

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

JOÃO CARLOS NEPOMUCENO GONÇALVES

ACURÁCIA DA CITOLOGIA ANAL, DNA HPV, RNAm HPV e p16/ Ki-67 NO DIAGNÓSTICO DE LESÕES PRECURSORAS DE CÂNCER DE CANAL ANAL: REVISÃO SISTEMÁTICA E METANÁLISE

CRICIÚMA

2019

JOÃO CARLOS NEPOMUCENO GONÇALVES

ACURÁCIA DA CITOLOGIA ANAL, DNA HPV, RNAm HPV e p16/ Ki-67 NO DIAGNÓSTICO DE LESÕES PRECURSORAS DE CÂNCER DE CANAL ANAL: REVISÃO SISTEMÁTICA E METANÁLISE

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense para obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Inês da Rosa

CRICIÚMA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

G635a Gonçalves, João Carlos Nepumoceno.

Acurácia da citologia anal, DNA HPV, RNAM HPV e P16/ Ki-67 no diagnóstico de lesões precursoras de câncer de canal anal: revisão sistemática e metanálise / João Carlos Nepumoceno Gonçalves. - 2019. 63 p. : il.

Tese (Doutorado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Criciúma, 2019.

Orientação: Maria Inês da Rosa.

1. Teste de RNA Mensageiro. 2. Neoplasia intraepitelial anal. 3. Câncer Cervical. 4. Ânus - Câncer. I. Título.

CDD 23. ed. 616.99435

Bibliotecária Eliziane de Lucca Alosilla - CRB 14/1101

Biblioteca Central Prof. Eurico Back - UNESC

INFORMAÇÕES

Este trabalho foi realizado nas instalações do Laboratório de Biomedicina Translacional do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense.

AGRADECIMENTOS

À Deus, que em sua insondável sabedoria e amor, nos permite descortinar os segredos de sua obra e nos traz a força e persistência para continuar mesmo conhecendo nossas limitações.

Aos meus pais, que mostraram a importância de uma vida dedicada à objetivos dignos e corretos, mesmo que não fossem os mais fáceis.

À minha esposa, que sempre foi minha fonte de inspiração e minha maior companheira nesta jornada, com uma dedicação incansável, mesmo nas horas mais difíceis. Uma mulher verdadeira que me faz seguir na direção do meu melhor, mesmo quando eu não acredito.

Aos meus filhos, Beatriz e Alexandre, que são o meu maior estímulo para buscar cada vez mais, tentando fazer do nosso mundo um lugar um pouco melhor.

À minha orientadora, doutora Maria Inês da Rosa, pelo seu carinho e enorme paciência comigo. Sua presença marcante é evidenciada pelo exemplo de pesquisadora e profissional, sendo reverenciada por todos que conhecem sua capacidade e dedicação.

Aos colegas do Laboratório de Biomedicina Translacional, que estiveram sempre presentes durante esta fase de aprendizado, dedicando-se enormemente para ajudar um amigo distante.

À toda a comunidade científica, para que a chama do desejo de conhecimento e sabedoria jamais se apague na busca de um melhor entendimento do mundo em que vivemos.

“O que sua participação significa para o estudo ANCHOR

Sua participação é o que torna este estudo possível.

Se você é soropositivo, sabe que homens e mulheres muito corajosos participaram de estudos clínicos para encontrar tratamentos para o HIV.

Assim como você, esses pioneiros participaram de estudos e responderam perguntas para que as gerações futuras pudessem viver em um mundo livre da AIDS.

Nós percorremos um longo caminho desde então.

Na verdade, muitos de nós estamos vivendo o suficiente para estar em risco de problemas de saúde típicos da vida adulta, como os cânceres relacionados ao HPV.

Sua participação neste estudo ajudará a determinar se a triagem e o tratamento da HSIL devem ser o padrão de tratamento para pessoas vivendo com HIV e para outros grupos de pessoas com alto risco de câncer anal.”

Texto que convida os indivíduos a participarem de coorte que deverá dar subsidio para a diminuição da incidência de câncer de canal anal. Tradução pelo autor.

Acesso em <https://anchorstudy.org/about>

RESUMO

Introdução: O carcinoma do canal anal ocorre mais em mulheres que em homens, com maior frequência em grupos de maior risco, como HSH (homens que fazem sexo com homens); qualquer pessoa com uma história de verrugas ou de lesão de alto grau no trato genital inferior (colo do útero, vagina e vulva) e no canal anal; populações imunossuprimidas, incluindo aqueles com infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e transplantados; e sua incidência vem aumentando mundialmente. **Objetivo:** Este estudo avaliou a acurácia da citologia anal na triagem de lesões precursoras de câncer anal, comparado ao exame histopatológico como teste de referência, em todos os indivíduos e em homens que fazem sexo com homens (HSH), infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e HSH infectados pelo HIV. **Método:** foi realizada uma revisão sistemática seguida de metanálise. A busca foi realizada nas bases de dados eletrônicas Medline, LILACS, Cochrane Library e Embase, bem como, na literatura cinza, período de 1990 até julho de 2017. Os termos de pesquisa incluíram “anal cancer”, “anal carcinoma”, “AIN”, “screening” e “anal cytology”. **Seleção do estudo:** Após a exclusão de estudos sem histopatológico, que usaram outro teste ou que não utilizaram esfregaço do canal anal, 33 estudos primários foram incluídos. As principais medidas de desfecho foram sensibilidade, especificidade, odds ratio diagnóstica (DOR) e área sob a curva (AUC). **Resultados:** 5.093 pacientes foram incluídos. A sensibilidade combinada da citologia anal foi de 85,0% (IC 95% 82,0-87,0) e a especificidade combinada foi de 43,2% (IC95% 41,4-45,1) para a detecção de neoplasia intra-epitelial anal (NIA) de grau 2 ou pior (NIA2+) versus AIN grau 1 e normal (NIA1-), quando considerando todos os indivíduos. A acurácia da citologia anal foi maior nos subgrupos HSH HIV+ e HSH. **Conclusões:** Os resultados do estudo suportam a hipótese de que a citologia é um bom teste para o rastreamento do câncer anal, apesar de sua especificidade limitada.

Palavras-chave: RNAm HPV; NIA; Câncer Cervical; Biomarcador; Revisão Sistemática de Diagnóstico.

ABSTRACT

Background: Anal carcinoma occurs more in women than in men, more often in higher-risk groups such as MSM (men who have sex with men); any person with a history of warts or high grade lesion in the lower genital tract (cervix, vagina and vulva) and anal canal; immunosuppressed populations, including those infected with human immunodeficiency virus (HIV) and transplanted; and its incidence is increasing worldwide. **Objective:** This study evaluated the accuracy of anal cytology in the screening of precursor lesions of anal cancer, compared to histopathologic examination as the reference, in all subjects and in men who have sex with men (MSM), human immunodeficiency virus (HIV)-infected, and MSM HIV-infected subgroups. **Data Sources:** The data included studies identified in the Medline, LILACS, Cochrane Library, and Embase electronic databases, as well as in the grey literature. The search terms included “anal cancer,” “anal dysplasia,” “AIN,” “screening,” and “anal cytology”, between 1990 and 2017. **Study Selection:** After excluding studies with no histopathological data and those with duplicate and missing data, 33 primary studies were included. **Diagnostic tools:** Anal cytology of anal smears. **Main Outcome Measures:** Sensitivity, specificity, diagnostic odds ratio, and area under the curve. **Results:** A total of 5,093 patients were included. The pooled sensitivity of anal cytology was 85.0% (95% confidence interval [CI] 82.0-87.0) and pooled specificity was 43.2% (95% CI 41.4-45.1) for the detection of anal intraepithelial neoplasia (AIN) grade 2 or worse versus AIN grade 1 and normal when whereas all subjects. The accuracy of anal cytology was higher in the MSM-HIV seropositive and MSM only subgroups. **Conclusions:** The study results support the hypothesis that cytology is a good test for the screening of anal cancer, despite its limited specificity.

Keywords: Anal Cytology, AIN, Anal Cancer, Biomarkers, Diagnostic Systematic Review

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Modelo esquemático de tabela 2x2.....	28
Figura 2 – Fluxograma da seleção de estudos.....	31
Figura 3 - Avaliação qualitativa dos estudos – QUADAS 2.....	36
Figura 4 - Acurácia da citologia anal: Gráfico em floresta da sensibilidade agrupada utilizando o desfecho AIN2+ vs. AIN1, amostra: todos os indivíduos.....	40
Figura 5 - Acurácia da citologia anal: Gráfico em floresta da especificidade agrupada utilizando o desfecho AIN2+ vs. AIN1-, amostra: todos os indivíduos.....	41
Figura 6 - Acurácia da citologia anal: Curva SROC desenvolvida utilizando o desfecho AIN2 + vs. AIN1-, amostra: todos os indivíduos.	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características dos estudos incluídos.....	33
Tabela 2 - Acurácia da citologia anal para detecção de Neoplasia Intraepitelial Anal ou câncer.	38
Tabela 3 - Acurácia dos testes DNA HPV, RNAm HPV e P16 para detecção de AIN2 + vs. AIN1.....	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ASC-H** – do inglês: Atypical Squamous Cells/ células escamosas atípicas
- ASC-US** – do inglês: Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance / Células atípicas escamosas de significado indeterminado
- AUC** – do inglês: Area under the curve/ área sob a curva
- DNA** – do inglês: Desoxiribonucleic acid / Ácido Desoxirribonucleico
- DOR** – do inglês: Diagnostic Odds ratio / Razão de Chances de Diagnóstico
- ES** - Espírito Santo (estado)
- EUA** - Estados Unidos da América
- HIV** – do inglês: Human immunodeficiency virus / vírus da imunodeficiência humana
- HPV** – do inglês: Human papillomavirus / Papilomavirus Humano
- hrHPV** - do inglês: high risk HPV / HPV de alto risco
- HSH** - homens que fazem sexo com homens
- HSIL** – do inglês: High-Grade Squamous Intraepithelial Lesion / Lesão Intra-Epitelial De Alto Grau
- HSROC** – do inglês: Hierarchical Summary Receiver Operating Characteristic / Sumário Hierárquico da Eficiência do Operador de Características
- JEC** - Junção Escamo-Colunar
- KP** - Kaiser Permanente
- LSIL** – do inglês: Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesion / Lesão Intra-Epitelial de Baixo Grau
- NIA** - Neoplasia Intraepitelial Anal
- OR** – do inglês: *odds ratio* / razão de chances
- PCR** – Do inglês: Polymerase chain reaction / Reação em cadeia da polimerase
- pRB** - Proteína Retinoblastoma
- PRISMA** – do inglês: Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses
- PROSPERO** – do inglês: International prospective register of systematic review
- PTGI** - Patologia do Trato Genital Inferior
- QUADAS II** – do inglês: Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies II
- Rb** - Proteína Retinoblastoma
- RNA_m** – do inglês: desoxiribonucleic acid / Ácido Ribonucleico mensageiro

ROC – do inglês: Receiver Operating Characteristic Curve / Eficiência do Operador de Características

RR - risco relativo

SROC – do inglês: Summary of ROC Curve / Curva ROC sumarizada

TLR9- Toll-like receptor 9 / Receptor Toll-like 9

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 CÂNCER DE CANAL ANAL E HPV	13
1.2 LESÕES PRECURSORAS E QUADRO CLÍNICO	15
1.3 CÂNCER DE CANAL ANAL E COLO UTERINO	16
1.4 O IMPACTO DA IMUNODEFICIÊNCIA	17
1.5 PREVENÇÃO DO CÂNCER DE CANAL ANAL	18
1.5.1 Comportamento sexual como fator de risco para infecção e persistência viral	18
1.5.2 Vacinação contra o HPV	20
1.5.3 Rastreio de lesões em canal anal	21
1.6 JUSTIFICATIVA	23
2. OBJETIVOS	24
2.1 OBJETIVO GERAL	24
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS	24
3 MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1 ESTRATÉGIAS DE BUSCA	25
3.2 CRITÉRIOS DE SELEÇÃO DOS ESTUDOS	26
3.2.1 Pacientes	26
3.2.2 Teste em avaliação	26
3.2.3 Teste de referência	27
3.2.4 Critérios de inclusão dos estudos	27
3.2.5 Critérios de exclusão dos estudos	28
3.3 AVALIAÇÃO DE QUALIDADE DOS ESTUDOS	28
3.4 ABSTRAÇÃO DE DADOS	29
3.5 SÍNTESE DE DADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA	29
4. RESULTADOS	31
4.1 IDENTIFICAÇÃO E SELEÇÃO DOS ESTUDOS	31
4.2 CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS INCLUÍDOS	32
4.3 AVALIAÇÃO DE QUALIDADE	36
4.4 ACURÁCIA DA CITOLOGIA ANAL	36
4.5 ACURÁCIA DO DNA HPV	43
4.6 ACURÁCIA DO mRNA HPV	44
4.7 ACURÁCIA DO p16 / Ki-67	44
5 DISCUSSÃO	46
6 CONCLUSÃO	53
6.1 PERSPECTIVAS	53
7 REFERÊNCIAS	55

