelo auxílio no exame de qualificação.

Aos Professores Doutores Peretz Capelhuchnik, Wilmar Artur Klug, Fang Chia Bin e José Mandia Neto, pelo auxílio prestado durante a minha residência.

Aos meus familiares e amigos, pelo incentivo e compreensão pela minha ausência para a realização desta tese.

Aos demais colegas de profissão da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo e da PUC-Campinas, que incentivaram e colaboraram na realização desta tese, em especial aos Doutores Rodrigo Bruno, Eduardo Vidilli Pereira, Fernanda Ito, Hellen Saito, Fernanda Formiga e Karina Magri.

---

**“Honrai o médico pelo que ele sabe e pelo que ele sofre”.**

***(Dr. José Ribeiro da Silva)***

---

## ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

5FU	5-Fluorouracil
AC	<i>Anal Cytology</i> (Citologia Anal)
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ASC-H	Atipias Celulares de Significado Indeterminado nas quais não se pode excluir lesão de alto grau
ASCUS	<i>Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance</i> (Atipias Celulares de Significado Indeterminado)
ATA	Ácido Tricloroacético
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i> (Vírus da Imunodeficiência Humana)
HPV	<i>Human Papillomavirus</i> (Papiloma Vírus Humano)
HRA	<i>High Resolution Anoscopy</i> (Anuscopia de Alta Resolução)
HSH	Homens que fazem sexo com homens
HSIL	<i>High Grade Intraepithelial Lesion</i> (Lesão Intraepitelial Escamosa de Alto Grau)
LSIL	<i>Low Grade Intraepithelial Lesion</i> (Lesão Intraepitelial Escamosa de Baixo Grau)
MSM	<i>Men Who Make Sex with Men</i> (Homens que Fazem Sexo com Homens)
NBLC	Nomenclatura Brasileira para Laudos de Citopatologia
NIA	Neoplasia Intraepitelial Anal
NIAA	Neoplasia Intraepitelial Anal de Alto Grau de Malignização
NIAB	Neoplasia Intraepitelial Anal de Baixo Grau de Malignização
NIC	Neoplasia Intraepitelial Cervical
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
SIL	<i>Squamous Intraepithelial Lesion</i> (Lesão Intraepitelial Escamosa)

---

<b>1– INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2– OBJETIVO</b> .....	11
<b>3– CASUÍSTICA E MÉTODO</b> .....	13
3.1– Caracterização da amostra .....	14
3.1.1– Gênero .....	14
3.1.2– Média etária .....	15
3.1.3– Critérios de inclusão .....	15
3.1.4– Critérios de exclusão .....	15
3.2- Método .....	16
3.2.1– Diagnóstico dos condilomas .....	16
3.2.2– Tratamento clínico .....	16
3.2.3– Tratamento cirúrgico .....	16
3.2.4– Avaliação pós – erradicação dos condilomas .....	16
3.2.5– Citologia do canal com escova .....	17
3.2.5.1– Achados citológicos .....	17
3.2.6– Colposcopia anal .....	17
3.2.6.1– Achados colposcópicos .....	18
3.3– Análise estatística .....	18
<b>4– RESULTADOS</b> .....	19
4.1- Achados da citologia do canal anal com escova .....	20
4.2- Achados da colposcopia anal .....	20
4.3- Caracterização dos grupos .....	21
4.3.1- Citologia negativa e colposcopia anal negativa .....	21
4.3.2- Citologia negativa e colposcopia anal positiva .....	21
4.3.3- Citologia positiva e colposcopia anal negativa .....	21
4.3.4- Citologia positiva e colposcopia anal postiiiva .....	22
4.4- Contagens dos linfócitos T CD4 .....	22
<b>5– DISCUSSÃO</b> .....	23
<b>6– CONCLUSÃO</b> .....	29
<b>7– ANEXOS</b> .....	31
<b>8– REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	34
<b>RESUMO</b> .....	43
<b>ABSTRACT</b> .....	45



---

# 1. INTRODUÇÃO

---

O papilomavírus humano (HPV) é o mais comum dentre os vários agentes etiológicos sexualmente transmissíveis que provocam doença na região anogenital<sup>(1)</sup>. Nos Estados Unidos, um milhão de novos casos são comunicados anualmente e acredita-se que 25% da população seja portadora desse vírus<sup>(2)</sup>. Para o Brasil, a Organização Mundial da Saúde (OMS) estima o aparecimento de 684.400 novos casos, anualmente<sup>(3)</sup>. Sua incidência vem aumentando nos últimos anos, associada à síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS)<sup>(4-9)</sup>. É a doença anal mais comum nos portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV)<sup>(10-14)</sup>, sendo diagnosticada entre 15,7% e 62% dos doentes nas diferentes séries publicadas<sup>(10,11,13,15)</sup>. Acomete principalmente os homens que fazem sexo com homens (HSH)<sup>(11,16)</sup>.

O HPV é um vírus de DNA da família *Papovaviridae*, com tropismo por superfícies epiteliais. Até o momento, foram identificados mais de 200 tipos virais<sup>(17)</sup> sendo que 40 deles infectam a região anogenital<sup>(18)</sup>. Esse grupo pode ser dividido em tipos oncogênicos ou de alto risco (Ex: 16, 18, 31 e 45) e não oncogênicos ou baixo risco (Ex: 6 e 11)<sup>(19)</sup>. Os oncogênicos estão fortemente relacionados à etiologia dos tumores do trato anogenital e suas lesões precursoras<sup>20</sup>, podendo ser isolados em aproximadamente 80 a 93% dos carcinomas anais e sendo o tipo 16, o mais frequente<sup>(19-21)</sup>.

Técnicas especiais, como a imunoistoquímica, a captura híbrida, a hibridização *in situ* e a reação em cadeia da polimerase (PCR) podem evidenciar o HPV em até 75% dos casos. Por isso, a ausência do vírus por esses métodos não permite descartar o diagnóstico de condiloma viral<sup>(22)</sup>.

O HPV necessita de lesões de continuidade para penetrar no epitélio, onde se instala nos núcleos da camada basal. Nesse local, pode se incorporar ao DNA do hospedeiro e, quando da divisão celular, se replicar. Caso não ocorra a replicação, permanece sob a forma latente, não provocando doença. O período de incubação é variável, desde 4 a 8 semanas até 6 a 7 meses<sup>(23,24)</sup>, e relacionado com o estado imunológico<sup>(25)</sup>. No entanto, o aparecimento da doença clínica pode demorar vários anos.

A maioria das infecções pelo HPV não tem qualquer consequência clínica. Todavia, 10% dos pacientes desenvolverão verrugas, papilomas ou displasias<sup>(10)</sup>. Acredita-se que esse fato dependa do grau de resistência individual ao vírus, da imunidade sistêmica e de fatores locais, inclusive a imunidade local<sup>(26-28)</sup>. A afecção não é exclusiva dos indivíduos imunodeprimidos, mas, é mais frequente quando a contagem sérica de linfócitos TCD4<sup>+</sup> estiver abaixo de 500/ $\mu$ L<sup>(29)</sup>.

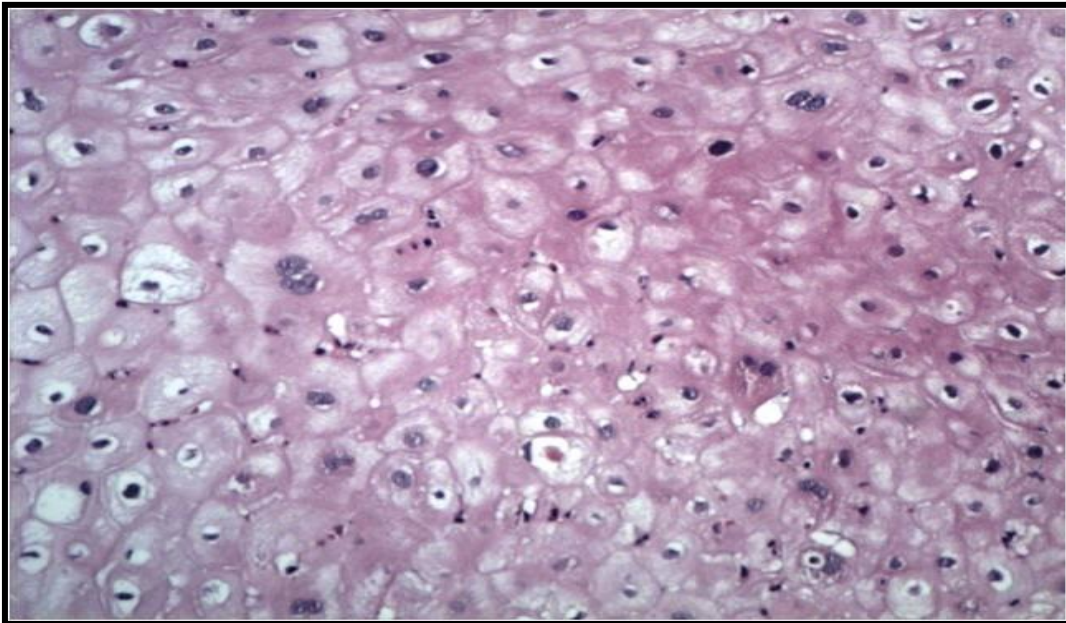
A infecção por esse vírus pode resultar em proliferação viral. As células contaminadas não sofrem a diferenciação progressiva conforme ascendem no epitélio, determinando as lesões subclínicas [as neoplasias intraepiteliais anais (NIA)<sup>(14)</sup>, precursoras do carcinoma] e posteriormente as clínicas, entre elas, os condilomas acuminados.

Quanto à topografia, podem acometer a margem, o canal anal, a mucosa retal ou todos eles. A associação de verrugas genitais e anais é frequente em mulheres<sup>(26)</sup>. Nesses casos, as lesões anais são secundárias às genitais ou ocorrer, mais raramente, por autoinoculação<sup>(23,24,30)</sup>. Porém, a localização exclusivamente anal é típica dos HSH, devido à utilização do segmento anorretal para proporcionar prazer erótico<sup>(23,31-33)</sup>.

Estudos epidemiológicos mostraram que os heterossexuais masculinos apresentam infecção anal pelo HPV em índices inferiores aos da infecção genital<sup>(19,34)</sup>. Todavia, a evolução das lesões é semelhante<sup>(23)</sup>. Durante os últimos anos, a faixa etária mais acometida foi a dos adultos jovens, com pico de incidência entre os 20 e 24 anos<sup>(25,30)</sup>, provavelmente, quando a atividade sexual é maior.