1 INTRODUÇÃO

1.1 CÂNCER DE CANAL ANAL E HPV

Globalmente, há cerca de 30.400 novos casos de câncer anal a cada ano (Ferlay et al., 2010). Nos Estados Unidos, a estimativa é de 8.300 novos casos em 2019, sendo 2.770 em homens e 5.530 em mulheres (Siegel et al., 2019). Desde os anos 1970, a incidência tem aumentado nos países desenvolvidos cerca de 2% ao ano na população em geral (Johnson et al., 2004). A idade média de diagnóstico de câncer anal é de 57 anos entre os homens e 68 anos nas mulheres. O câncer anal é mais comum em certos grupos de alto risco: HSH (homens que fazem sexo com homens) (Machalek et al., 2012), qualquer pessoa com uma história de verrugas ou de lesão de alto grau no trato genital inferior (colo do útero, vagina e vulva) e no canal anal; populações imunossuprimidas, incluindo aqueles com infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e transplantados (Moscicki et al., 2015).

O aumento da incidência de câncer de canal anal em muitas populações foi identificado em revisão realizada por Islami e colegas (2016) especialmente nas Américas, na Europa do Norte e Ocidental e na Austrália, entre 1980 e 2007. Esse aumento afeta ambos os sexos ou apenas mulheres. Nestas populações, o carcinoma escamoso é o tipo histológico mais comum, e foi observado um decréscimo da incidência de adenocarcinoma. As razões para esse aumento não são claras, mas provavelmente refletem mudanças na prevalência de fatores de risco ambientais, particularmente a infecção pelo papilomavírus humano (HPV) (Islami et al., 2016).

Entre 1998 e 2003, nos Estados Unidos, a incidência média anual de câncer anal foi de 1,0 / 100.000 entre os homens e 1,5 / 100.000 entre as mulheres. Entre 2003 e 2007, a incidência de câncer anal havia subido para 1,4 / 100.000 entre os homens e 1,8 / 100.000 entre as mulheres. A incidência em HSH era de 37 / 100.000 antes do início da epidemia do HIV (Daling et al., 1982), e mostrou-se ainda maior em indivíduos HSH soropositivos para HIV (Frisch et al., 2000). O advento da terapia anti-retroviral não conduziu a uma redução na incidência de câncer anal (Crum-Cianflone et al., 2010). A incidência pode continuar a aumentar à medida que essa população tenha uma maior sobrevida com o HIV. O câncer de canal anal também é um câncer de indivíduos idosos com pico entre os 55 e 64 anos e uma

idade mediana para o diagnóstico de 60 anos. Apenas 1,1% dos cânceres anais são diagnosticados antes dos 35 anos (Moscicki et al., 2015).

Em um estudo recente, o DNA HPV foi encontrado em 97% de 366 casos de câncer anal. HPV 16 foi o genótipo mais prevalente (75%). HPV 16 ou 18 foram encontrados em 78% de todos os casos (Abramowitz et al., 2011). Os tipos 16 e 18 já foram definidos como fator causal para o câncer de colo do útero (IARC, 1995).

O HPV é um vírus de DNA (ácido desoxirribonucleico) vírus e possui um importante tropismo para o epitélio, sendo seu alvo as células das camadas germinativas da pele e das membranas mucosas. Lesões em pele e mucosas funcionam como portas de entrada do vírus e facilitam sua penetração até as células na membrana basal (Morshed et al., 2014). Algumas proteínas sintetizadas pela célula hospedeira a partir da infecção viral são implicadas em diferentes ações importantes na explicação de sua fisiopatogenia e oncogenicidade. A proteína E1 é essencial para a replicação viral, sendo a E2 importante para o controle da transcrição viral e da replicação do DNA. A proteína E4 controla a maturação dos vírus, regula a expressão gênica e facilita a liberação dos vírions. A proteína E5 aumenta a atividade das proteínas E6 e E7, promove a fusão entre células e gera instabilidade cromossômica. Além disso, contribui para a evasão da resposta imune. A proteína E6 liga-se e degrada a proteína p53 (supressora de tumor), inibindo a apoptose e interage com proteínas do sistema imune (aumentando a capacidade viral de evasão da resposta imune e persistência do vírus). A proteína E7 liga-se e degrada a proteína pRB (supressora tumoral), induz tolerância periférica em linfócitos T e reduz a expressão do TLR9. As proteínas L1 e L2 são proteínas do capsídeo viral. A proteína L1 é importante para a ligação com receptores celulares de superfície, sendo altamente imunogênica e induzindo a produção de anticorpos tipo específicos que neutralizam a ação do vírus. A proteína L2 favorece o transporte do vírion para o núcleo e a chegada do DNA viral aos centros de replicação (Fernandes et al., 2012). As proteínas E6 e E7 tem um papel central na malignização após infecção por HPV. São responsáveis pela desregulação do ciclo e maturação celulares (Morshed et al., 2014).

A infecção pelo HPV provoca cerca de 600.000 casos mundiais de câncer do colo do útero, vulva, vagina, ânus e orofaringe anualmente, bem como, de doenças benignas, tais como verrugas genitais e papilomatose respiratória recorrente. Ao contrário da incidência de câncer cervical, que tem diminuído nas últimas décadas, a incidência de carcinoma anal e da orofaringe, para os quais não existem programas

de rastreio eficazes, vem aumentando ao longo das últimas duas décadas (Arbyn et al., 2012; Islami et al., 2016).

A infecção persistente com o mesmo tipo de HPV é um passo necessário para a progressão para o câncer (Schiffman et al., 2010).

1.2 LESÕES PRECURSORAS E QUADRO CLÍNICO

Lesões associadas à presença do HPV são as verrugas genitais e as NIAs (Neoplasia Intraepitelial Anal). A NIA tipo I (displasia leve) e as verrugas genitais não são consideradas precursoras de câncer anal, enquanto que as lesões NIA tipo 2 (displasia moderada) e 3 (displasia grave) podem evoluir para o câncer (Watson et al., 2006; Darragh et al., 2011).

A NIA tipo 1 é classificada como neoplasia intraepitelial anal de baixo grau (LSIL), enquanto que as NIA tipo 2 e 3 como neoplasia intraepitelial anal de alto grau (HSIL). A NIA tipo III inclui o carcinoma *in situ* (Darragh et al., 2012).

O sistema de classificação utilizado para avaliação da citologia anal é semelhante ao utilizado para citologia cervical (Bethesda): ASC-US – células escamosas de significado indeterminado (do inglês: Atypical squamous cells of undetermined significance; ASC-H – células escamosas atípicas, não sendo possível excluir doença de alto grau (do inglês: Atypical squamous cells – cannot exclude HSIL); LSIL – lesões intraepiteliais escamosas de baixo grau (NIA I) (do inglês: Low grade squamous intraepithelial lesion); HSIL – lesões intraepiteliais escamosas de alto grau (NIA 2 e 3) (do inglês: High grade squamous intraepithelial lesion) e carcinoma invasor (Palefsky, 1998; Solomon et al., 2002).

O mais comum é que a infecção pelo HPV seja subclínica, mas pode se manifestar como condilomas, NIAs e carcinomas escamosos anais (Gami, 2014). Os condilomas são lesões verrucosas que ocorrem na região ano-genital causadas, na sua vasta maioria por subtipo de HPV de baixo risco (6 e 11) (Sturegard et al., 2013). Na maioria das vezes as lesões displásicas também são assintomáticas, mas podem cursar com prurido anal ou outros sintomas similares a doenças anorretais benignas (Gami, 2014).

O câncer anal pode apresentar sintomas como sangramento, dor, prurido anal, alteração do hábito intestinal, linfadenopatia inguinal ou sensação de tumoração anal (Gami, 2014).

1.3 CÂNCER DE CANAL ANAL E COLO UTERINO

Uma história natural similar a do câncer de colo do útero é assumida para o câncer anal. O canal anal é uma estrutura de 2,5 a 5cm que se inicia na junção anorretal e termina na margem anal. A porção superior do canal anal é revestido por uma mucosa com um epitélio cilíndrico. A junção entre o epitélio cilíndrico simples e o estratificado pavimentoso não queratinizado (Darragh et al., 2011), à semelhança da zona de transformação existente no colo do útero. Ambas as JECs podem apresentar metaplasia e displasia relacionados com a infecção com o HPV. Assim, a nomenclatura das lesões precursoras do câncer de canal anal foi definida de forma semelhante da utilizada para colo do útero, o qual tem sua patogênese mais bem definida (Watson, 2006). A persistência da infecção anal pelo HPV leva a lesões anais intraepiteliais escamosas de alto grau e, em última análise, ao câncer anal. No entanto, várias diferenças são dignas de nota. Apesar de taxas semelhantes de infecção por HPV no colo do útero e canal anal em mulheres jovens sexualmente ativas (estudos descritos a frente), o câncer do colo do útero é 4 vezes mais comum que o anal, com uma taxa de incidência de 7,8:100.000 mulheres. Antes dos programas de rastreio do câncer do colo do útero, nos Estados Unidos da América havia incidência de 35:100.000. Além disso, o câncer do colo do útero afeta mulheres mais jovens - a idade média do diagnóstico do câncer do colo do útero é de 49 anos e 14% ocorrem em mulheres com menos de 35 anos de idade (Moscicki et al., 2015).

A prevalência global de infecção por HPV em mulheres com citologia normal é de cerca de 11-12%, com as maiores prevalências no Caribe (35,4%) na África Subsaariana (24%), Europa Oriental (21%) e América Latina (16%). As taxas máximas de prevalência de HPV são observadas em mulheres com menos de 25 anos, diminuindo em idades mais avançadas em muitas populações, algumas das quais têm um pico secundário em mulheres na peri-menopausa. Em outras populações, como na China, a prevalência do HPV é relativamente independentemente da idade. A explicação para a diferença entre os padrões de prevalência não é compreendida. Os cinco tipos mais prevalentes em todo o mundo são HPV16 (3,2%), HPV18 (1,4%), HPV52 (0,9%), HPV31 (0,8%) e HPV58 (0,7%) (Forman et al., 2012). Em um dos maiores estudos com mulheres saudáveis, uma coorte havaiana, 1363 mulheres saudáveis etnicamente diversas com mais de 18 anos (média de 38 anos) foram recrutadas e forneceram amostras cervicais e anais

para detecção de HPV. No início, 29% tinha HPV detectável no colo do útero e 27%, HPV anal detectado. Mulheres com infecção cervical tiveram um aumento maior que 3 vezes o risco de infecção anal. Aproximadamente 80% das mulheres com ambas as infecções, anal e cervical, compartilhavam pelo menos um tipo de HPV, sugerindo que essas áreas anatômicas serviram como potenciais reservatórios de infecção entre si (Hernandez et al., 2005).

Jacyntho e colegas (2011) avaliaram 260 mulheres imunocompetentes: 184 com patologia do trato genital inferior (PTGI) conhecida e 76 controles sem PTGI. Anuscopia com magnificação de imagem foi realizada em todas as mulheres com biópsia dirigida, se lesões observadas. NIA foi encontrada em 32 de 184 (17,4%) mulheres com PTGI incluindo 6 (2,3%) com NIA de alto grau, em comparação com 2 de 76 (2,6%) controles sem PTGI (Jacyntho et al., 2011).

Em resumo, embora o câncer de canal anal seja raro em mulheres saudáveis, este ainda é o grupo mais atingido em números absolutos. A prevalência de HPV anal é muito comum em mulheres jovens sexualmente ativas saudáveis e é comparável à prevalência de HPV cervical, se não maior. Os fatores de risco para aquisição de hrHPV incluem qualquer atividade sexual, sexo anal, infecção por HPV cervical. A concordância do genótipo com o colo do útero é comum; portanto, o colo do útero pode atuar como um reservatório para infecção anal ou vice-versa. A maioria das infecções no ânus por HPV é transitória, consistente com a baixa taxa de câncer anal em mulheres saudáveis. A persistência do HPV anal é influenciada por infecções cervicais coexistentes, uso de álcool e falta de uso de preservativo (Moscicki et al., 2015).

1.4 O IMPACTO DA IMUNODEFICIÊNCIA

Estudos mostram que as infecções anais por HPV em mulheres e em HSH são bastante comuns, particularmente em indivíduos infectados pelo HIV. Da mesma forma, a depuração do HPV anal também é comum, com poucos indivíduos apresentando persistência, a menos que sejam infectados pelo HIV. O HIV influencia fortemente o desenvolvimento da neoplasia intra-epitelial anal (NIA). Acredita-se que as infecções por HPV sejam a via mediada por células, envolvendo principalmente as células T (Stanley et al., 2014). Portanto, as condições que destroem as células T ou interferem de alguma forma com a função das células T podem tornar as mulheres

vulneráveis às infecções por HPV e suas sequelas. Um estudo desenvolvido na Califórnia, EUA, examinou especificamente as taxas de incidência de cânceres não-definidores de AIDS em indivíduos infectados pelo HIV e não infectados. Eles seguiram 20.775 infectados pelo HIV e 215.158 indivíduos não infectados pelo HIV matriculados na Kaiser Permanente (KP) Califórnia de 1996-2008. O risco relativo (RR) foi calculado ajustando para idade, sexo, raça/etnia, período de calendário, região KP, tabagismo, abuso de álcool/drogas e sobrepeso/obesidade. O câncer anal, bem como o sarcoma de Kaposi, o linfoma não-Hodgkin, o linfoma de Hodgkin e o câncer colorretal tiveram tendências significativas para aumentar os RRs com a diminuição das contagens recentes de CD4. Especificamente para o câncer anal, o RR (comparado com o não-infectado pelo HIV) foi elevado entre todas as categorias de contagens de CD4. O RR foi 91,5 (48,0-174,5) para contagem de CD4 <200; 63,4 (36,4-100,3) para CD4 200-499 e 33,8 (17,8-64,3) para CD4 > 499 (Silverberg et al., 2011).

Os poucos estudos sobre a história natural da NIA em homens infectados pelo HIV sugerem que a NIA de alto grau é um precursor do câncer anal invasivo. Embora nenhum estudo de história natural da NIA esteja disponível em mulheres, mulheres com outras lesões associadas ao HPV, incluindo Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC) 3+ e câncer vulvar, apresentam taxas mais altas de câncer anal (Moscicki et al., 2015). NIA de alto grau (NIA 2 e 3) podem estar presentes em até 30% da população de HSH (Castro et al., 2012 e Schlecht et al., 2012).

1.5 PREVENÇÃO DO CÂNCER DE CANAL ANAL

Os esforços de prevenção se dividem em duas categorias: medidas para prevenir a infecção pelo HPV, através de vacinação e campanhas para um comportamento sexual mais seguro, e para rastrear possível lesão causada pelo vírus, em especial em indivíduos com fatores de risco para a persistência deste.

1.5.1 Comportamento sexual como fator de risco para infecção e persistência viral

Em levantamento transversal com homens e mulheres com carcinoma de canal anal e um grupo “controle” sem a doença, Tseng et al. identificaram que, em

comparação com pessoas que nunca haviam experimentado sexo anal receptivo, aquelas que o experimentaram “mais de 130 vezes” tinham OR 17,6 (IC 95%1,3-23,4) de desenvolver câncer anal. História de condilomatose anal, sífilis, hemorroidas severas, sedentarismo, múltiplos parceiros sexuais que fumavam e tabagismo atual também estavam associados a risco aumentado (Tseng et al., 2003). Este estudo ilustra que campanhas que estimulem o “sexo seguro” devem ser direcionadas a ambos os sexos e independente de preferência sexual, mas sabe-se que indivíduos que vivem com o HIV e HSH estão ainda mais expostos. Tosato Boldrini et al. (2018) publicaram levantamento realizado em serviço especializado em atender pacientes soropositivo para HIV em Vitória, ES, no qual realizaram coleta de citologia anal e anoscopia como rastreio. Nesta amostra, de 143 mulheres e 80 homens, identificaram que a maior prevalência de citologia alterada foi no grupo de HSH, 43,6%. Ter mais de 20 parceiros durante a vida sexual estava associado à múltipla infecção por HPV e sexo anal e primeira relação sexual antes dos 15 anos relacionou-se a qualquer infecção por HPV (Tosato Boldrini et al., 2018).

A associação mais forte é vista em HSH com HIV, mas associações fortes também são vistas em homens heterossexuais e mulheres com HIV. Um estudo grande e recente examinou dados de 13 coortes norte-americanos seguidos durante 1996-2007. A incidência de câncer de canal anal foi examinada entre 34.189 pessoas HIV-soropositivo (55% HSH, 19% homens heterossexuais e 26% mulheres) e 114.260 pessoas não infectadas (90% homens). As taxas de incidência de câncer anal foram de 131 por 100.000 pessoas / ano para HSH infectados pelo HIV, 46 para homens heterossexuais infectados pelo HIV, 30 para mulheres infectadas pelo HIV, 2 para homens não infectados pelo HIV e 0 para mulheres não infectadas pelo HIV (Silverberg et al., 2012).

Ainda corroborando com as evidências de que este é o grupo de maior risco, estudo australiano com 255 HSH HIV+, entre 44 e 56 anos, identificou que 55% tinha pelo menos um tipo de HPV de alto risco (hrHPV) no canal anal na linha de base, uma prevalência muito acima da população em geral. Destes hrHPV+, 83% tinha infecção por múltiplos genótipos (Ong et al., 2018). A prevalência pode ser ainda maior, como mostrado a frente.

Este mesmo estudo concluiu que, apesar da alta prevalência de hrHPV, a também alta incidência de hrHPV sugere que um número significativo de HSH vivendo com HIV pode se beneficiar da vacinação contra o HPV, uma vez que mesmo

infectado por um genótipo de HPV, a maioria não estará infectada pelos demais (Ong et al., 2018).

1.5.2 Vacinação contra o HPV

Esta é uma dúvida recorrente, que gera dificuldade na adesão de profissionais de saúde e pacientes: se a prevalência de HPV é alta, especialmente nos subgrupos citados, vale a pena vacinar depois do início da atividade sexual? Nos Estados Unidos da América, ainda que a vacinação para HPV em homens entre 11 e 12 anos, com reforço entre 13 e 21 anos, seja recomendada como rotina, em 2011 somente 4,9% dos HSH entre 18 e 26 anos tinha recebido ao menos uma dose da vacina (Meites et al., 2014). Estudo transversal, neste mesmo país, com 260 HSH HIV+ entre 18 e 26 anos identificou que 36% tinha diagnóstico de NIA 2+. Dentre os 137 que não tinham e seguiram a investigação, 93% tinha algum tipo de HPV no esfregaço de canal anal. Ainda assim, como 18% apresentava somente o HPV16 e 10% somente o HPV18, o estudo concluiu que estes jovens se beneficiariam da vacinação (Kahn et al., 2019). Estudo italiano, desenvolvido em Roma, com 220 HSH, dos quais 201 eram HIV+, mostrou prevalência de 86,5% de hrHPV e concluiu que a vacina nonavalente (HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52, 58) evitaria infecção por no mínimo um tipo de hrHPV em dois terços da amostra (Garbuglia et al., 2015). Dados de estudos sobre a eficácia em vacinar homens contra o HPV vem mostrando alta eficácia contra NIA e câncer anal, bem como alta eficácia na prevenção de verrugas genitais (Bosch et al., 2013).

Os estudos citados corroboram com a ideia de que, ainda que valha a pena vacinar a população adulta, o ideal é fortalecer a cobertura antes do início da vida sexual, para ambos os sexos.

A vacinação contra o HPV em mulheres, já bem estabelecida em grande parte do mundo, vem mostrando benefício também na prevenção do câncer de canal anal.

Estudo com 645 adolescentes (média de idade de 18 anos), parte das quais tinham sido total ou parcialmente vacinadas com a vacina quadrivalente, encontrou HPV anal em 42% e HPV cervical em 54%. Os tipos mais comuns detectados (incluindo cervical e anal) foram HPV 51 e 58. Em contraste, infecções com HPV16 foram raras - encontradas em menos de 2% das amostras de canal anal. Quando

analisada por dose de vacina, a probabilidade de detectar o HPV anal foi significativamente reduzida para o HPV 6/11 (OR por dose = 0,61, IC 95% 0,43-0,86), bem como para o HPV18 (OR por dose = 0,46, IC 95% 0,23 a 0,93) (Schlecht et al., 2012). Estudo transversal, com 2.107 mulheres com idade entre 22 e 29 anos, que receberam vacina contra o HPV na Costa Rica e colheram swab anal 4 anos após a dose de vacina, identificou prevalência de hrHPV anal foi de 22,0% (30,1% em mulheres com história de sexo anal e 19,8% em mulheres sem história de sexo anal). O HPV 51 e 52 foram os tipos mais comuns. O HPV 16 foi encontrado em 4% (6,4% para história de sexo anal versus 3,4% para ausência de história de sexo anal) (Castro et al., 2012).

1.5.3 Rastreio de lesões em canal anal

O rastreio de câncer anal e NIA é proposto para grupos de alto risco, mas não para a população em geral. O principal argumento a favor do rastreio é a analogia com o câncer cervical, que apresenta sucesso no rastreio e tratamento de lesões precursoras. O principal argumento contra a triagem anal é a ausência de estudos que mostram que o tratamento das NIA reduz a incidência de câncer anal. Assim, é crítica a necessidade de tais ensaios, bem como estudos sobre biomarcadores para prever progressão de NIA para o câncer (Wentzensen, 2012).

Atualmente, a ferramenta de rastreio primário para doenças associadas ao HPV anal é a citologia anal, com encaminhamento dos indivíduos com resultado positivo para anuscopia com magnificação e biópsia anal, com as decisões de tratamento com base no grau de NIA. NIA de alto grau pode ser tratada usando várias abordagens, dependendo do tamanho e localização. Alguns médicos realizam triagem de pacientes de alto risco com anuscopia padrão (Abramowitz et al, 2009).

Ensaio clínicos randomizados demonstram a melhora da eficácia da triagem de câncer do colo do útero utilizando-se testes baseados em HPV em comparação com o rastreio por citologia. O rastreio do câncer anal, ainda sem estratégia de triagem bem definida, possivelmente, se comportaria do mesmo modo.

Alguns métodos para a identificação da presença de DNA hrHPV têm sido propostos e aplicados, principalmente baseados em PCR e Captura Híbrida. Para o rastreio de câncer cervical, muitos países desenvolvidos incorporaram este teste em programas governamentais (Arbyn et al., 2012). Uma revisão sistemática que

investigou a acurácia deste teste e a comparou com a possibilidade de repetir citologia na triagem secundária do câncer cervical, que incluiu 9.983 mulheres com LSIL e 13.196 com ASC-US, identificou uma sensibilidade 94,8% e especificidade de 60,7% e sensibilidade 77,9% e especificidade de 57,4%, respectivamente, quando o objetivo era identificar NIC 3 ou câncer (Arbyn et al., 2013).

Apesar de ter sua utilidade validada e estar hoje presente na prática clínica, a testagem de DNA hrHPV demonstra especificidade limitada. Neste contexto, o teste de RNAm HPV demonstra-se promissor por apresentar maior especificidade com discreta perda da sensibilidade se comparado ao DNA hrHPV (Arbyn et al, 2012). Este teste identifica a expressão do RNAm HPV E6/E7, e sua positividade mostra que o genoma viral não somente está presente no material analisado, mas está sendo traduzido, isto é, há atividade dos oncogenes.