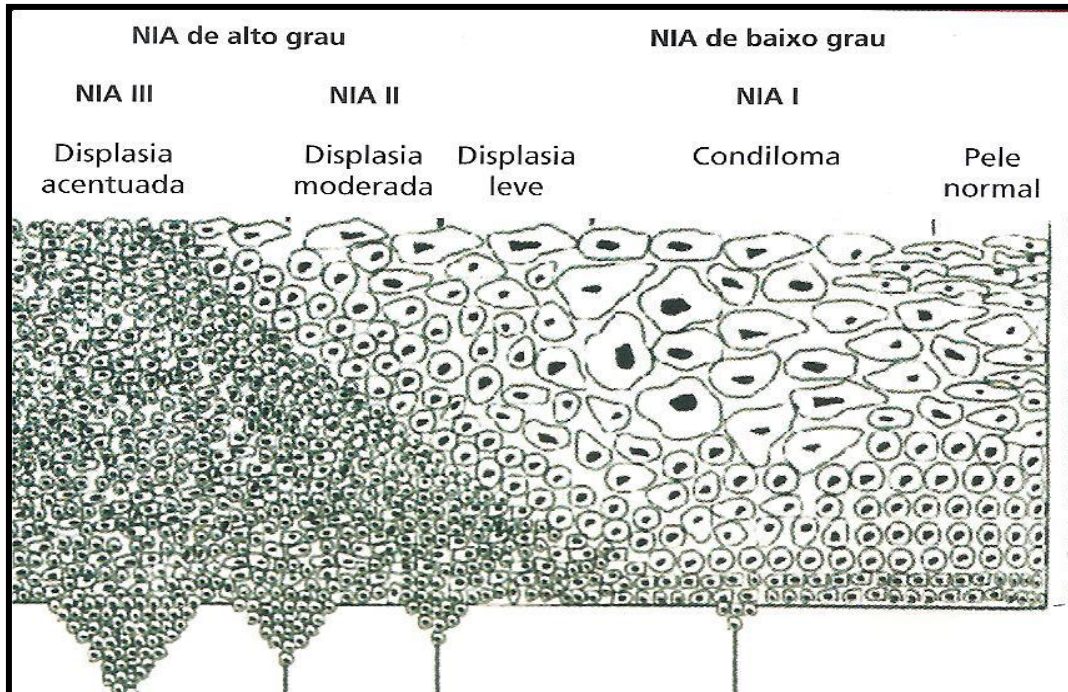
O diagnóstico da forma clínica é sugerido pelos aspectos característicos ao exame físico e pelos achados histológicos<sup>(35)</sup>. Os condilomas caracterizam-se, macroscopicamente, por lesões papilares, geralmente múltiplas, que podem coalescer formando grandes tumores vegetantes ou ainda pelo aspecto achatado recobrendo a superfície cutaneomucosa, conferindo-lhe aspecto aveludado. Em alguns poucos casos, apresentam-se como lesões fistulizadas, secretantes e múltiplas. Os doentes queixam-se de prurido, dor perianal e secreção purulenta que suja a roupa íntima<sup>(29)</sup>.

Microscopicamente, os condilomas possuem bordas bem definidas e são constituídos por epitélio escamoso pluriestratificado acantótico com alongamento de cones epiteliais que, por vezes, se dispõem sobre o pedúnculo de tecido fibroconjuntivo. Caracteristicamente, a hiperplasia da camada basal é mínima ou inexistente e o número de mitoses é normal. A camada malpighiana apresenta maturação ordenada. Outras vezes, observam-se células epiteliais de citoplasma volumoso, claro e com núcleos irregulares, ou por vezes picnóticos, denominadas coilócitos<sup>(36)</sup> (Fig. 1). A acantose pode ser mínima ou inexistente nas lesões planas, dificultando o diagnóstico que nessas situações é feito pela presença de coilócitos no epitélio de revestimento<sup>(29)</sup>. Além disso, podemos encontrar aspectos histológicos compatíveis com os das lesões precursoras do carcinoma.

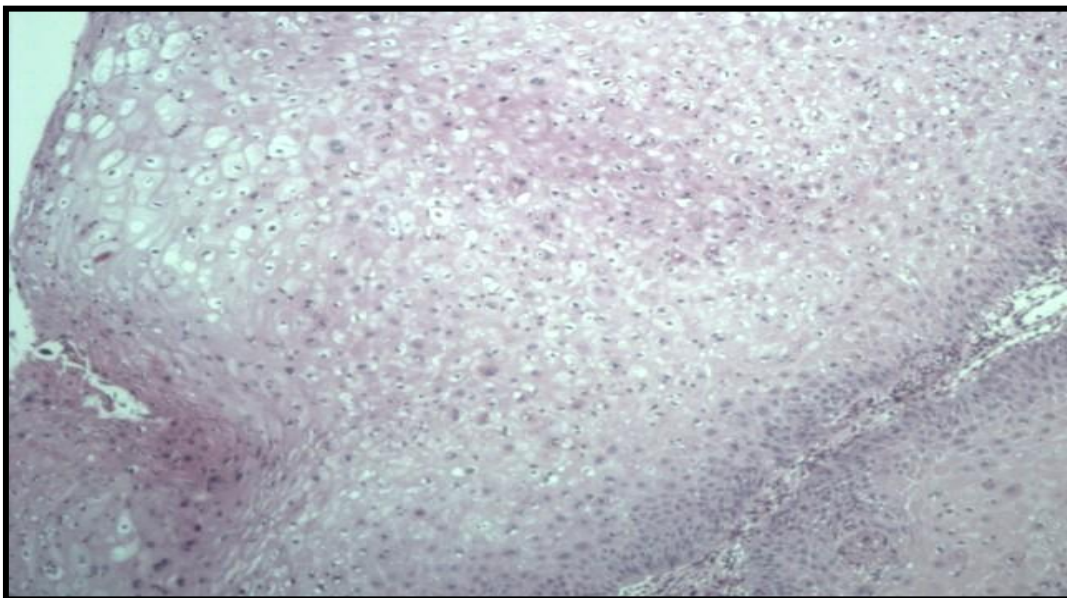


**Figura 1:** Visualização de números coilócitos: células com citoplasma claro e núcleos irregulares. Notam-se, também, células binucleadas (HE x 40).

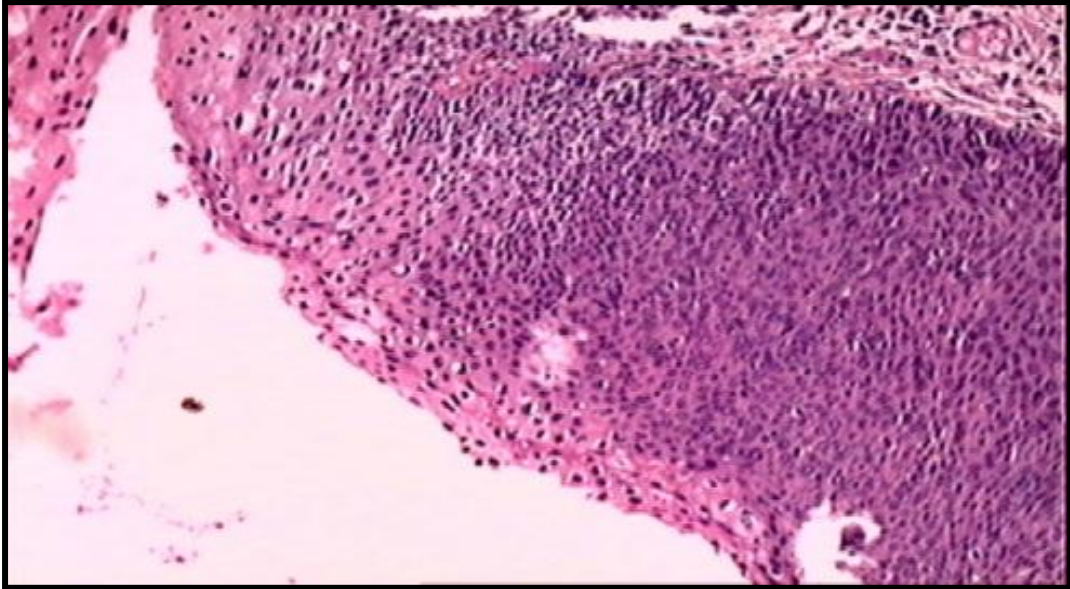
Vários termos foram usados para classificar essas alterações histológicas. Assim, as displasias leve, moderada e acentuada foram posteriormente denominadas neoplasia intraepitelial anal (NIA) dos tipos I, II e III<sup>(5,9,37)</sup> (Fig. 2). Mais recentemente, tem-se usado NIA de alto (NIAA – Fig. 3) e baixo grau de malignização (NIAB – Fig. 4), a saber: NIA I inclui a NIAB, e NIA II e III seriam a NIAA<sup>(31)</sup>. Essa classificação é a mais utilizada porque as lesões são agrupadas conforme seu comportamento biológico.



**Figura 2:** Classificação histopatológica das atipias provocadas pela infecção pelo papilomavírus humano.

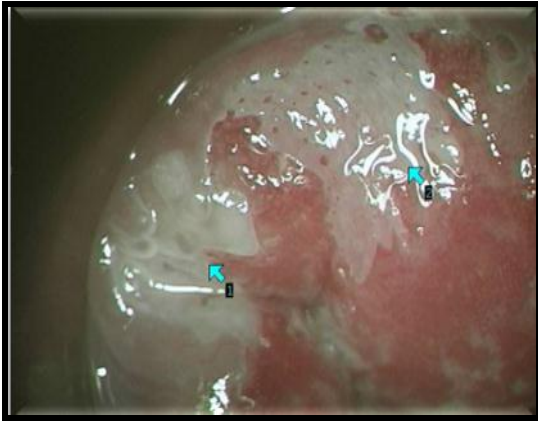


**Figura 3:** Observa-se que as células displásicas estão distribuídas na região mais profunda do epitélio, caracterizando uma NIA de baixo grau (HE x 10).



**Figura 4:** Observa-se que as células displásicas estão distribuídas em toda a extensão do epitélio, desde as camadas mais profundas até as mais superficiais, caracterizando uma NIA de alto grau (HE x 10).