Outro marcador candidato à triagem, mas para o qual as evidências hoje ainda são insuficientes é o p16 imunohistoquímica ou p16Ki67 dupla marcação (Roelens et al., 2012; Arbyn et al., 2013). A proteína p16 é produzida em resposta à expressão aumentada de RNAm E6/E7 oncogênico: as principais ações dos oncogenes do HPV são a degradação de p53 por E6 e assim a supressão de apoptose bem como a liberação de E2F de pRb que leva à ativação contínua do ciclo celular. Roelens et al., em 2012, publicaram revisão sistemática na qual identificaram dezessete estudos no rastreo de câncer de colo uterino. A sensibilidade combinada de p16INK4a para detectar CIN2+, neste estudo, foi de 83,2% (IC 95%: 76,8-88,2) e 83,8% (IC 95%: 73,5-90,6) em citologia cervical ASC-US e LSIL, respectivamente; as especificidades combinadas foram 71,0% (IC 95%: 65,0-76,4) e 65,7% (IC 95%: 54,2-75,6).

Ao identificar uma possível lesão, a Anuscopia com Magnificação de Imagem com biópsia pode ser útil como ferramenta de triagem e diagnóstico de lesões suspeitas (Schiffman et al., 2010). Esta técnica consiste na visualização direta da lesão, após a aplicação de ácido acético a 5%, que evidencia zonas de maior síntese proteica, com a utilização de lente de aumento ou colposcópio. Para a avaliação dos achados na citologia anal é utilizada a classificação de Bethesda (Solomon et al., 2002).

1.6 JUSTIFICATIVA

Considerando que a NIA de alto grau é um precursor do câncer de canal anal e suas semelhanças com a história natural do câncer do colo do útero, programas de rastreamento baseados em citologia têm sido propostos. A citologia anal seria colhida em subgrupos específicos, e embora alguns serviços em saúde já tenham implementado o teste, este ainda não foi incorporado a programas nacionais. O mesmo raciocínio se aplica a biomarcadores que rastreiam a infecção e replicação do vírus HPV.

Neste contexto, realizou-se uma revisão sistemática e metanálise para avaliar a acurácia da citologia anal, testes de DNA HPV, RNAm HPV e p16/ Ki-67, na triagem de lesões precursoras de NIA em todos os indivíduos e nos subgrupos HSH, infectados pelo HIV e HSH infectados pelo HIV.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Determinar a acurácia da citologia e biomarcadores no diagnóstico de lesões precursoras de câncer de canal anal através de revisão sistemática e metanálise.

2.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS

1. Avaliar a acurácia da citologia no diagnóstico de lesões precursoras de câncer de canal anal nos subgrupos HSH, HIV+ e HSH HIV+.
2. Avaliar a acurácia do teste de DNA HPV no diagnóstico de lesões precursoras de câncer de canal anal.
3. Avaliar a acurácia do teste de RNAm HPV no diagnóstico de lesões precursoras de câncer de canal anal.
4. Avaliar a acurácia do teste de p16/Ki-67 no diagnóstico de lesões precursoras de câncer de canal anal.
5. Analisar a acurácia por perfil de pacientes (HSH, homens com lesão ano-genital causada pelo HPV, mulheres com lesão ano-genital causada pelo HPV e imunossuprimidos).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Esta revisão sistemática foi realizada em consonância com a recomendação do Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) (Moher et al., 2014) e seu protocolo foi registrado no PROSPERO (International prospective register of systematic reviews, CDR 2015: CRD42015024201).

3.1 ESTRATÉGIAS DE BUSCA

A pesquisa foi realizada fazendo-se uma busca exaustiva das bases de dados PubMed, Cancerlit, Lilacs, Scopus e Embase por publicações relevantes no período de 1990 até julho de 2017, nos bancos de dados do Medline (Ovid e PubMed), *Grey literature* e Embase. Foram utilizadas as seguintes palavras chaves para busca: “Anal Neoplasm”, “Anal Cancer”, “Anal Tumor”, “NIA” e “citology”. A pesquisa foi limitada para humanos, não houve restrição de idioma ou sexo.

Este filtro sensível foi criado pela combinação de três tipos de filtros para a identificação de estudos de diagnóstico através dos operadores booleanos “OR” e “AND”. Listas de referência de todos os estudos primários disponíveis foram revisadas para identificar outras citações relevantes.

Estratégia de busca no MEDLINE (PubMed)

- #1 Anal Neoplasm [mh]
- #2 Anal Cancer [mh]
- #3 Anal Cancer* [tw]
- #4 Anal Tumour [tw]
- #5 #1 OR #2 OR #3 OR #4
- #6 NIA [tw]
- #7 cytology[tw]
- #8 DNA HPV[tw]
- #9 # 6 OR #7 OR #8
- #10 RNAmHPV [tw]
- #11 # 5 AND #9

#12 # 10 AND #11

Estratégia de busca na Cochrane Library e LILACS

Anal Cancer* (and) Anal tumour (and) cytology

3.2 CRITÉRIOS DE SELEÇÃO DOS ESTUDOS

Esta revisão utilizou estudos observacionais nos quais foram comparados os resultados do teste diagnóstico em avaliação (citologia anal) com os resultados do padrão de referência, anatomopatológico, para identificação da lesão pré-neoplásica ou câncer de canal anal. Todos os estudos eram transversais ou, em caso de estudo de coorte, a inclusão foi realizada somente quanto havia resultados do teste em avaliação e histopatológico na linha de base, caracterizando um corte transversal. Como testes alternativos em avaliação, foram analisados os desempenhos dos biomarcadores DNA HPV, RNAm HPV e p16/Ki67 em esfregaço anal.

3.2.1 Pacientes

Pacientes em rastreamento para câncer anal foram analisados, separando por subgrupos, quando possível. Para inclusão de cada estudo foi necessário a presença de um dos testes em avaliação e o teste de referência. Além da análise que incluiu todos os pacientes, pacientes foram subanalisados divididos em HSH – Homens que fazem Sexo com Homens, independente do *status* sorológico para HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana); HSH HIV positivo (HIV+) e homens e mulheres HIV+. A análise de pacientes HPV+ não possível por carência de estudos que discriminassem este subgrupo; os estudos, de modo geral, apenas informavam a porcentagem de pacientes HPV+ dentro daquela amostra.

3.2.2 Teste em avaliação

O teste em avaliação foi uma amostra de células de esfregaço de canal anal usando escova, incluindo a fixação tradicional (álcool a 90º) ou meio líquido. Qualquer alteração citológica em relação ao normal foi definida como o ponto de corte

(células escamosas atípicas de significado indeterminado [ASC-US] ou pior), ou seja, normal como negativo e ASC-US+ como positivo.

Como testes alternativos, quando presentes, foram analisados os resultados de DNA HPV ou RNAm HPV, obtidos do mesmo modo que a citologia.

3.2.3 Teste de referência

O teste de referência foi a avaliação histológica dos cortes embebidos em parafina, utilizando a classificação do Sistema Bethesda.

3.2.4 Critérios de inclusão dos estudos

Como critérios de inclusão, em cada estudo foi necessário conter um dos testes diagnósticos em avaliação, citologia, DNA HPV ou RNAm HPV, obtido por meio de esfregaço do canal anal. Este foi comparado ao padrão-ouro, anatomopatológico, para a definição de verdadeiro positivo, verdadeiro negativo, falso positivo e falso negativo, compondo assim a tabela 2x2.

Quanto às características da amostra, foram incluídos estudos nos quais os pacientes tenham sido submetidos à anoscopia com magnificação de imagem, em dois contextos: triagem secundária, após algum resultado anormal na triagem primária, ou em alguns estudos com pacientes imunodeprimidos, como rastreio primário. Sempre que informado, somente a amostra biopsiada foi considerada.

Os estudos identificados foram triados independentemente por dois investigadores. A inclusão ou exclusão final dos estudos foram feitas de acordo com uma lista de critérios de seleção (checklist). Discordâncias sobre critérios de inclusão ou exclusão dos estudos foram resolvidas inicialmente por consenso, e quando isto não foi possível, eles foram avaliados por outro revisor.

Figura 1: Modelo esquemático de tabela 2x2.

	Padrão positivo	Padrão negativo	Total
Exame positivo	a (VP)	b (FN)	a + b
Exame negativo	c (FP)	d (VN)	c + d
TOTAL	a + c	b + d	a + b + c + d

Fórmulas utilizadas: Sensibilidade: $a / a+c$; Especificidade: $d / b+d$; DOR = $(a / b) / (c / d)$; Acurácia = $(a + d) / N$; VP = Verdadeiro Positivo; VN = Verdadeiro Negativo; FP = Falso Positivo; FN = Falso Negativo

3.2.5 Critérios de exclusão dos estudos

Foram excluídos estudos que não continham o teste em avaliação ou histopatológico, quando não havia dados suficientes para a composição da tabela 2x2. Estudos com amostras obtidas pelo próprio paciente também foram excluídos.

3.3 AVALIAÇÃO DE QUALIDADE DOS ESTUDOS

Todos os artigos encontrados foram avaliados conforme os critérios de elegibilidade de qualidade metodológica. Esta avaliação envolve examinar cada estudo conforme as características da população de pacientes, o teste diagnóstico, o padrão de referência e de que forma foram coletados (Jaeschke, 1994; Lijmer, 1999; Bossuyt, et al, 2003; Cochrane, 2011).

Para tal foram utilizados os critérios do Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies II (QUADAS II), modificado para uso pela Cochrane Collaboration (Reitsma et al., 2009; Whiting et al., 2011). Os ítems foram classificados como positivos (sem viés), negativo (potencial viés), ou informação insuficiente (possibilidade de viés “não clara”). A categorização contempla o exame do delineamento dos estudos, como os métodos de coleta de dados, as características relevantes da população de pacientes / seleção, a descrição do teste em avaliação utilizado e do padrão de

referência histológico, além da presença de viés de verificação (Altman, 1999; Bossuyt et al., 2003; Reitsma et al., 2005; Whiting et al., 2011).

3.4 ABSTRAÇÃO DE DADOS

Investigadores, de forma independente, extraíram dos artigos os dados da citologia, RNAm HPV e de DNA HPV e presença de lesão no exame anatomopatológico, confirmando ou não a lesão. Os principais desfechos diagnósticos considerados foram: normal, NIA1 (incluindo infecção pelo HPV), NIA 2, NIA 3 e câncer. Foram utilizadas 3 dicotomizações diferentes: Normal versus NIA1+ (sendo positivo presença de qualquer lesão causada pelo HPV); NIA1- versus NIA2+ (sendo positivo lesão intra-epitelial de alto grau ou câncer) e Normal versus NIA2+ (excluindo NIA1 da análise, por não ser este achado considerado verdadeiro precursor de câncer).

3.5 SÍNTESE DE DADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA

A tabela de contingência 2 x 2 foi construída em cada estudo selecionado, nos quais todos os resultados das biópsias foram classificados em positivo e negativo para neoplasia. Em cada estudo, foram construídas, sempre que a informação estava disponível, uma tabela para cada um dos desfechos (Normal vs. NIA1+, NIA1- vs. NIA2+ e Normal vs. NIA2+), e de acordo com as características da amostra na triagem primária, se específicas. Foram calculadas as taxas de verdadeiros positivo e negativo e as taxas de falsos positivo e negativo. Quando na tabela de contingência havia alguma célula contendo “0”, foi adicionado 0,5 a cada uma das células, viabilizando os cálculos, e quando havia mais de duas células com zero este estudo foi excluído.

Para produzir uma estimativa combinada da sensibilidade e especificidade dos estudos foi realizada uma metanálise. Foi construída uma curva ROC sumarizada (SROC), por meio do método Littenberg e Moses, a qual relaciona a sensibilidade no eixo das ordenadas e a taxa de falsos positivos (1 – especificidade) no eixo das abscissas. Essa curva apresenta como principais estatísticas a área sob a mesma (AUC) e a estatística Q^* juntamente com seus respectivos erros padrão. É desejável um valor de AUC igual ou muito próximo de 1 (um) e distante de 0,5 (Gatsonis e Paliwal, 2006). Valores de AUC maiores ou igual a 0,50, 0,75, 0,93 e 0,97 foram

considerados razoável, bom, muito bom e excelente acurácia, respectivamente (Jones e Athanasiou, 2005).

Já a estatística Q^* representa o valor ótimo, em que se tem a melhor sensibilidade e a maior especificidade de todas as relações *trade-off* possíveis de se realizar na curva obtida, ou seja, quanto maior o valor de Q^* , melhor o desempenho do teste de diagnóstico (Reitsma et al., 2005).

Calculou-se ainda a DOR (Diagnostic Odds ratio), que relaciona sensibilidade e especificidade, é calculada por $(\text{sensibilidade}/(1 - \text{especificidade})) / ((1 - \text{sensibilidade})/\text{especificidade})$ (Littenberg et al., 1993). Os cálculos estatísticos foram realizados pelo software Metadisc® e Review Manager® (RevMan) version 5.3 software (Zamora et al., 2006; Cochrane, 2014).

A heterogeneidade foi avaliada por meio do cálculo das estatísticas de qui-quadrado e I-quadrado. Foi considerado heterogeneidade substancial valores de I-quadrado acima de 75% (Higgins e Green, 2011).

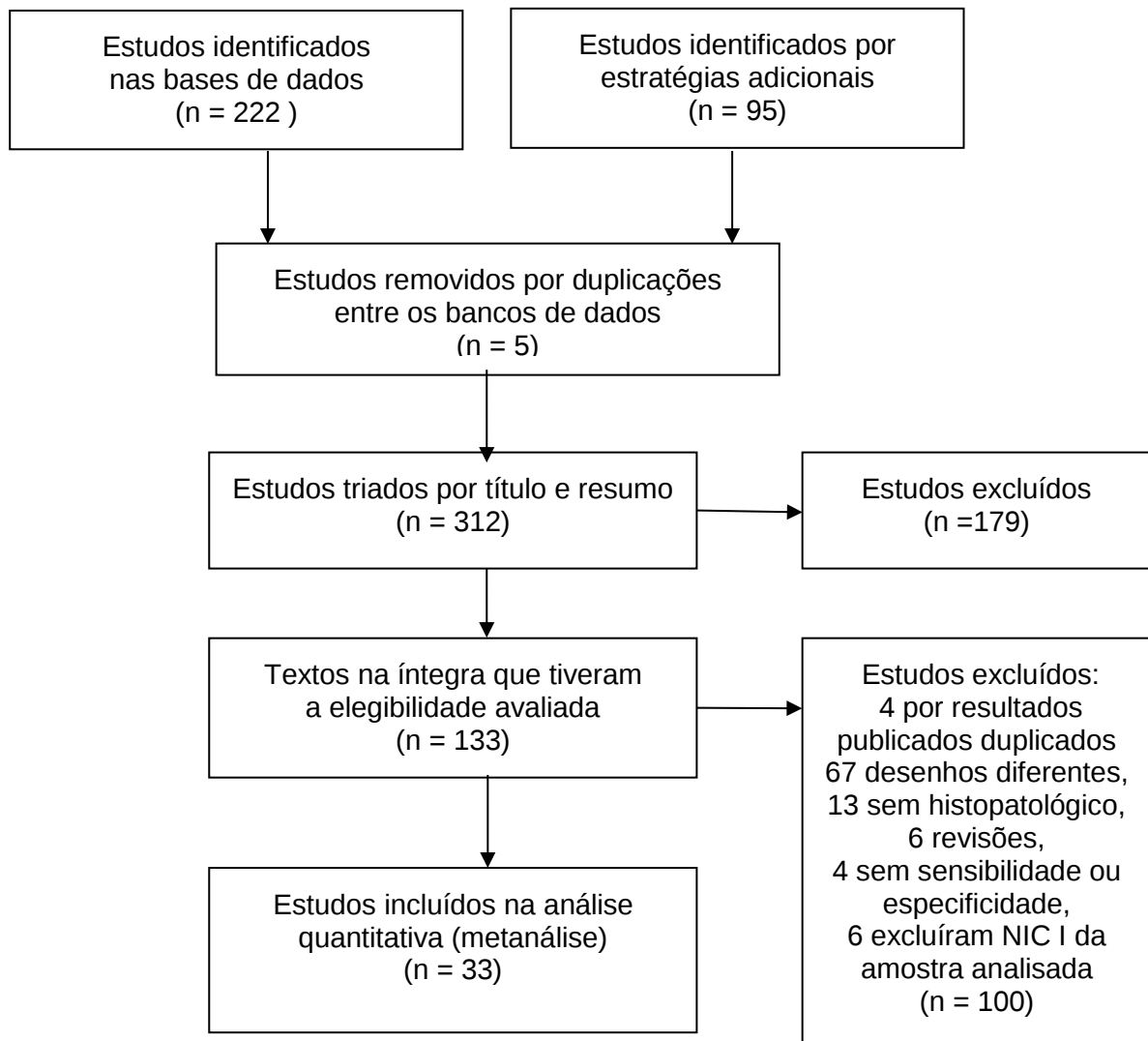
Para analisar o viés de publicação, os gráficos de funil invertido de estudos individuais foram plotados em relação ao tamanho da amostra. A robustez dos resultados foi testada repetindo a análise com um modelo estatístico diferente (modelo de efeitos aleatórios).

4. RESULTADOS

4.1 IDENTIFICAÇÃO E SELEÇÃO DOS ESTUDOS

Entre os 317 estudos identificados a partir de buscas em bases de dados eletrônicas e listas de referências, foram excluídos 184 estudos após triagem de títulos e resumos (Figura 2). Cento e trinta e três estudos foram lidos integralmente. Destes, 99 foram excluídos após um exame mais aprofundado.

Figura 2 – Fluxograma da seleção de estudos



Legenda: Elaborado pelo autor no padrão PRISMA (Moher et al., 2014)

4.2 CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS INCLUÍDOS

Trinta e três estudos primários foram incluídos. Um total de 5.093 pacientes preencheram os critérios para inclusão e foram estudados, sendo 27 estudos com 4.179 indivíduos na análise principal – acurácia da citologia anal. As principais características dos estudos incluídos são mostradas na Tabela 1.

Tabela 1 - Características dos estudos incluídos.

Autores	Ano	País	Desenho do estudo	Idade Média (intervalo)	Tabagismo (%)	Amostra	N total	N Benigno	N AIN1+	N AIN2+
Arain et al.	2005	EUA	Coorte	40.7 (24-67)	NI	Homens HIV + e -	71	13	58	43
Baranovski et al.	2012	EUA	Transversal	40 (22-57)	36.0	Mulheres HIV+	17	5	4	12
Bean et al.	2010	EUA	Transversal	42 (24-68)	NI	Homens HIV+	36	12	37	13
Berry et al.	2009	EUA	Transversal	46 (26-75)	NI	HSH HIV+ e -	75	24	51	37
Betancourt et al.	2013	EUA	Coorte	(18-62)	NI	Homens e Mulheres HIV+	89	10	79	50
Cardinal et al.	2014	Argentina	Transversal	35 (18-74)	NI	Mulheres HPV+	70	16	54	19
Chin-Hong et al.	2008	EUA	Transversal	44 (24-73)	NI	HSH HIV+ e -	125	84	41	NI
Cranston et al.	2004	EUA	Coorte	45 (29-72)	NI	HSH HIV+ e -	102	7	95	69
Diaz et al.	2017	Espanha	Transversal	43 (22-79)	47.8	HSH HIV+	205	123	82	35
Dietrich et al.	2015	Alemanha	Transversal	48.2 (23-74)	NI	Homens e Mulheres HIV+	57	10	47	28

D'Souza et al.	2016	EUA	Coorte	55 (49-61)	21.0	HSH HIV+ e -	94	51	43	23
Etienney et al.	2012	França	Transversal	47.3 (21-81)	25.0	Pacientes submetidos à cirurgia proctológica	290	267	23	10
Fox et al.	2005	RU	Coorte	NI	NI	HSH HIV+ e -	141	26	115	NI
Friedlander et al.	2003	EUA	Transversal	43 (26-74)	NI	Homens e Mulheres	39	4	35	24
Gandra et al.	2015	EUA	Transversal	50 (42-56)	51.0	Homens e Mulheres HIV+	67	45	NI	22
Lacey et al.	1999	Inglaterra	Coorte	35 (19-62)	NI	HSH HIV+	34	1	33	23
Lampinen et al.	2006	Canadá	Transversal	31 (28-35)	NI	HSH HIV+ e -	34	9	25	11
Maia et al.	2014	Brasil	Transversal	29%>30	9.0	Homens e Mulheres HIV+	11	3	8	1
Mavrogianni et al.	2011	Grecia	Transversal	31 (19-64)	54.1	Homens e Mulheres com condilomas	72	9	56	NI

Nahas et al.	2009	Brasil	Transversal	42(22-66)	32.0	Homens e Mulheres HIV+	311	169	142	31
Nathan et al.	2010	RU	Transversal	36 (30-43)	NI	Homens e Mulheres	276	15	261	70
Palefsky et al.	1998	EUA	Transversal	42 (24-64)	NI	HSH HIV+ e -	92	15	77	10
Panther et al.	2004	EUA	Transversal	NI	NI	HSH HIV+ e -	153	33	57	63
Phanuphak et al.	2013	Tailândia, Austrália e EUA	Coorte	28 (23-33)	14.0	HSH HIV+ e -	131	21	110	32
de Ruiter et al.	1994	EUA	Transversal	NI	NI	HSH HIV+ e -	154	31	123	22
Sahasrabuddhe et al.	2013	EUA	Transversal	53 (26-76)	NI	HSH HIV+	342	139	238	104
Salit et al.	2010	Canadá	Transversal	44.4 (39-50)	NI	HSH HIV+	401	129	272	98
Sendagorta et al.	2015	Espanha	Transversal	42 (33-50)	NI	HSH HIV+	101	44	57	47
Swedish et al.	2011	EUA	Transversal	42.9 (20-79)		HSH HIV+ e -	403	103	300	193
Varnai et al.	2006	Alemanha	Transversal	63. (31-86)	NI	Não específico	33	8	NI	25

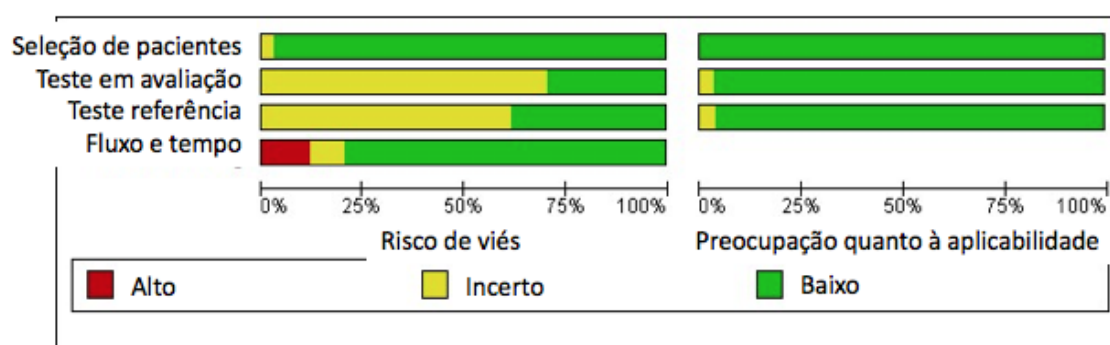
						Banco de dados				
Walts et al.	2006	EUA	Transversal	45.6 (19-72)	NI	Não específico Banco de dados	78	37	67	41
Wentzensen et al.	2012	EUA	Transversal	53 (26-79)	NI	HSH HIV+	274	78	196	78
Willeford et al.	2016	EUA e África do Sul	Transversal	38 (33-44)	2.5	Mulheres HIV+	149	60	89	17

Legenda: RU: Reino Unido; EUA: Estados Unidos da América; NI: Não informado; HIV: Human Immunodeficiency Virus; HSH: Homens que fazem sexo com homens; HPV: Human Papillomavirus.