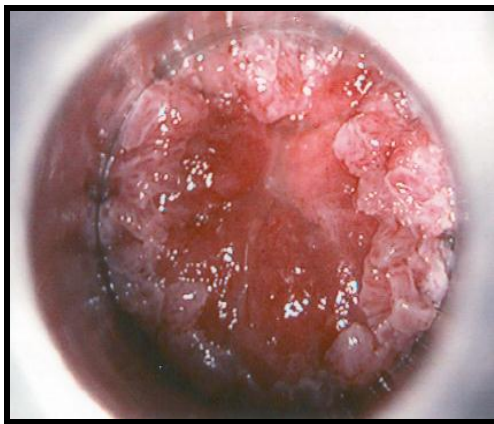
Essas lesões subclínicas, à semelhança do que ocorre para as da cérvix uterina, são detectadas pela colposcopia anal e/ou citologia do canal anal com escova e/ou biópsia. Na colposcopia anal, as lesões são identificadas após a aplicação de ácido acético, associado ou não ao azul de toluidina ou solução iodada, com auxílio de lentes de aumento<sup>(38,39)</sup>. As áreas acetobranças podem ter aspectos pontilhados, em mosaico, alterações verrucosas e vasculares<sup>(40)</sup> (Fig. 5, 6, 7 e 8). Entretanto, somente, o exame histológico pode certificar se a lesão observada é NIA e qual o seu grau.



**Figura 5:** Pontilhados suaves.



**Figura 6:** Lesões em mosaico.



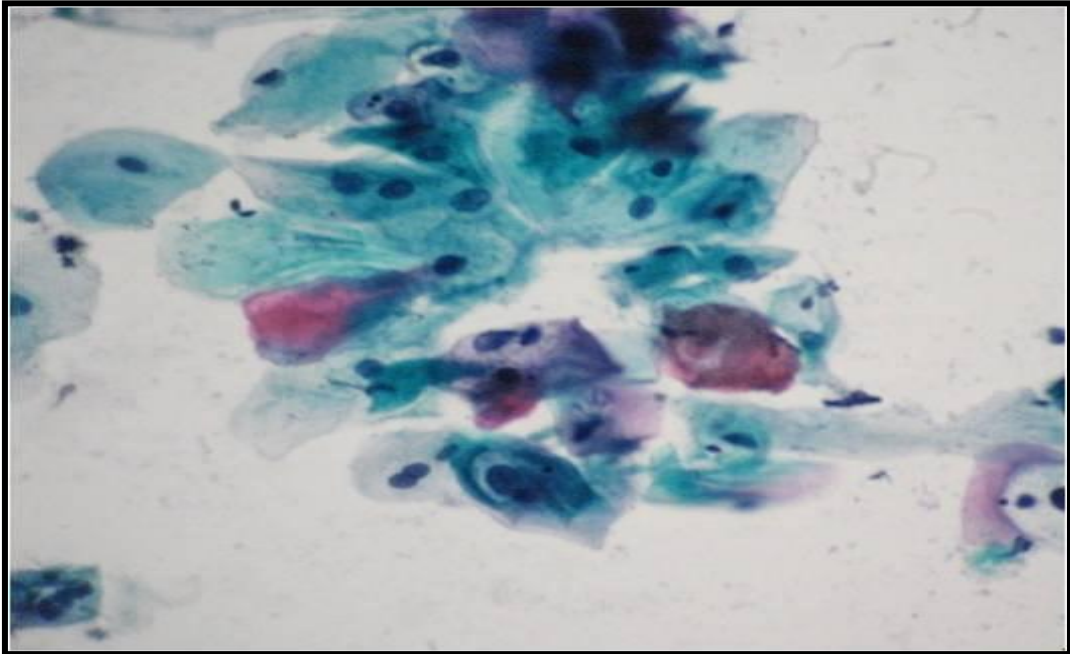
**Figura 7:** Lesões verrucosas.



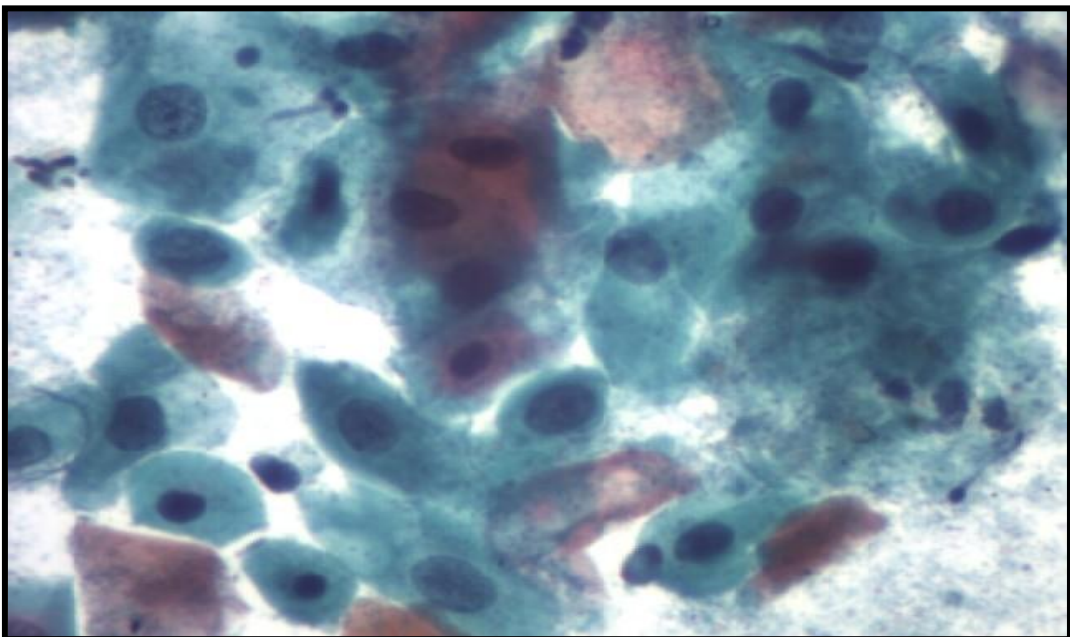
**Figura 8:** Alterações vasculares.

A citologia do canal anal com escova só foi relatada como método de rastreamento para o carcinoma no final da década de noventa. Todavia, não havia nomenclatura bem definida e reproduzível entre os diferentes patologistas. Para sanear essa dificuldade, em 1988, foi desenvolvido e aprovado pelo Instituto Nacional do Câncer (NCI), nos EUA, o “*The Bethesda System*” (TBS), que passou por revisão em 1991 e 2001<sup>(14-16)</sup> (Anexo 1), e propôs uniformizar as terminologias, assim como as condutas clínicas para cada classificação citológica<sup>(41-46)</sup>. Nele, as anormalidades do epitélio escamoso cervical, assim como do epitélio escamoso anal, são denominadas como lesões intraepiteliais escamosas (SIL - *Squamous Intraepithelial Lesion*), que podem ser de baixo grau (LSIL - *Low Grade Intraepithelial Lesion* – Fig. 9), de alto grau (HSIL – *High Grade Intraepithelial Lesion* – Fig. 10), atipias celulares de significado indeterminado (ASCUS - *atypical squamous cells of undetermined significance*), atipias celulares de significado indeterminado nas quais não se pode excluir lesão de alto grau (ASC-H) e carcinoma invasivo<sup>(46)</sup>. A

Nomenclatura Brasileira para Laudos de Citopatologia (NBLC) foi baseada no Sistema de Bethesda e o Ministério da Saúde recomenda a sua utilização<sup>(47-49)</sup>.



**Figura 9:** Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL - *Low Grade Intraepithelial Lesion*) (HE 40).



**Figura 10:** Lesão intraepitelial escamosa de alto grau (HSIL - *High Grade Intraepithelial Lesion*) (HE 40).



No esfregaço das LSIL predominam células escamosas discarióticas superficiais e intermediárias, com núcleos aumentados e hipercromáticos, encontradas isoladas ou agrupadas<sup>(45,50)</sup>. As HSIL caracterizam-se por acentuada reestruturação do epitélio e variam quanto as alterações citoplasmáticas, ao tamanho das células e as modificações do núcleo. Todavia, todas as HSIL possuem figuras mitóticas. As células afetadas são menores e menos “maduras” que as da LSIL. As alterações podem estar isoladas, em grupos ou em agregadas do tipo sincicial<sup>(45,50)</sup>. As ASCUS são anormalidades celulares mais marcadas do que as alterações reativas. No entanto, não possibilitam interpretação definitiva de lesão intraepitelial escamosa<sup>(51)</sup>. A maioria é sugestiva de LSIL e possui o núcleo de duas e meia a três vezes maior do que o da célula escamosa intermediária normal. A proporção núcleo/citoplasma fica ligeiramente aumentada. Apresenta hipercromasia nuclear mínima e irregularidade na distribuição da cromatina ou da forma nuclear<sup>(50)</sup>.

Existem diversas modalidades de tratamento, incluindo medicações tópicas, como ácido tricloroacético (ATA), podofilina, 5-Fluorouracil (5-FU)<sup>(52)</sup>, podofilotoxina<sup>(53)</sup> e métodos ablativos como excisão cirúrgica, fulguração, crioterapia<sup>(54)</sup> e laserterapia<sup>(55)</sup>.

São características, a dificuldade do tratamento, a elevada incidência de recidivas e a possibilidade de transformação carcinomatosa, especialmente, entre os imunodeprimidos. Revisando a literatura, encontramos índices de recidiva entre 10 e 88%, dependendo do tratamento instituído<sup>(56,57)</sup>. Entretanto, é difícil diferenciar dos casos de reinfecção<sup>(57,58)</sup>. Há os que associaram as recidivas à presença da infecção latente no epitélio aparentemente normal<sup>(59)</sup>. Daí, a importância do seguimento por longo prazo e aplicação de protocolos para controlar a doença.

A possibilidade de detecção das lesões remanescentes ou recidivadas, bem como das precursoras do carcinoma anal, indica que programas padronizados de rastreamento e seguimento para prevenção da infecção e diminuição da recidiva pelo HPV, em doentes de risco, deveriam ser instituídos.

A citologia do canal anal com escova vem sendo realizada<sup>(57,59-63)</sup> com eficácia semelhante à das coletas cervicais<sup>(63)</sup>, com sensibilidade oscilando entre 42 e 98% e especificidade variando de 38 a 96%, quando os resultados foram

---

comparados com os da histologia<sup>(57,63,64)</sup>. Muitos autores recomendam-na como método de rastreamento para populações de alto risco para o carcinoma anal<sup>(34,37,65,66)</sup>.

A colposcopia anal, por ter sido introduzida recentemente no arsenal diagnóstico para a especialidade, ainda não possui indicações bem definidas. A maioria a realiza como método de rastreamento para identificar os locais mais apropriados para biópsias, quando a citologia se mostrou alterada. É sugerida para rastreamento das lesões pré-neoplásicas, devido ao custo-benefício, nos grupos de risco, entre eles, os portadores de imunodepressão<sup>(67,68)</sup>. Além das situações citadas, o método também pode ser utilizado no diagnóstico diferencial do prurido anal, caso em que a doença subclínica provocada pelo HPV pode ser detectada<sup>(69)</sup>.