4.3 AVALIAÇÃO DE QUALIDADE

O QUADAS-2 foi aplicado considerando as seguintes categorias. (1) Seleção de pacientes: houve “baixa preocupação” em relação à seleção dos participantes. (2 e 3) Teste em avaliação e padrão de referência: a maioria dos estudos não mencionou o cegamento dos patologistas e foram classificados como “pouco claros”. Por outro lado, todos eles tiveram testes histopatológicos como referência e os testes do índice foram claramente citados; portanto, a “preocupação” com esses itens foi baixa. (4) Fluxo e tempo: seis estudos não citaram o intervalo entre os testes indexados e referenciados (Cranston et al., 2004; Fox et al., 2005; Lampinen et al., 2006; Cardinal et al., 2014; Maia et al., 2014; Dietrich et al., 2015) e um foi claramente inadequado (Baranoski et al., 2012). Em estudos de coorte, considerou-se os resultados da linha de base sempre que possível. Quatro estudos (Fox et al., 2005; Darragh et al., 2013; Dietrich et al., 2015; Gandra et al., 2015) realizaram verificação parcial do teste de referência e os resultados da biópsia não estavam disponíveis para todos os sujeitos. Nestas quatro situações, considerou-se o risco de viés ser alto; no entanto, estes representaram apenas 11,7% da amostra total. O resumo é mostrado na Figura 2.

Figura 3 - Avaliação qualitativa dos estudos – QUADAS 2



Legenda: Elaborado pelo autor no RevMan 5.3

4.4 ACURÁCIA DA CITOLOGIA ANAL

A Tabela 2 mostra a precisão (sensibilidade, especificidade, AUC, DOR) da citologia anal para a detecção de NIAs ou câncer em quatro grupos diferentes. Os gráficos em floresta e HSROC desenvolvidas utilizando o desfecho AIN2 + vs. AIN1,

em todos os indivíduos estão expostos nas Figuras 3, 4 e 5. Os resultados mostraram que a citologia tem uma sensibilidade combinada de 85,0% (IC 95% 82,0-87,0) e uma especificidade combinada de 43,2% (IC 95% 41,4-45,1) para a detecção de NIA 2 ou pior (NIA 2 +) versus NIA 1 e normal (NIA 1-). A AUC foi de 0,72 (IC 95%), indicando que a citologia é um teste “regular”. A acurácia deste teste foi superior nos subgrupos de HSH-HIV soropositivos e HSH independente do estado sorológico, com AUC de 0,83 (IC 95% 0,70-0,96) e 0,92 (IC 95% 0,80-1,00), respectivamente, para a detecção de NIA2+ vs. NIA1-.

Tabela 2 - Acurácia da citologia anal para detecção de Neoplasia Intraepitelial Anal ou câncer.

Desfechos	NIA2+ vs. normal*	NIA2+ vs. NIA1-	NIA1+ vs. normal
PACIENTES EM ANÁLISE	% (IC95%)	% (IC95%)	% (IC95%)
TODOS			
sensibilidade	85,5 (83,3-87,6)	85,0 (82,0-87,0)	79,1 (77,5-80,6)
especificidade	51,5 (48,8-54,2)	43,2 (41,4-45,1)	53,3 (50,8-55,8)
DOR	5,49 (4,03-7,49)	3,41 (2,36-4,90)	3,68 (2,70-5,01)
AUC	0,79 (0,74–0,84)	0,72 (0,63-0,81)	0,73 (0,69–0,79)
HSH HIV+			
sensibilidade	86,5 (83,0-89,5)	85,4 (81,8-88,5)	79,9 (77,4-82,3)
especificidade	49,4 (45,2-53,6)	37,7 (34,9-40,6)	49,4 (45,3-53,5)
DOR	6,35 (3,98-10,12)	3,56 (2,58-4,92)	4,39 (2,81-6,85)
AUC	0,87 (0,77-0,97)	0,83 (0,70-0,96)	0,80 (0,70-0,91)
HSH			
sensibilidade	90,8 (87,7-93,4)	90,8 (87,7-93,4)	85,7 (83,4-87,7)
especificidade	28,6 (24,2-33,4)	35,5 (3,22-38,8)	38,0 (33,8-42,4)
DOR	3,80 (2,26-6,39)	6,78 (2,14-21,43)	3,06 (1,69-5,54)
AUC	0,49 (0,15-0,83)	0,92 (0,80-1,00)	0,81 (0,67-0,94)
HIV+			
sensibilidade	88,2 (81,3-93,2)	87,4 (80,8-92,4)	78,4 (73,8-82,5)
especificidade	45,3 (39,0-51,8)	35,4 (31,3-39,8)	45,3 (39,0-51,8)
DOR	4,96 (2,40-10,27)	2,36 (1,20-4,63)	2,16 (1,03-4,54)
AUC	0,79 (0,68-0,90)	0,71 (0,58-0,85)	0,65 (0,58-0,85)

Legenda: estudos incluídos em cada análise:

(1) Citologia anal, amostra: todos os indivíduos.

(i) NIA2+ vs. normal: 25 estudos: Arain et al., 2005; Bean et al., 2010; Berry et al., 2009; Betancourt et al., 2013; Cardinal et al., 2014; Cranston et al., 2004; Diaz et al., 2017; Dietrich et al., 2015; D'Souza et al., 2016; Etienney et al., 2012; Friedlander et al., 2003; Gandra et al., 2015; Lacey et al., 1999; Lampinen et al., 2006; Maia et al., 2014; Nahas et al., 2009; Palefsky et al., 1998; Panther et al., 2014;

Phanuphak et al., 2013; de Ruiter et al., 1994; Salit et al., 2010; Sendagorta et al., 2015; Swedish et al., 2011; Wentzensen et al., 2012; Willeford et al., 2016.

(ii) NIA 2+ vs. NIA 1-: 25 estudos: Arain et al., 2005; Baranoski et al., 2012; Bean et al., 2010; Berry et al., 2009; Betancourt et al., 2013; Cranston et al., 2004; Diaz et al., 2017; Dietrich et al., 2015; D'Souza et al., 2016; Etienney et al., 2012; Friedlander et al., 2003; Lacey et al., 1999; Lampinen et al., 2006; Maia et al., 2014; Nahas et al., 2009; Mavrogianni et al., 2011; Palefsky et al., 1998; Panther et al., 2014; Phanuphak et al., 2013; de Ruiter et al., 1994; Salit et al., 2010; Sendagorta et al., 2015; Swedish et al., 2011; Wentzensen et al., 2012; Willeford et al., 2016.

(iii) NIA 1+ vs. normal: 27 estudos: Arain et al., 2005; Bean et al., 2010; Berry et al., 2009; Betancourt et al., 2013; Cardinal et al., 2014; Chin-Hong et al., 2008; Cranston et al., 2004; Diaz et al., 2017; Dietrich et al., 2015; D'Souza et al., 2016; Etienney et al., 2012; Fox et al., 2005; Friedlander et al., 2003; Lacey et al., 1999; Lampinen et al., 2006; Maia et al., 2014; Nahas et al., 2009; Mavrogianni et al., 2011; Palefsky et al., 1998; Panther et al., 2014; Phanuphak et al., 2013; de Ruiter et al., 1994; Salit et al., 2010; Sendagorta et al., 2015; Swedish et al., 2011; Wentzensen et al., 2012; Willeford et al., 2016.

(2) Citologia anal, amostra: HSH HIV+

(i) NIA2+ vs. normal: 9 estudos: Berry et al., 2009; Diaz et al., 2017; Dietrich et al., 2015; Lacey et al., 1999; Palefsky et al., 1998; Salit et al., 2010; Sendagorta et al., 2015; Swedish et al., 2011; Wentzensen et al., 2012.

(ii) NIA 2+ vs. NIA 1-: 9 estudos: Berry et al., 2009; Diaz et al., 2017; Dietrich et al., 2015; Gandra et al., 2015; Lacey et al., 1999; Salit et al., 2010; Sendagorta et al., 2015; Swedish et al., 2011; Wentzensen et al., 2012.

(iii) NIA 1+ vs. normal: 10 estudos: Berry et al., 2009; Chin-Hong et al., 2008; Diaz et al., 2017; Dietrich et al., 2015; Lacey et al., 1999; Palefsky et al., 1998; Salit et al., 2010; Sendagorta et al., 2015; Swedish et al., 2011; Wentzensen et al., 2012.

(3) Citologia anal, amostra: todos os HSH

(i) NIA 2+ vs. normal: 5 estudos: D'Souza et al., 2016; Lampinen et al., 2006; Panther et al., 2014; de Ruiter et al., 1994; Swedish et al., 2011.

(ii) NIA 2+ vs. NIA 1-: 5 estudos: D'Souza et al., 2016; Lampinen et al., 2006; Panther et al., 2014; de Ruiter et al., 1994; Swedish et al., 2011.

(iii) NIA 1+ vs. normal: 7 estudos: Chin-Hong et al., 2008; D'Souza et al., 2016; Fox et al., 2005; Lampinen et al., 2006; Panther et al., 2014; de Ruiter et al., 1994; Swedish et al., 2011.

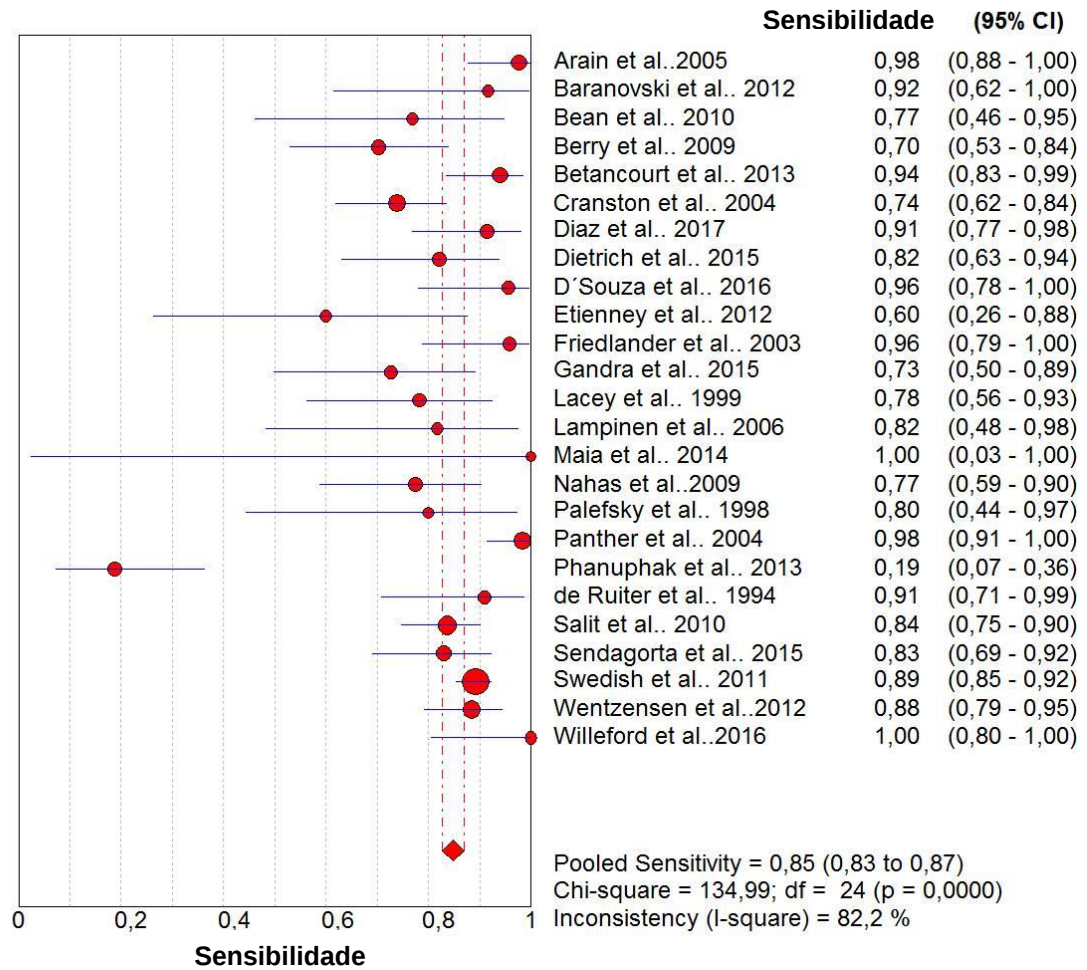
(4) Citologia anal, amostra: todos os HIV+

(i) NIA 2+ vs. normal: 5 estudos: Betancourt et al., 2013; Dietrich et al., 2015; Maia et al., 2014; Nahas et al., 2009; Willeford et al., 2016.