Até o momento, a literatura não forneceu evidência suficiente para que a colposcopia anal e a citologia anal com escova sejam utilizadas como formas de seguimento dos doentes tratados, para detectar as lesões subclínicas remanescentes. Além disso, não se consegue avaliar se o tratamento dos condilomas acuminados foi suficiente para erradicar a infecção pelo HPV, evitando as recidivas e a evolução para carcinoma. Dessa forma, resolvemos fazer deste o objeto do nosso estudo.

## **2. OBJETIVO**

Verificar se a erradicação dos condilomas acuminados perianais é efetiva no controle local da infecção pelo HPV, utilizando a colposcopia anal e a citologia do canal anal com escova.

### **3. CASUÍSTICA E MÉTODO**

Avaliamos, retrospectivamente, os dados de pacientes soronegativos e soropositivos para HIV em seguimento ambulatorial após erradicação das lesões clínicas anais provocadas pelo HPV. O atendimento ocorreu entre março de 2009 e outubro de 2011 no Ambulatório de Proctologia do Instituto de Infectologia Emílio Ribas.

Este estudo foi autorizado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Infectologia Emílio Ribas segundo o parecer número 428/2009 (Anexo 2).

### 3.1– Caracterização da amostra

A amostra é composta de 147 doentes tratados de condilomas acuminados da margem e/ou do canal anal. Eram 108 soropositivos, sendo 101 homens e sete mulheres, e 39 soronegativos para o HIV, sendo 19 homens e 20 mulheres. As médias etárias foram de 40 anos para os homens HIV-positivo e 27,5 anos para os HIV-negativo. Entre as mulheres, foi de 37,5 anos para as HIV-positivo e de 31,5 anos para as HIV negativo.

#### 3.1.1– Gênero

A análise estatística, utilizando o teste do chi-quadrado revelou que avaliamos mais homens entre a população soropositiva e igual incidência entre os gêneros no grupo dos soronegativos para o HIV ( $p < 0,0001$ ). Esses resultados são demonstrados na Tabela 1.

**Tabela 1** – Distribuição de 147 portadores de condilomas acuminados perianais tratados, conforme o gênero e a positividade para a infecção pelo HIV. Instituto de Infectologia Emilio Ribas, São Paulo, 2012.

Infecção pelo HIV	Masculinos	Femininos	Total
Positivo	101	07	08
Negativo	19	20	39(*)
TOTAL	120	27	147

(\*) Chi- quadrado  $p < 0,0001$  (diferença significativa).

### 3.1.2- Média etária

A análise estatística utilizando o método do t de Student observou que os homens HIV-positivo tiveram idades mais avançadas que os HIV-negativo ( $p=0,037$ ). Não houve diferença significativa de idade entre as mulheres soropositivas e soronegativas para o HIV ( $p=0,282$ ), nem entre homens e mulheres soropositivos ( $p=0,559$ ) e soronegativos ( $p=0,295$ ) (Tab. 2).

**Tabela 2**– Distribuição de 147 portadores de condilomas acuminados perianais tratados, conforme o gênero, média etária e a positividade para a infecção pelo HIV. Instituto de Infectologia Emilio Ribas, São Paulo, 2012.

<b>Infecção pelo HIV</b>	<b>Masculinos (anos) (*)</b>	<b>Femininos (anos) (**)</b>
Positivo	40	37,5 (***)
Negativo	27,5	31,5 (****)

(\*) T de Student  $p=0,037$  (diferença significativa); (\*\*) T de Student  $p=0,282$  (não significativa); (\*\*\*) T de Student  $p=0,559$  (não significativa); (\*\*\*\*) T de Student  $p=0,295$  (não significativa)

### 3.1.3- Critérios de inclusão

Optamos por incluir os pacientes acima de 18 anos; que não apresentavam lesões clínicas provocadas pelo HPV, 30 dias após a sua erradicação, obtida com tratamento clínico associado ou não ao cirúrgico e com diagnóstico anatomopatológico confirmando a infecção anal pelo HPV.

### 3.1.4- Critérios de exclusão

Excluimos do estudo, os pacientes que tinham o material da citologia do canal anal com escova nas duas amostras classificados como inadequado ou insuficiente pelo patologista e os que apresentavam lesões clínicas recidivadas ou persistentes na margem ou no canal anal.

## **3.2- Método**

### **3.2.1- Diagnóstico dos condilomas**

Os condilomas foram diagnosticados clinicamente, com exame proctológico que consistiu na inspeção estática e dinâmica, palpação perianal, toque retal e anoscopia. O toque retal e a anoscopia não foram realizados quando a doença encobria a margem anal, o que poderia provocar dor e sangramento. Biópsias foram colhidas para confirmar o diagnóstico clínico.

### **3.2.2- Tratamento clínico**

O tratamento clínico consistiu de aplicações semanais de pomada de podofilina a 25%, em vaselina sólida, nas lesões da margem anal e de ácido tricloroacético a 90% nas lesões acima da linha pectínea. Os doentes foram avaliados após quatro aplicações e aqueles que apresentavam lesões remanescentes foram levados para tratamento cirúrgico.

### **3.2.3- Tratamento cirúrgico**

Os doentes foram submetidos à raquianestesia e colocados em posição de litotomia. Utilizou-se técnica semelhante à de Thomson e Grace<sup>(70)</sup>, na qual se injeta solução infinitesimal de adrenalina em água destilada, no subcutâneo, de modo que os condilomas edemaciem, expondo melhor os pedículos. As lesões verrucosas foram seccionadas com tesoura, rente à pele, e a hemostasia dos pontos de sangramento foi feita por eletrocoagulação. As lesões muito pequenas foram tratadas por eletrofulguração. Enviamos os condilomas para exame anatomopatológico.

### **3.2.4- Avaliação pós-erradicação dos condilomas**

A avaliação consistiu de exame proctológico, com inspeção estática e dinâmica, palpação perianal, toque retal e anoscopia. Os pacientes que não apresentavam sinais da doença, 30 dias após a erradicação dos condilomas anais,



foram selecionados para seguimento que consistiu de citologia anal com escova e colposcopia anal.

### **3.2.5- Citologia do canal anal com escova**

Com os pacientes em posição de litotomia, realizamos esfregaço para a coleta do material do canal anal para citologia, com escova apropriada (*cytobrush*), da seguinte maneira:

a - Afastamento das nádegas e introdução da escova no ânus fazendo movimentos suaves de rotação até o desaparecimento completo de suas cerdas, o que correspondeu até a 4 centímetros da margem anal, evitando contato com o epitélio perianal. Da mesma forma, a retiramos.

b – Esfregamos a escova em lâmina de vidro, fazendo movimentos de rotação, e em ziguezague, para que toda a área seja preenchida e todo o material possa entrar em contato com o vidro<sup>(34)</sup>.

c- Acondicionamos a lâmina em frasco de plástico contendo álcool etílico a 70% em quantidade suficiente para cobrir toda a lâmina. Realizamos a coleta da segunda amostra, seguindo a mesma técnica, utilizando outra escova e acondicionando a lâmina em outro frasco<sup>(71)</sup>.

Os frascos foram enviados para o Laboratório de Anatomia Patológica para a coloração pela hematoxilina – eosina e Giemsa<sup>(72)</sup>. O mesmo patologista avaliou todas as lâminas, que foram reexaminadas por um segundo profissional. Levamos em conta o resultado com o maior grau de displasia, independente se foi observado na primeira ou segunda amostra, para o diagnóstico definitivo.

#### **3.2.5.1– Achados citológicos**

Os achados citológicos foram distribuídos em insatisfatório ou satisfatório e, nesse último caso, conforme a celularidade, segundo a Classificação de Bethesda<sup>(46,49)</sup>.

### **3.2.6- Colposcopia anal**

Utilizamos o colposcópico convencional (marca Medpej 7000, binocular com lentes de 7 a 25 X). A técnica do exame seguiu a seguinte padronização:

a - Na sequência das coletas para citologia, estando o doente em posição de litotomia, borrifamos ácido acético a 3% no períneo e na região perianal.

b - Avaliamos a região após dois minutos, procurando pelas áreas acetobranças. Iniciamos o exame pelo períneo, seguindo pela margem anal, em sentido horário, até completar toda a circunferência. Na posição posterior, avaliamos a região coccígea e sacral mais distal.

c - Caso fosse necessário, e para diferenciar das alterações cicatriciais, pincelamos com azul de toluidina que cora as áreas doentes.

d - A seguir, introduzimos o anuscópio descartável, localizando-o de maneira a expor a linha pectínea e a zona de transição do canal anal.

e - Aplicamos o ácido acético a 3%, nesta região, com haste flexível e ponta coberta com algodão.

f - Após a leitura, utilizamos solução iodada que cora o epitélio normal em castanho. As lesões HPV induzidas, como não contém glicogênio, coram-se com menos intensidade.

g - O tratamento instituído dependeu dos achados. Quando as lesões eram poucas e isoladas, submetemos o doente à eletrocauterização, sob anestesia local. Quando eram esparsas pela margem e canal anal, repetimos o tratamento clínico tópico.

### **3.2.6.1– Achados colposcópicos**

Os achados colposcópicos foram distribuídos em negativos, quando não havia alterações, e positivos, quando havia áreas acetobranças, na margem e/ou no canal anal.

### **3.3– Análise estatística**

Submetemos os resultados encontrados à análise estatística com o teste não-paramétrico de Mann Whitney e os testes paramétricos t de Student e do *chi*-quadrado. Consideramos o índice de tolerância menor que 5% para todos os testes estatísticos.

## **4. RESULTADOS**

#### 4.1- Achados da citologia do canal anal com escova

A leitura das lâminas contendo o raspado do canal anal mostrou que eram negativas em 40 (27,2%) e com alterações citológicas em 107 (72,8%). Dentre essas, 65 (44,2%) tinham LSIL, 41 (27,9%) eram portadores de HSIL e um (0,7%) ASCUS (Tab. 3).

**Tabela 3** – Achados da citologia do canal anal com escova no seguimento pós-tratamento de 147 portadores de condilomas acuminados de margem e/ou canal anal. Instituto de Infectologia Emílio Ribas, São Paulo, 2012.

Achados citológico	n	%
Negativa	40	27,2
LSIL	65	44,2
HSIL	41	27,9
ASCUS	01	0,7
Total	147	100

LSIL - lesões intraepiteliais escamosas de baixo grau; HSIL - lesões intraepiteliais escamosas de alto grau; ASCUS - atipias celulares de significado indeterminado.

#### 4.2- Achados da colposcopia anal

A colposcopia anal revelou-se negativa em 76 (51,7%) doentes. Observamos lesões acetobranças em 71 (48,3%) doentes, sendo 30 (20,4%) no canal anal, 22 (15%) na margem anal e 19 (12,9%) em ambos os locais (Tab. 4).

**Tabela 4** – Achados da colposcopia anal no seguimento pós-tratamento de 147 portadores de condilomas acuminados de margem e/ou canal anal. Instituto de Infectologia Emílio Ribas, São Paulo, 2012.

Achados Colposcopia Anal	n	%
Negativa	76	51,7
Lesão no CA	30	20,4
Lesão na MA	22	15,0
Lesão em CA e MA	19	12,9
Total	147	100

CA – canal anal; MA – margem anal.

### 4.3– Caracterização dos grupos

Avaliamos 147 indivíduos, divididos em quatro grupos, conforme os achados da citologia oncótica e da colposcopia anal (Tab. 5).

**Tabela 5** – Distribuição dos resultados da colposcopia anal e da citologia do canal anal com escova no seguimento pós-tratamento de 147 portadores de condilomas acuminados de margem e/ou canal anal. Instituto de Infectologia Emílio Ribas, São Paulo, 2012.

	<b>Colposcopia Negativa</b>	<b>Colposcopia Positiva</b>
Citologia negativa	24 (16,3%)	16 (10,9%)
Citologia positiva	52 (35,4%)	55 (37,4%)

#### 4.3.1- Citologia negativa e colposcopia anal negativa

Constituído por 24 pacientes, sendo cinco mulheres e 19 homens, com idades que variaram entre 19 e 54 anos e média de 36,7 anos, sendo 11 soronegativos e 13 soropositivos para HIV. A contagem de células T CD4 variou de 204 a 780/ $\mu$ l.

#### 4.3.2- Citologia negativa e colposcopia anal positiva

Constituído por 16 pacientes, sendo três mulheres e 13 homens, com idades que variaram entre 20 e 55 anos e média de 35,6 anos, sendo cinco soronegativos e 11 soropositivos para HIV. A contagem das células T CD4 variou de 300 a 938/ $\mu$ l.

#### 4.3.3- Citologia positiva e colposcopia anal negativa

Constituído por 52 pacientes, sendo 12 mulheres e 40 homens, com idades que variaram entre 16 e 64 anos e média de 38,7 anos, sendo 16 soronegativos e 36 soropositivos para HIV. A contagem de células T CD4 variou de 88 a 1463/ $\mu$ l.

#### **4.3.4- Citologia positiva e colposcopia anal positiva**

Constituído por 55 pacientes, sendo sete mulheres e 48 homens, com idades que variaram entre 18 e 60 anos e média de 37,1 anos, sendo sete soronegativos e 48 soropositivos para HIV. A contagem de células T CD4 variou de 200 a 1058/ $\mu$ l.

#### **4.4- Contagens dos linfócitos T CD4**

A comparação das médias das contagens séricas dos linfócitos T CD4 dos doentes HIV-positivo, com e sem lesões subclínicas, não revelou diferença estatística, quando aplicamos o teste não paramétrico de Mann Whitney, ( $p=0,704$ ). A presença das lesões subclínicas não teve relação com as contagens acima e abaixo de 500/ $\mu$ L, nos doentes HIV-positivo ( $p=0,771$ ).

## **5. DISCUSSÃO**

Nosso estudo avaliou mais homens soropositivos que mulheres, e números semelhantes quanto ao gênero entre os soronegativos para o HIV. Esses dados eram esperados porque o número de homens portadores do HIV é quatro vezes superior, em nosso país<sup>(3)</sup>.

Quanto à idade, observamos que o grupo dos homens soronegativos era o mais jovem. Como sabemos que a infecção entre os homens tende a se manter no decorrer do tempo e que nas mulheres é mais presente até os 30 anos<sup>(73)</sup>, esperávamos que o grupo das mulheres soronegativas fosse o mais jovem. Suspeitamos que o pequeno número de mulheres na amostra seja responsável por essa observação. Já, entre os soropositivos, a média etária de homens e mulheres foi similar, provavelmente porque a imunodepressão provocada pelo HIV auxilie a perpetuar a infecção pelo HPV.

Iniciamos o tratamento dos condilomas acuminados com os tópicos descritos, para todos os doentes, mesmo aqueles com verrugas volumosas e com indicação de tratamento cirúrgico. Em trabalho anterior, observamos que as verrugas regrediram totalmente em 46% e diminuíram em tamanho e número em 33% de 67 doentes estudados prospectivamente<sup>74</sup>. As aplicações de podofilina eliminaram as lesões em 51% dos casos e as de ATA em 33%. Em 12% das vezes, as lesões da margem anal sumiram persistindo as do canal anal. As lesões pequenas da margem anal desapareceram com essa conduta. Constatamos diminuição das lesões volumosas o que posteriormente facilitou a cirurgia. Além disso, observamos que a incidência de recidiva das verrugas diminuiu em relação ao grupo histórico (78% para 51% em 12 meses)<sup>(74)</sup>, quando o tratamento tópico foi instituído antes do operatório.

A colposcopia anal tem sido indicada para biópsias dirigidas quando a citologia mostrou-se alterada<sup>(34,39,57,75)</sup>, e muitos a recomendam como método de rastreamento<sup>(57,61,62,64,65,76,77)</sup>. Porém, não há consenso a respeito da melhor forma de seguimento dos portadores dos condilomas acuminados perianais tratados<sup>(78)</sup>. Da mesma forma, não há padronização para a colposcopia anal e para a coleta da citologia do canal anal com escova. Por esse motivo, utilizamos a padronização anteriormente descrita<sup>(40)</sup>, para que todos possam realizar os exames da mesma



---

maneira e uniformizar o atendimento, visando detectar as lesões subclínicas, prevenindo as recidivas clínicas, o carcinoma anal e seus precursores.

Temos utilizado os dois métodos associados para seguimento após o tratamento das lesões anais HPV induzidas<sup>(40)</sup>. Não há protocolo universalmente aceito que defina qual o período para realizar a colposcopia anal e a citologia do canal anal após a erradicação dos condilomas. Indicamos os exames 30 dias após o término do tratamento, quando não observamos doença visível, tempo suficiente para que haja cicatrização das feridas, evitando que sejam confundidas com aquelas de origem viral<sup>(75)</sup>. Também, queremos diminuir o desconforto durante o exame, associado ao fato de que nesse período dificilmente o paciente seria re-infectado, já que estava em período de convalescência. Caso o exame seja normal, indicamos reavaliações semestrais até que três delas estejam normais. Há autores que citaram intervalos de três<sup>(79)</sup> e de seis meses<sup>(80)</sup>, no primeiro ano, para seguimento, e até exames anuais para rastreamento<sup>(81)</sup>.

Necessitamos aumentar este grupo de doentes para obter resultados mais fidedignos, porém, a casuística atual permite definir o período de até um mês como suficiente, para a primeira avaliação, para detecção de lesões subclínicas após erradicação dos condilomas.

Nos diversos trabalhos publicados a respeito da colposcopia anal, ela é citada como anuscopia com exacerbação<sup>(39)</sup>, anuscopia de alta resolução<sup>(58,67,69,77,80)</sup>, anuscopia com colposcópio<sup>(82,83)</sup>, colposcopia anal<sup>(68,84)</sup>, anuscopia com ácido acético<sup>(75)</sup>, além de citações em eventos científicos que incluem anuscopia ampliada, com magnificação de imagens e alargada. Os artigos norte-americanos mais recentes citam “*High Resolution Anuscopy*”<sup>(58,67,77,80)</sup>, ou traduzindo, anuscopia de alta resolução. Nos dicionários de inglês “*high resolution*” significa a possibilidade de algo ser visto mais claramente e com mais detalhes, e alta resolução, sua tradução literal, é neologismo, não devendo ser utilizado caso haja palavras adequadas na língua portuguesa. O termo “magnificação” não é sinônimo de aumento de tamanho usando lentes, mas de glorificar, exaltar, aumentar, alargar no sentido de estender, não sugerindo que a imagem possa ser observada com ampliação de tamanho, mas em maior extensão.

O uso do termo colposcopia pode parecer errado devido à aplicação exclusiva do aparelho na identificação das lesões do colo uterino, até recentemente. Entretanto, o prefixo "colpos" vem do grego "kolpos", que significa a víscera, o interior, e "scopia", também do grego "skopein", que significa examinar<sup>(85)</sup>. Portanto, colposcopia significa examinar a víscera, o interior, e o colposcópico é utilizado para esse olhar, não estando relacionado exclusivamente ao genital feminino. Desta forma, colposcopia anal seria mais adequada, por indicar o aparelho usado e o local examinado.

Também, não há padronização sobre o método ideal para a citologia do canal anal com escova. Em diversos trabalhos, as escovas foram introduzidas no canal anal até a distância de dois<sup>(63)</sup>, três<sup>(62,64)</sup>, ou quatro<sup>(86,87)</sup> centímetros (cm) a partir da margem anal. Outros estudos relataram que o comprimento do canal anal variou entre 3,27 e 3,4 cm, em homens e entre 2,52 e 2,93 cm, nas mulheres<sup>(88-91)</sup>. Esses dados justificam porque a eficácia da citologia do canal anal é superior quando as amostras foram obtidas até quatro centímetros, quando comparadas às conseguidas em dois centímetros<sup>(92)</sup>.

Em estudo anterior, quando comparamos os resultados da citologia do canal anal com uma e duas coletas notamos que a sensibilidade com duas coletas foi maior do que com a coleta única e que a especificidade foi semelhante<sup>(71)</sup>, por este motivo adotamos como rotina as duas coletas.

Em relação ao tipo de coleta, atualmente as amostras são colhidas com escova (*cytobrush*) ou pelo método em meio líquido, o *Thin Prep*, em que a escova vem acondicionada em meio líquido e retorna a esse após seu uso. Estudos comparando ambos os métodos mostraram maior sensibilidade com o meio líquido<sup>(93,94)</sup>. No nosso estudo, aplicamos a escova seca por ser o meio disponível no Serviço.

Há quem diga que a citologia do canal anal seja método mais aplicável que a colposcopia para diagnóstico e rastreamento, devendo ser usada mais amplamente em doentes de risco<sup>(57)</sup>. Todavia, o aspecto citológico nem sempre corresponde ao achado da biópsia<sup>(61,83,95)</sup>. Para essas indicações, qualquer anormalidade à citologia sugere a possibilidade de lesões de alto grau na avaliação histológica<sup>(83)</sup>. Daí, a

importância da colposcopia anal para definir os locais onde as biópsias serão feitas, o que confirmará o grau da lesão. No nosso estudo, não solicitamos exame histopatológico para os doentes em seguimento, pois acreditamos que o achado não modificará a conduta, já que tínhamos o diagnóstico histopatológico prévio da doença pelo HPV.