(ii) NIA 2+ vs. NIA 1- : 7 estudos: Baranoski et al., 2012; Betancourt et al., 2013; Dietrich et al., 2015; Gandra et al., 2015; Maia et al., 2014; Nahas et al., 2009; Willeford et al., 2016.

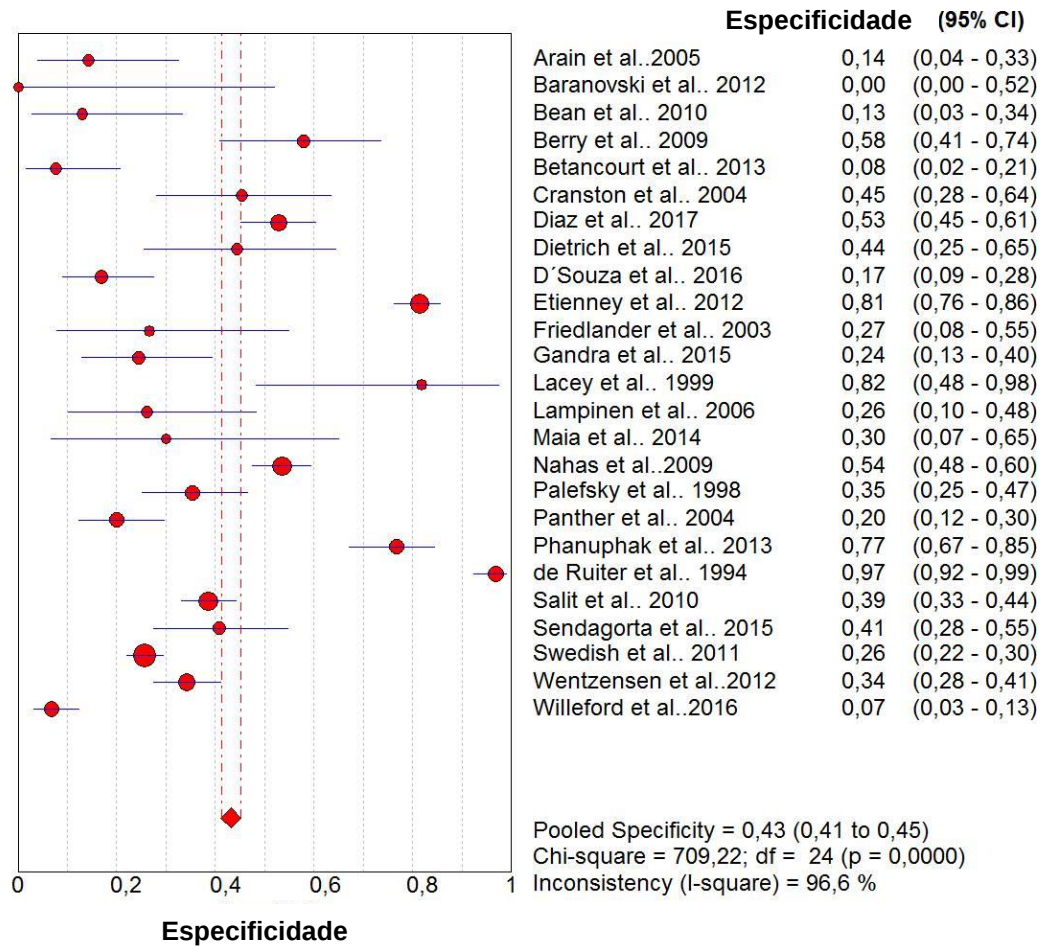
(iii) NIA 1+ vs. normal: 5 estudos: Betancourt et al., 2013; Dietrich et al., 2015; Maia et al., 2014; Nahas et al., 2009; Willeford et al., 2016.

Figura 4 - Acurácia da citologia anal: Gráfico em floresta da sensibilidade agrupada utilizando o desfecho AIN2+ vs. AIN1, amostra: todos os indivíduos.



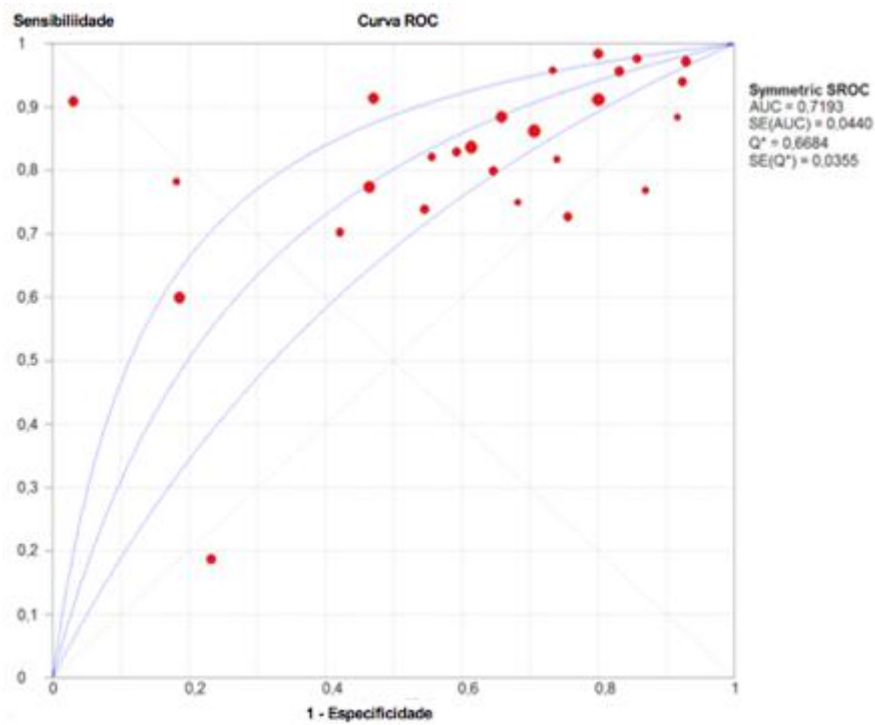
Legenda: Elaborado pelo autor no Metadisc®

Figura 5 - Acurácia da citologia anal: Gráfico em floresta da especificidade agrupada utilizando o desfecho AIN2+ vs. AIN1-, amostra: todos os indivíduos.



Legenda: Elaborado pelo autor no Metadisc®

Figura 6 - Acurácia da citologia anal: Curva SROC desenvolvida utilizando o desfecho AIN2 + vs. AIN1-, amostra: todos os indivíduos.



Legenda: HSROC: *hierarchical summary receiver-operator curve*/ curva hierárquica sumária de operador-receptor; AUC: *area under the curve*/ área sob a curva; SE (AUC): *Standard Error (AUC)*/ erro padrão AUC; SE (Q*): *Standard Error (Q*)*/ erro padrão Q* Elaborado pelo autor no Metadisc®

4.5 ACURÁCIA DO DNA HPV

A Tabela 3 mostra acurácia dos biomarcadores DNA HPV, RNAm HPV e p16 para detecção de NIA2+ vs. NIA1-. Este e os demais desfechos são apresentados a seguir.

Na amostra “todos os indivíduos”, os resultados estão expostos a seguir, separados por pontos de corte. (i) NIA2+ vs. normal: 3 estudos (Etienney et al., 2012; Wentzensen et al., 2012; Sahasrabuddhe et al., 2013) apresentaram sensibilidade agrupada de 97,3% (IC95% 94,2-99,0) e especificidade combinada de 61,9% (95% CI 57,7-66,0). DOR foi de 30,96 (IC 95% 7,58 -126,3) e AUC foi 0,90 (IC 95% 0,67-1,00) (ii) NIA2+ vs. NIA1-, 6 estudos (Varnai et al., 2006; Baranoski et al., 2012; Wentzensen et al., 2012; Sahasrabuddhe et al., 2013; Sendagorta et al., 2015; Willeford et al., 2016) mostraram uma sensibilidade agrupada de 93,6% (IC95% 90,3-96,1) e especificidade combinada de 40,1% (IC95% 36,6-43,7), DOR foi 11,23 (IC 95% 4,36-28,93) e AUC foi 0,76 (IC 95% 0,64 - 0, 89); (iii) NIA1+ vs. normal: 5 estudos (Salit et al., 2010; Mavrogianni et al., 2011; Etienney et al., 2012; Wentzensen et al., 2012; Sahasrabuddhe et al., 2013) apresentaram sensibilidade agrupada de 86,5% (IC95% 83,5-89,1) e especificidade agrupada de 45,8% (IC95% 42,4-49,2). O DOR foi de 6,24 (IC 95% 3,76-10,37) e a AUC foi de 0,75 (IC 95% 0,66-0,84).

Na amostra “HSH HIV+”, obteve-se os seguintes resultados: (i) NIA2 + vs. normal: 2 estudos (Wentzensen et al., 2012; Sahasrabuddhe et al., 2013) apresentaram sensibilidade agrupada de 97,7% (IC95% 94,6-99,2) e especificidade combinada de 40,9% (IC95% 35,2 -46,9). DOR foi 33,87 (IC 95% 2,74-417,8) e não foi possível calcular AUC. (ii) NIA2+ vs. NIA1-: 3 estudos (Wentzensen et al., 2012; Sahasrabuddhe et al., 2013; Sendagorta et al., 2015) apresentaram sensibilidade agrupada de 98,1% (IC 95% 95,6-99,4) e especificidade agrupada de 31,5% (IC95% 27,7-35,6). DOR foi 22,37 (95 % IC 4,55-109,8) e AUC foi 0,34 (95% IC 0,00-0,98), (iii) NIA1+ vs. normal: 3 estudos (Salit et al., 2010; Wentzensen et al., 2012; Sahasrabuddhe et al., 2013) apresentaram sensibilidade agrupada de 91,8% (IC95% 89,1-94,0) e a especificidade combinada foi de 28,0% (IC 95% 24,4-31,8), o DOR foi de 6,76 (IC95% 3,66-12,50) e a AUC foi de 0,59 (IC 95% 0,34-0,84).

Na amostra “Homens e Mulheres HIV+” foi possível somente analisar o desfecho NIA2+ vs. NIA1-. Dois estudos (Baranoski et al., 2012 e Willeford et al., 2016) mostraram sensibilidade agrupada de 72,4% (IC 95% 52,8-87,3) e especificidade

combinada de 62,2% (IC 95% 54,9-69,2). DOR foi de 4,71 (IC 95% 1,69-13,08) e não foi possível calcular a AUC.

Para a amostra “HSH”, não houve estudos disponíveis.

4.6 ACURÁCIA DO mRNA HPV

Na amostra “todos os indivíduos”, os resultados estão expostos a seguir, separados por pontos de corte. (i) NIA2+ vs. normal e (iii) NIA1 + vs. normal: houve apenas um estudo (Wentzensen et al., 2012) (ii) NIA2+ vs. NIA1- : houve 2 estudos incluídos (Wentzensen et al., 2012; Sendagorta et al., 2015) que mostraram sensibilidade agrupada de 77,6% (95% CI 70.2-84.0) e especificidade agrupada de 62,8% (IC 95% 57,0-68,3). DOR foi de 5,13 (IC 95% 2,27-11,56) e não foi possível calcular AUC.

Na amostra “HSH HIV+”, somente foi possível analisar um desfecho: (i) NIA2 + vs. NIA1-. Dois estudos (Wentzensen et al., 2012; Sendagorta et al., 2015) foram incluídos e apresentaram sensibilidade agrupada de 97,7% (IC95% 94,6-99,2) e especificidade combinada de 40,9% (IC95% 35,2 -46,9). DOR foi 33,87 (IC 95% 2,74-417,8) e não foi possível calcular AUC.

Não houve estudo especificamente com o subgrupo “Homens e Mulheres HIV+” e “HSH”.