A colposcopia anal mostrou lesões HPV induzidas na margem e no canal anal de 48,3% dos doentes examinados. Em outros 35,4%, o exame com o colposcópico revelou-se normal, embora, a citologia do canal anal estivesse alterada. Esses fatos evidenciaram que a infecção pelo HPV não estava completamente controlada em 83,7% dos pacientes. Não encontramos trabalhos publicados com os quais possamos comparar esses resultados. Também, procuramos avaliar se a infecção pelo HIV determinaria mais lesões recidivadas ou remanescentes, mas, o pequeno número de doentes HIV-negativo da amostra impediu essa análise.

Quando a afecção é detectada, inicia-se o tratamento com esperança de controlar recidivas clínicas e de evitar a evolução para malignidade. Todavia, quando a doença só é evidenciada pela citologia, torna-se impossível definir alguma terapia, pois, não sabemos onde estão as lesões e não consideramos correta a aplicação de tópicos ou a ressecção cirúrgica de áreas aleatórias. Além disso, pode haver falso-positivos, fato comprovado em estudo anteriormente publicado<sup>(92)</sup>. De qualquer forma, pensamos que o canal anal possa ser reservatório da infecção e que num momento propício, geralmente quando ocorre queda da imunidade, as doenças provocadas por esse vírus possam reaparecer. Por outro lado, o colposcópico não consegue visibilizar o interior das criptas. Caso haja infecção remanescente neste local, ela não será detectada pelo método. Todavia, células com os padrões de SIL que se desprenderam podem ser captadas durante o raspado, alterando o resultado da citologia<sup>(74)</sup>. Por estes motivos optamos pela associação da citologia ao exame com colposcópico e ácido acético e sugerimos que mostraram que esses métodos não devem ser utilizados isoladamente.

Alguns autores citaram que as recidivas são mais frequentes entre aqueles com as contagens mais baixas de linfócitos T CD4+<sup>(96)</sup>. No nosso estudo, os pacientes soropositivos apresentaram mais lesões subclínicas nos exames de seguimento. Porém, a comparação das médias das contagens séricas dos linfócitos

T CD4+ dos doentes HIV-positivo, com e sem lesões subclínicas, não revelou diferença, assim como a presença das lesões subclínicas não teve relação com as contagens acima e abaixo de 500/ $\mu$ L, mostrando que a imunidade não teve influência nesse sentido.

Pretendemos prosseguir este estudo, realizando programa de rastreamento, com os mesmos métodos, avaliando a incidência de lesões subclínicas em pacientes de alto risco (HIV+, HSH) sem antecedentes de condiloma. Queremos diagnosticar e tratar o carcinoma anal em estágio inicial, bem como as suas lesões precursoras, antes que progridam para lesões clínicas.

Além disso, estamos avaliando se a presença dos tipos oncogênicos do HPV determinaria maior índice de lesões subclínicas recidivadas ou remanescentes nos doentes tratados. Preocupa-nos, também, a evolução dos doentes com colposcopia anal normal e citologia alterada, para o qual estamos desenvolvendo estudo em paralelo a este.

## **6. CONCLUSÃO**

Os resultados obtidos nas condições de execução do presente estudo, em que realizamos a citologia anal com escova e a colposcopia anal no seguimento dos portadores dos condilomas acuminados perianais, demonstraram que a erradicação das lesões clínicas não controla localmente a infecção pelo papilomavirus humano.

## **7. ANEXOS**

---

**ANEXO 1****CLASSIFICAÇÃO DE BETHESDA 2001**

Alterações das células epiteliais

Células Escamosas

- **Células escamosas atípicas**

- de significado indeterminado

- não é possível excluir lesão intraepitelial escamosa de alto grau

- **Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau**

- (abrangendo HPV/displasia leve/NIC e NIA 1)

- **Lesão intraepitelial escamosa de alto grau**



- (abrangendo displasia moderada e acentuada, NIC e NIA 2 e 3)

- **Carcinoma de células escamosas**



## ANEXO 2

## Aprovação do Comitê de Ética

	<b>SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE</b> COORDENADORIA DOS SERVIÇOS DE SAÚDE INSTITUTO DE INFECTOLOGIA "EMILIO RIBAS" COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA Av. Dr. Arnaldo, 165 - Cerqueira César - São Paulo - SP CEP: 01246-900 - TEL: 3896-1406 E-mail: comitedeetica-ijer@ig.com.br	
	<b>PARECER</b>	
PROTOCOLO DE PESQUISA N.º 58/09 PARECER N.º 428/2009		Data: 25/11/2009
<p><i>Título da Pesquisa: "Uso da Colposcopia Anal e da Citologia Oncótica do anal para seguimento das lesões HPV induzidas tratadas."</i></p> <p><i>Investigador Principal: Dr. Sidney Roberto Nadal</i></p>		
<b>CONSIDERAÇÕES: O Comitê de Ética em Pesquisa considera respondida a pendência do parecer anterior e Aprova o estudo.</b>		
<input type="checkbox"/> APROVADO <input checked="" type="checkbox"/> APROVADO "AD REFERENDUM" <input type="checkbox"/> REPROVADO <input type="checkbox"/> COM PENDÊNCIAS- OBS.: a ausência de resposta em 60 dias, acarretará em arquivamento do processo por falta de interesse do pesquisador.		
TEMÁTICA ESPECIAL <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO CONEP <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO SVS (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA) <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO		
 Dra. Anna Christina Nunes D'Ambrosio Comitê de Ética em Pesquisas - I.I.E.R		

## **8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

---

- 1- Nadal SR, Manzione CR, Horta SHC. Comparison of perianal diseases in HIV-positive patients in periods before and after HAART use. *Dis Colon Rectum*. 2008; 51:1491-4.
- 2- Wiltz OH, Torregrosa M, Wiltz O. Autogenous vaccine: the Best therapy for perianal condyloma acuminata? *Dis Colon Rectum*. 1995; 38:838-41.
- 3- Brasil. Ministério da Saúde. Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais. DST no Brasil, 2012. Brasília (DF); Ministério da Saúde; 2012.
- 4- Breese PL, Judson FN, Penley KA, Douglas JM Jr. Anal human papillomavirus infection among homosexual and bisexual men: prevalence of type-specific infection and association with human immunodeficiency virus. *Sex Transm Dis*. 1995; 22(1):7-14.
- 5- Carter PS, de Ruiter A, Whatrup C, Katz DR, Ewings P, Mindels A, et al. Human immunodeficiency virus infection and genital warts as risk factors for anal intraepithelial neoplasia in homosexual men. *Br J Surg*. 1995; 82:473-4.
- 6- Holly EA, Whittemore AS, Aston DA, Ahn DK, Nickoloff BJ, Kristiansen JJ. Anal cancer incidence: genital warts, anal fissure or fistula, hemorrhoids and smoking. *J Natl Cancer Inst*. 1989; 81:1726-31.
- 7- Manzione CR, Castro LT, Bianchini P, Capelhuchnik P, Fang CB. Condiloma e SIDA. In: *Anais do 37º Congresso Brasileiro de Colo-Proctologia, 1988; Gramado. Trabalho. Gramado; 1988. p. 38.*
- 8- Metcalf AM, Dean T. Risk of dysplasia in anal condiloma. *Surgery*. 1995;118: 724-726.
- 9- Palefsky JM, Holly EA, Gonzales J, Lamborn K, Hollander H. Natural history of anal cytologic abnormalities and papilomavírus infection among homosexual men with group IV HIV disease. *J AIDS*. 1992; 5:1248-65.
- 10- Wexner SD, Smithy WB, Milson JW, Dailey TH. The surgical management of anorectal diseases in AIDS and pre-AIDS patients. *Dis Colon Rectum*. 1986; 29:719-723.
- 11- Safavi A, Gottesman L, Dailey TH. Anorectal surgery in the HIV+ patient:update. *Dis Colon Rectum*. 1991; 34:299-304.
- 12- Denis BJ, May T, Bigard MA, Canton P. Lésions anales et péri-anales au cours des infections symptomatiques par le VIH. Étude prospective d'une série de 190 patientes. *Gastroenterol Clin Bio*. 1992; 16:148-54.
- 13- Nadal SR, Manzione CR, Galvão VM, Salim VRMB, Speranzini MB. Perianal diseases in HIV-positive patients compared with a seronegative population. *Dis Colon Rectum*. 1999; 42:649-54.

- 
- 14- Mindel A, Carmody C. Anal and perianal lesions in adults. In Gross GE, Barrasso R. Human papilloma virus infection: a clinical atlas. Berlin: Ullstein Mosby GmbH & Co. KG, 1997. p. 389-94.
- 15- Miles AJG, Mellor CH, Gazzard B, Allen-Mersh TG, Wastell C. Surgical management of anorectal disease in HIV positive homosexuals. *Br J Surg.* 1990; 77: 869-71.
- 16- Consten ECJ, Slors FJM, Noten HJ, Oosting H, Danner AS, Lanschot JB. Anorectal surgery in human immunodeficiency virus-infected patients: clinical outcome in relation to immune status. *Dis Colon Rectum.* 1995; 38:1169-75.
- 17- Banura C, Mirembe FM, Katahoire NR, Namujju PB, Mbonye AK, Wabwire FM. Epidemiology of HPV genotypes in Uganda and the role of the current preventive vaccines: a systematic review. *Infectious Agents and Cancer* [peridico on line] 2011; 6:11. Disponível em: <http://www.infectagentscancer.com/content/6/1/11>
- 18- Carvalho MO, Carestiato FN, Perdigao PH, Xavier MP, Silva K, Botelho MO, et al. Human papillomavirus infection in Rio de Janeiro, Brazil: a retrospective study. *Braz J Infect Dis.* 2005; 9:398-404.
- 19- Dunne EF, Nielson CM, Stone KM, Markowitz LE, Giuliano AR. Prevalence of HPV infection among men: asystematic review of the literature. *J Infect Dis.* 2006; 194:1044-57.
- 20- Giuliano AR, Tortolero-Luna G, Ferrer E, Burchell AN, de Sanjose S, Kjaer SK, et al. Epidemiology of human papillomavirus infection in men, cancers other than cervical and benign conditions. *Vaccine.* 2008; 26 (Suppl 10):K17-28.
- 21- Nadal SR, Manzione CR. Vacina contra o Papilomavirus Humano. O que é preciso saber? *Rev Bras Coloproct.* 2010;30:237-40.
- 22- Calore EE, Nadal SR, Manzione CR, Cavaliere MJ, Vilela Almeida L, Villa LL. Expression of Ki-67 cam assist inn predicting recurrences of low-grade anal intraepithelial neoplasia in AIDS. *Dis Colon Rectum,* 2001; 44:534-7.
- 23- Handsfield HH. Clinical presentation and natural course of anogenital warts. *Am J Med.* 1997; 102:16-20.
- 24- Vittorio CC, Schiffman MH, Weinstock MA. Epidemiology of human papillomaviruses. *Dermatol Clin.* 1995; 13:561-74.
- 25- Koutsky L. Epidemilogy of genital human papillomavirus infection. *Am J Med.* 1997; 102(5A):3-8. Review.
- 26- Palefsky JM. Humann papilomavírus infection and anogenital neoplasia in human immunodeficiency virus-positive men and women. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 1998; 23:15-20.

- 27- Arany I, Tying SK. Systemic immunosuppression by HIV infection influence HPV transcription and thus immune response in condylomata acuminata. *Int J DST AIDS*. 1998; 19:268-71.
- 28- Wieland U, Pfister H. Papilloma virus in humam pathology. In: Groos GE, Barrasso R. Human papilloma virus infection: a clinical atlas. Berlin: Ullstein Mosby GmbH & Co. KG; 1997. p. 18.
- 29- Nadal SR, Manzione CR, Calore EE. Lesões tumorais benignas. In: Nadal SR, Manzione CR. *Proctologia na AIDS*. Rio de Janeiro: DiLivros Editora Ltda.; 2007. p.9-42.
- 30- Parella CI, Pereyra EAG, Guerra DMM. Papilomavírus humano. In: Belda Jr W. *Doenças sexualmente transmissíveis*. São Paulo: Editora Atheneu; 1999. p.143-56.
- 31- Critchlow CW, Surawicz CM, Holmes KK, Goldbaum GM, Holmes KK, Surawicz CM, et al. Prospective study of high grade anal squamous intraepithelial neoplasia in a cohort of homosexual men: influence of HIV infection, immunosuppression and human papillovarius infection. *AIDS*. 1995; 9:1255-62.
- 32- Palefski J, Gonzales J, Greenblatt RM, Ahn DK, Hollander H. Anal intraepithelial neoplasia and anal papilomavírus infection among homosexual males with group IV HIV disease. *JAMA*. 1990; 263:2911-6.
- 33- Xi LF, Critchlow CW, Wheeler CM, Koutsky LA, Galloway DA, Kuypers J, et al. Risk of anal carcinoma in situ in relation to human papilomavírus type 16 variants. *Cancer Res*. 1998; 58:3839-44.
- 34- Giuliano AR, Nielson CM, Flores R, Dune EF, Abrahamsen M, Papenfuss MR, et al. The optimal anatomic sites for sampling heterossexual men for human papillomavirus (HPV) detection: the HPV detection in men study. *J Infect Dis*. 2007; 196:1146-52.
- 35- Nadal SR, Manzione CR. Uso do coloscópio para avaliar a região perianal e o canal anal – padronização técnica da nomenclatura e indicação. *Rev Bras Coloproct*. 2004; 24:379-81.
- 36- Owen DA, Kelly JK. Diseases of the anus. In: Owen DA, Kelly JK. *Atlas of gastrointestinal pathology*. Philadelphia: WB Saunders Co.; 1992. p.185-94.
- 37- Surawicz CM, Critchlow C, Sayer J, Hurt C, Hawes S, Kirby P, et al. High grade anal dysplasia in visually normal mucosa in homosexual men: seven cases. *Am J Gastroenterol*. 1995; 90:1776-8.
- 38- Nadal SR, Manzione CR. Infecção perianal recidivante pelo papilomavirus humano. *Rev Assoc Med Bras*. 2002;48:14-5.
- 39- Magi JC, Magi DAS, Reche LMC, Falavinha T, Carvalho GT. Anuscopia com exacerbação para diagnóstico de Papilomavirus Humano anorretal na forma subclínica. *Rev Bras Coloproct*. 2002; 22:178-83.

- 40– Nadal SR, Calore EE, Manzione TS, Machado SP, Manzione CR, Seid VE, Horta SHC. Evolução dos doentes com citologia oncótica alterada e colposcopia anal normal. *Rev Bras Coloproct.* 2011; 31:71-6.
- 41- The 1988 Bethesda System for reporting cervical/vaginal cytologic diagnoses: developed and approved at the National Cancer Institute workshop in Bethesda, MD, December 12–13, 1988. *Diagn Cytopathol.* 1989; 5(3):331–4.
- 42- National Cancer Institute Workshop. The 1988 Bethesda System 14. For reporting cervical/vaginal cytological diagnoses. *JAMA.* 1989; 262(7):931-4.
- 43- Broder S. The Bethesda System for reporting cervical/vaginal 15. cytologic diagnoses: report of the 1991 Bethesda Workshop. *JAMA.* 1992; 267(14):1892.
- 44- Solomon D, Nayar R. Sistema Bethesda para citopatologia cervicovaginal: definições, critérios e notas explicativas. Rio de Janeiro: Revinter; 2005.
- 45- Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, et al. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA.* 2002; 287:2114-9.
- 46- Bethesda System 2001 Terminology. Bethesda (MD): National Cancer Institute; 2001. Disponível em: <http://bethesda2001.cancer.gov/terminology.html>
- 47- Aguiar LS, Moura Tde P, Etlinger D, Yamamoto LS, di Loreto C, Cury LC, Pereira SM. Avaliação crítica das nomenclaturas diagnósticas dos exames citopatológicos cervicais utilizadas no Sistema Único de Saúde (SUS). *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2011; 33(3):144-9.
- 48- Brasil. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Nomenclatura brasileira para laudos citopatológicos cervicais e condutas clínicas preconizadas. Rio de Janeiro: INCA; 2003. Disponível em: [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/Nomenclatura\\_Internet.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/Nomenclatura_Internet.pdf).
- 49- Nomenclatura Brasileira para laudos cervicais e condutas preconizadas: recomendações para profissionais de saúde. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2006; 28(8):486-504.
- 50- Koss LG, Gomple C. Introdução à citopatologia ginecológica com correlações histológicas e clínicas. São Paulo: Editora Roca; 2006.
- 51– Eleutério Jr J. Noções básicas de citologia ginecológica. São Paulo: Santos; 2003.
- 52- Almeida Filho GL, Passos MRL, Lopes PC. Papilovirose humana (condiloma acuminado). In: Passos MRL. Doenças sexualmente transmissíveis. 3ª ed., Rio de Janeiro: Ed. Cultura Médica; 1991. p.93-106.

- 53- Kilewo CDS, Urassa WK, Pallangyo K, Mhalu F, Biberfeld G, Wigzell H. Response to podophyllotoxin treatment of genital warts in relation to HIV-1 infection among patients in Dar es Salaam, Tanzania. *Int J STD AIDS*. 1995; 6:114-6.
- 54- Safavi A, Gottesman L, Dailey TH. Anorectal surgery in the HIV+ patient: update. *Dis Colon Rectum*. 1991; 34:229-304.
- 55- Schmitt SL, Wexner SD, Nogueras JJ, Jagelman DG. Is aggressive management of perianal ulcers in homosexual HIV-seropositive men justified? *Dis Colon Rectum*. 1993; 36:240-6.
- 56- Manzione CR, Nadal SR, Calore EE. Postoperative follow-up of anal condylomata acuminata in HIV-positive patients. *Dis Colon Rectum*. 2003; 46:1358-65.
- 57- Friedlander MA, Stier E, Lin O. Anorectal cytology as a screening tool for anal squamous lesions: cytologic, anoscopic, and histologic correlation. *Cancer*. 2004; 102:19-26.
- 58- Goldstone SE, Winkler B, Ufford LJ, Alt E, Palefsky JM. High prevalence of anal squamous intraepithelial lesions and squamous-cell carcinoma in men who have sex with men as seen in a surgical practice. *Dis Colon Rectum*. 2001; 44:690-8.
- 59- Kreuter A, Brockmeyer NH, Hochdorfer B, Weissenborn SJ, Stucker M, Swoboda J, et al. Clinical spectrum and virologic characteristics of anal intraepithelial neoplasia in HIV infection. *J Am Acad Dermatol*. 2005; 52:603-8.
- 60- Arain S, Walts AE, Thomas P, Bose S. The Anal Pap Smear: Cytomorphology of squamous intraepithelial lesions. *Cytojournal* 2005; 2:4.
- 61- Piketty C, Darragh TM, Da Costa M, Bruneval P, Heard I, Kazatchkine MD, et al. High prevalence of anal human papillomavirus infection and anal cancer precursors among HIV-infected persons in the absence of anal intercourse. *Ann Intern Med*. 2003; 138:453-9.
- 62- Fox PA, Seet JE, Stebbing J, Francis N, Barton SE, Strauss S, et al. The value of anal cytology and human papillomavirus typing in the detection of anal intraepithelial neoplasia: a review of cases from an anoscopy clinic. *Sex Transm Infect*. 2005; 81:142-6.
- 63- Papaconstantinou HT, Lee AJ, Simmang CL, Ashfaq R, Gokaslan ST, Sokol S, et al. Screening methods for high-grade dysplasia in patients with anal condyloma. *J Surg Res*. 2005; 127:8-13.
- 64- Vajdic CM, Anderson JS, Hillman RJ, Medley G, Grulich AE. Blind sampling is superior to anoscope guided sampling for screening for anal intraepithelial neoplasia. *Sex Transm Infect*. 2005; 81:415-8.
- 65- Nadal SR, Manzione CR. Manejo das neoplasias intra-epiteliais anais. *Rev Bras Coloproct*. 2008; 28:462-4.

- 66- Park IU, Palefsky JM. Evaluation and management of anal intraepithelial neoplasia in HIV-negative and HIV-positive men who have sex with men. *Curr Infect Dis Rep.* 2010; 12:126-33.
- 67- Ortholan C, Francois E, Gerard JP. Preneoplastic anal lesions and anal canal carcinoma. *Bull Cancer.* 2003; 90:405-11.
- 68- Mathews WC. Screening for anal dysplasia associated with human papillomavirus. *Top HIV Med.* 2003; 11:45-9.
- 69- Magi JC, Rodrigues MRS, Guerra GMLSR, Costa ACL, Formiga GJS. O Papilomavirus humano (HPV) na forma subclínica como diagnóstico diferencial da etiologia do prurido anal. *Rev Bras Coloproct.* 2003; 23:273-7.
- 70- Goligher JC. Doenças sexualmente transmissíveis. In: Goligher JC. *Cirurgia do ânus, reto e colo.* 5ª Ed. São Paulo: Editora Manole; 1990. p.1122-36.
- 71- Nadal SR, Calore EE, Manzione CR, Arruda CN, Cha JD, Formiga FB, Manzione TS. Sensibilidade e especificidade da citologia anal com escova no diagnóstico das lesões clínicas provocadas pelo papilomavírus humano, comparando uma com duas coletas. *Rev Bras Coloproct.* 2009; 29:297-302.
- 72- Papanicolaou GN, Traut HF. Cancer of the uterus: the vaginal smear in its diagnosis. *California and Western Medicine.* 1943; 59:121-2.
- 73- Dietz CA, Nyberg CR. Genital, oral and anal human papillomavirus infection in men who have sex with men. *J Am Osteopath Assoc.* 2011; 111(3 Suppl 2):S19-25.
- 74- Nadal SR, Manzione CR, Horta SHC, Galvão VM. Tratamento tópico dos condilomas acuminados perianais em doentes HIV+. *Rev Bras Coloproct.* 1999; 19:79-82.
- 75- Palefsky JM, Holly EA, Hogeboom CJ, Berry JM, Jay N, Darragh TM. Anal cytology as a screening tool for anal squamous intraepithelial lesions. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol.* 1997; 14:415-22.
- 76- Varnai AD, Bollmann M, Griefingholt H, Speich N, Schmitt C, Bollmann R, et al. HPV in anal squamous cell carcinoma and anal intraepithelial neoplasia (AIN) impact of HPV analysis of anal lesions on diagnosis and prognosis. *Int J Colorectal Dis.* 2006; 21:135-42.
- 77- Panther LA, Wagner K, Proper J, Fugelso DK, Chatis PA, Weeden W, et al. High resolution anoscopy findings for men who have sex with men: inaccuracy of anal cytology as a predictor of histologic high-grade anal intraepithelial neoplasia and the impact of HIV serostatus. *Clin Infect Dis.* 2004; 38:1490-2.
- 78- Nadal SR, Manzione TS, Formiga FB, Calore EE, Horta SHC, Seid VE, et al. Seguimento pós-tratamento dos portadores de condilomas acuminados anais com colposcópico, ácido acético e citologia oncótica do canal anal. *Rev Bras Coloproct.* 2009; 29:57-8.



- 
- 79- Herat A, Whitfeld M, Hillman R. Anal intraepithelial neoplasia and anal cancer in dermatological practice. *Australas J Dermatol.* 2007; 48:143-53.
- 80- Chang GJ, Berry JM, Jay N, Palefsky JM, Welton ML. Surgical treatment of high-grade anal squamous intraepithelial lesions: a prospective study. *Dis Colon Rectum.* 2002; 45:453-8.
- 81- Lehtovirta P, Paavonen J, Heikinheimo O. Risk factors, diagnosis and prognosis of cervical intraepithelial neoplasia among HIV-infected women. *Int J STD AIDS.* 2008; 19:37-41.
- 82- Ruiter A, Carter P, Katz DR, Kocjan G, Whatrup C, Northover J, Mindel A. A comparison between cytology and histology to detect anal intraepithelial neoplasia. *Genitourin Med.* 1994; 70:22-5.
- 83- Scholefield JH, Johnson J, Hitchcock A, Kocjan G, Smith JH, Smith PA, Ferryman S, Byass P. Guidelines for anal cytology to make cytological diagnosis and follow up much more reliable. *Cytopathology.* 1998; 9:15-22.
- 84- Jay N, Berry JM, Hogeboom CJ, Holly EA, Darragh TM, Palefsky JM. Colposcopic appearance of anal squamous intraepithelial lesions: relationship to histopathology. *Dis Colon Rectum.* 1997; 40:919-28.
- 85- Diaz G, Douglas CR. Etimologia grega do vocabulário científico. 1ª ed., São Paulo: Robe Editorial; 1993.
- 86- Moscicki AB, Hills NK, Shiboski S, Darragh TM, Jay N, Powell K, et al. Risk factors for abnormal anal cytology in young heterosexual women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1999; 8:173-8.
- 87- da Costa e Silva IT, Gimenez FS, Guimarães RA, Camelo RT, Melo MND, Barros FS, et al. Citologia anal como método de rastreamento para detecção precoce do câncer anal: esfregaço com algodão hidrófilo são mesmo insatisfatórios? *Acta Cir Bras.* 2005; 20:109-14.
- 88- Fenger C. The anal transitional zone: location and extent. *Acta Pathol Microbiol. Scand [A].* 1979; 87A:379-86.
- 89- Gold DM, Bartram CI, Halligan S, Humphries KN, Kamm MA, Kmiot WA. Three dimensional endoanal sonography in assessing anal canal injury. *Br J Surg.* 1999; 86:365-70.
- 90- Regadas SM, Regadas FS, Rodrigues LV, Silva FR, Lima DM, Regadas-Filho FS. Importância do ultrassom tridimensional na avaliação anorretal. *Arq Gastroenterol.* 2005; 42:226-32.
- 91- Jorge JM, Habr-Gama A. The value of sphincter asymmetry index in anal incontinence. *Int J Colorectal Dis.* 2000; 15:303-10.

- 
- 92- Nadal SR, Calore EE, Nadal LRM, Horta SHC, Manzione CR. Citologia anal para rastreamento de lesões pré-neoplásicas. *Rev Assoc Med Bras.* 2007; 53:147-51.
- 93- Hutchinson ML, Zahniser DJ, Sherman ME, Herrero R, Alfaro M, Bratti MC, et al. Utility of liquid-based cytology for cervical carcinoma screening: results of a population based study conducted in a region of Costa Rica with a high incidence of cervical carcinoma. *Cancer.* 1999; 87:48-55
- 94- Lerma E, Quintana MJ, Quilez M, Esteva E, Carrera A, Bonfill X, et al. Effectiveness of liquid-based and papanicolaou in a low risk population. *Acta Cytol.* 2007; 51:399-406.
- 95- Mathews WC, Sitapati A, Caperna JC, Barber RE, Tugend A, Go U. Measurement characteristics of anal cytology, histopathology and high-resolution anosopic visual impression in an Anal Dysplasia Screening Program. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2004; 37:1610-5.
- 96- Massad LS, Fazzari MJ, Anastos K, Klein RS, Minkoff H, Jamieson DJ, et al. Outcomes after treatment of cervical intraepithelial neoplasia among women with HIV. *J Low Genit Tract Dis.* 2007; 11:90-7.

## **RESUMO**

---

Manzione TS. Controle local da infecção perianal pelo papilomavirus humano após a erradicação dos condilomas acuminados. Dissertação de Mestrado, 2012.

Estudamos a infecção perianal pelo papilomavirus humano (HPV) após a erradicação dos condilomas acuminados perianais. Atualmente este vírus é o principal causador de doenças na região anogenital, apresentando um aumento da sua incidência nos últimos anos sendo a doença anal mais comum nos pacientes HIV+ principalmente os homossexuais masculinos. A colposcopia anal e a citologia anal com escova têm sido usadas como métodos de rastreamento nas populações de risco, porém, pouco se fala na sua utilização como seguimento. Assim, o objetivo do nosso trabalho foi verificar se a erradicação dos condilomas acuminados perianais é efetiva no controle local da infecção pelo HPV, utilizando a colposcopia anal e a citologia anal com escova para detecção de lesões subclínicas. Avaliamos 147 pacientes tratados de condiloma da margem e/ou canal anal sendo 108 HIV positivos (101♂ e 7♀) e 39 HIV negativos (19♂ e 20♀). A média etária no sexo masculino foi de 40 anos para os HIV positivos e de 27,5 anos para os HIV negativos. No sexo feminino, a média etária foi de 37,5 anos para os HIV positivos e 31,5 anos HIV negativos. Após a erradicação das lesões os pacientes foram submetidos a colposcopia anal e citologia anal com escova. Os resultados mostraram que 24 (16,3%) apresentavam citologia e colposcopia negativas, 16 (10,9%) citologia negativa e colposcopia positiva, 52 (35,4%) citologia positiva e colposcopia negativa e 55 (37,4%) citologia positiva e colposcopia positiva. A persistência de lesões induzidas pelo HPV detectadas em 83,7% dos doentes, pela colposcopia anal e/ou citologia do canal anal, demonstra a necessidade da associação de ambas para melhor detecção das lesões subclínicas. Com isto concluímos que a erradicação das lesões clínicas não controla localmente a infecção pelo HPV.

Palavras chave: 1. Infecções por papillomavirus 2. Condiloma acuminado 3. Colposcopia 4. Canal anal 5. Técnicas citológicas.

***ABSTRACT***

---

---

Manzione TS. *Local control of human papillomavirus infection after anal condylomata acuminata eradication. Master of Science Degree Dissertation, 2012.*

*We evaluated perianal infection by human papillomavirus (HPV) infection after condylomata acuminata eradication. Nowadays, this virus is the most common agent of anogenital sexually transmitted diseases, and its incidence is increasing in the last years, mainly among HIV-infected men who make sex with men (MSM). High resolution anoscopy (HRA) and anal cytology (AC) are being in use as screening methods in populations with high risks for anal carcinoma. However, their utilization as a follow up method is less noticed. In this way, the aim of this study is to verify if anal condylomata acuminata eradication is effective for HPV infection local control, applying such methods. We have submitted 147 patients with eradicated condylomata acuminata of the anal margin and the anal canal to HRA and AC with brush for follow up. They were 108 HIV-positive persons (101♂ and 7♀) and 39 HIV-negative persons (19♂ and 20♀). The mean age was 40 years-old in HIV-positive and 27.5 for HIV-negative men. Among women, mean age was 37.5 years-old in HIV- positive ones and 31.5 years-old in the HIV-negative group. Results showed that 24 patients (16.3%) were negatives for HRA and AC; 16 (10.9%) had negative AC and positive HRA; 52 (35.4%) had positive AC and negative HRA and 55 (37.4%) had AC and HRA both positives. HPV induced lesions that were observed in 83.7% of patients, by high resolution anoscopy and/or anal canal cytology, revealed the necessity of their association for better detection of subclinical lesions in the follow-up of persons with treated anal HPV induced diseases. These results allowed us to conclude that treatment of anal condylomata acuminata do not permit local control of HPV infection.*

*Key words: 1. Papillomavirus infections 2. Condylomata acuminata 3. Colposcopy 4. Anal canal 5. Cytological techniques.*