4.7 ACURÁCIA DO p16 / Ki-67

Na amostra “todos os indivíduos”, foi possível abstrair dados em todos os três pontos de corte dos mesmos 2 estudos: Walts et al., 2006 e Wentzensen et al., 2012 (i) NIA2+ vs. normal: sensibilidade agrupada de 80,4% (IC95% 73,1-86,5) e especificidade agrupada de 66,5% (95% IC 58,8-73,5, DOR foi 26,19 (95% IC 0,79-864,24), (ii) AIN2+ vs. NIA 1-: sensibilidade combinada de 80,4% (IC 95% 73,1-86,5) e especificidade combinada de 56,6 % (IC95% 50,7-62,4. DOR foi 14,54 (IC95% 0,71-295,83); (iii) NIA1+ vs. normal: sensibilidade combinada de 75,6% (IC 95% 69,9-80,6) e especificidade combinada de 66,5% (IC 95% 58,8-73,5. DOR foi 13,26 (IC 95% 1,96-89,52). Não foi possível calcular a AUC.

Não foi possível fazer análise de subgrupos.

Tabela 3 - Acurácia dos testes DNA HPV, RNAm HPV e P16 para detecção de NIA2 + vs. NIA1.

Testes	DNA HPV % (IC)	RNAm HPV % (IC)	P16 / Ki-67 % (IC)
TODOS			
sensibilidade	93,6 (90,3-96,1)	77,6 (70,2-84,0)	80,4 (73,1-86,5)
especificidade	40,1 (36,6-43,7)	62,8 (57,0-68,3)	56,6 (50,7-62,4)
DOR	11,23 (4,36-28,93)	5,13 (2,27-11,56)	14,54 (0,71-295,83)
AUC	0.76 (0,64 – 0,89)	*	*
VP	293	118	119
FP	442	109	125
FN	20	34	29
VN	296	184	163
HSH HIV+			
sensibilidade	98,1 (95,6-99,4)	77,6 (70,2-84,0)	**
especificidade	31,5 (27,7-35,6)	62,8 (57,0-68,3)	
DOR	22.37 (4.55-109,84)	5.13 (2.27-11,56)	
AUC	0.34 (0.00-0,98)	*	
VP	254	118	
FP	371	109	
FN	5	34	
VN	171	184	
Todos HIV+			
sensibilidade	72,4 (52,8-87,3)	**	**
especificidade	62,2 (54,9-69,2)		
DOR	4,71 (1,69-13,08)		
AUC	*		
VP	21		
FP	71		
FN	8		
VN	117		

Legenda: * AUC não foi estimada quando havia apenas dois estudos em análise. ** Um ou nenhum estudo com este teste. Não há estudos com "todos os HSH" com outros testes, exceto citologia.

5 DISCUSSÃO

O objetivo deste estudo foi avaliar a acurácia da citologia para identificar a Neoplasia Intraepitelial Anal (NIA) e o câncer anal, doença com alta morbidade e alta prevalência em grupos específicos, por meio de uma revisão sistemática.

Nos resultados do presente estudo, podemos identificar que a citologia anal apresenta uma boa sensibilidade, 85%, 90,8% e 85,4%, e especificidade limitada, 43,2%, 35,5% e 37,7%, respectivamente para os grupos “todos os indivíduos”, “todos os HSH” e “HSH HIV+”, considerando o ponto de corte NIA1- vs. NIA2+. A área sob a curva (AUC) pode ser considerada entre “razoável” e “boa”, segundo o critério de Jones e Athanasiou supracitado, pois os valores encontrados para aqueles grupos foram 0,72, 0,92 e 0,83, respectivamente (Jones e Athanasiou, 2005). Como é possível observar nos dados agora citados, o desempenho global do teste mostrou-se superior nos grupos “todos os HSH” e “HSH HIV+”; e semelhante à amostra maior para o grupo “todos os HIV+”, com sensibilidade de 87,4%, especificidade de 35,4% e AUC 0,71, para o mesmo ponto de corte. Na maior parte das análises, o desfecho normal vs. NIA2+ mostrou maior poder discriminatório, comparado à NIA1- vs. NIA2+, tanto quanto a DOR quanto AUC. Este fato decorre da exclusão dos casos de histopatológico NIA1 da análise, nos quais há infecção pelo HPV mas a lesão não pode ser considerada verdadeira precursora do câncer de canal anal.

Na análise dos biomarcadores, os testes de DNA HPV agrupados puderam ser analisados de modos mais completo, comparados aos demais testes, devido ao maior número de estudos incluídos. Como esperado, baseando-se em resultados robustos obtidos com a aplicação para câncer de colo do útero (Arbyn et al., 2012, Arbyn et al., 2013), o teste de DNA HPV mostrou altíssima sensibilidade, 93,6% e 98,1%, com baixa especificidade, 40,1% e 31,5%, para os grupos “todos os indivíduos” e “HSH HIV+”, respectivamente, desfecho NIA1- vs. NIA2+. Este teste obteve desempenho de DOR muito superior ao da citologia. Não foi possível a análise do grupo “todos os HSH” para os biomarcadores devido à carência de estudos. Seguindo a mesma limitação, os resultados do grupo “todos os HIV+”, teste DNA HPV, estão discrepantes dos demais grupos analisados, provavelmente pelo reduzido número de estudos incluídos, apenas dois (Baranoski et al., 2012 e Willeford et al., 2016).

Ainda convergindo com resultados apontados em estudos pregressos deste teste com esfregaço de colo uterino (Arbyn et al., 2012, Macedo et al., 2018), o teste RNAm HPV obteve bom desempenho quanto à sensibilidade e especificidade, sendo o melhor desempenho quanto a especificidade dentre os testes do presente estudo, 62,8% em pacientes “HSH HIV+”, desfecho NIA1- vs. NIA2. Este resultado, somado ao conhecimento prévio sobre o teste, sugere a utilização do mesmo como parte de um esquema de rastreamento conjunto com a citologia anal ou DNA HPV, que obtiveram maior sensibilidade, neste subgrupo de pacientes.

Por fim, os resultados obtidos com os estudos que analisaram a coloração do p16/ Ki67 foram possíveis somente no grupo “todos os indivíduos”. Identificou-se um bom desempenho, sendo a maior DOR para este grupo, 14,54, comparado aos demais testes, desfecho NIA1- vs. NIA2.

O rastreio pode ser apontado como o fator fundamental para diminuir a incidência e morbidade do câncer, além das campanhas para estimular o sexo seguro e a vacinação (Moscicki et al., 2015). O presente estudo mostrou que a citologia anal apresenta um bom desempenho quanto a sensibilidade, característica fundamental para um exame de triagem, mas sua especificidade mostrou-se limitada. O resultado parece paradoxal, se for comparado com a citologia cervical, que tem como perfil apresentar alta especificidade e sensibilidade moderada (Arbyn et al., 2012). No entanto, revisão narrativa anterior sobre citologia anal já havia identificado que a sensibilidade da citologia anal varia de 69% a 93% e a especificidade entre 32% e 59%, em consonância com os presentes resultados (Leeds e Fang, 2016). Estudos sobre concordância entre examinadores em citologia anal demonstraram que esta poderia ser uma justificativa para esta limitação. Em uma coorte de 363 HSH infectados pelo HIV submetidos a testes de citologia em base líquida, a concordância geral entre dois observadores foi de 66% (kappa: 0,54) (Darragh et al., 2013). A discordância poderia ser explicada por diferenças no tamanho da lesão, dispositivos de coleta e principalmente, treinamento de citopatologistas. Esta revisão é pioneira na definição da precisão dos métodos de rastreamento do câncer anal. Antes disso, Chiao e colaboradores, em 2006, realizaram uma revisão sistemática descritiva em relação à triagem de NIA em indivíduos infectados pelo HIV e concluíram que a utilidade da citologia anal é limitada pela baixa evidência disponível (Chiao et al., 2006). Em estudos anteriores, a sensibilidade de um único teste de citologia anal para detecção de HSIL histológica (NIA 2 ou 3) varia de 55-93% e especificidade de 32-

81% (Chiao et al., 2006 e Darragh et al., 2011). Muitos estudos encontraram baixa correlação entre grau do laudo de citologia e grau diagnosticado em biópsia subsequente (Arain et al., 2005; Betancourt et al., 2013; Berry et al., 2009; Palefsky et al., 1998; Swedish et al., 2011). Por essas razões, as recomendações de triagem citológica anal enfatizam a necessidade de repetição do teste de citologia em intervalos regulares, encaminhamento para Anuscopia com Magnificação de Imagem se citologia ASC-US+ (com qualquer alteração) e repetição de Anuscopia com Magnificação de Imagem quando uma citologia de HSIL não puder ser confirmada histologicamente inicialmente (Santoso et al., 2010).

A Anuscopia com Magnificação de Imagem é ferramenta importante no rastreamento do câncer anal, uma vez que permite a visualização direta da lesão, bem como a biópsia. No entanto, não foi possível analisar a acurácia da Anuscopia com Magnificação de Imagem porque poucos estudos realizaram biópsia na ausência de áreas suspeitas de displasia, o que impossibilitou a extração de casos de falso negativo (Gandra et al., 2015; de Ruitter et al., 1994; Salit et al., 2010). Como a Anuscopia com Magnificação de Imagem exige altos padrões de treinamento, pode ter sensibilidade limitada na triagem primária, além de ser desconfortável para o paciente. Nesse contexto, testes com melhor sensibilidade, como a citologia anal, detecção de DNA HPV e coloração de p16 / Ki-67 podem ser opções alternativas, deixando a Anuscopia com Magnificação de Imagem e a biópsia para triagem secundária (Scholefield et al., 2005). O estudo de Santoso (2010) incluiu a realização de Anuscopia com Magnificação de Imagem, com biópsia se indicado, além da citologia anal, nas mulheres com patologia de Trato Genital Inferior (PTGI - lesão por HPV em colo, vagina ou vulva). De 78 em 205 mulheres (38%) com achados anormais na Anuscopia com Magnificação de Imagem, 25 pacientes (12,2%, 95% CI 8-17%) tiveram NIA em biópsia, incluindo 17 (8%) que foram NIA2+. Metade dos pacientes com NIA apresentou citologia normal. Eles concluíram que a Anuscopia com Magnificação de Imagem é uma ferramenta de triagem mais precisa do que a citologia para NIA entre populações de alto risco, como mulheres com PTGI.

Os estudos que analisaram biomarcadores foram minoria nesta revisão sistemática, houve ao total nove para DNA HPV, dois para mRNA e dois para p16 / Ki-67. Isso poderia limitar as conclusões sobre suas acurácias, mas, apesar disso, é esta também a revisão mais ampla conhecida em relação a esses biomarcadores. A sensibilidade combinada de DNA hrHPV é de 93,6% (IC 95% 90,3-96,1) e

especificidade combinada de 40,1% (IC 95% 36,6-43,7) para detecção de NIA 2 ou pior versus NIA1 ou normal, incluindo todos os indivíduos. Ao considerar apenas o HSH HIV+, para o DNA hrHPV, há uma melhora da sensibilidade: 98,1% (IC 95% 95,6-99,4), com perda de especificidade, 31,5% (IC95% 27,7-35,6). Para RNAm HPV, os mesmos dois estudos foram incluídos, e não foi possível analisar p16 / Ki-67 para subgrupos.

Outra ferramenta já estudada é a genotipagem. Em estudos prospectivos recentes, a genotipagem do HPV no esfregaço do canal anal teve sensibilidade de mais de 90% em HSH infectados e não infectados pelo HIV quando todos os HPV de alto risco foram considerados. No entanto, especificidade foi muito baixa (25%) devido à alta prevalência de múltiplas infecções por HPV de alto risco nesta população. (Burgos et al., 2017) Para aumentar a especificidade da genotipagem do HPV, alguns autores propuseram restringir o encaminhamento para Anuscopia com Magnificação de Imagem para pacientes com HPV16 positivo, com base no alto envolvimento deste genótipo em lesões de alto grau e câncer escamoso de canal anal. (Sahasrabuddhe et al., 2013, Wilkin et al., 2013) Estudo francês com 212 indivíduos HSH HIV+, que foram submetidos simultaneamente a toque anorretal, seguido de anuscopia padrão, coleta de esfregaço para citologia e para investigação de genotipagem do HPV16, analisou a eficácia das técnicas associadas e isoladas. A prevalência de lesão de alto grau (NIA2 ou NIA3) nesta população foi de 12,7%, identificados pela associação dos três métodos. Pernot e colaboradores, 2018, concluíram que as estratégias citologia associada à anuscopia padrão e citologia associada à genotipagem do HPV16 tiveram acurácia semelhante (cerca de 11%), com OR 0,87 (IC 95% 0,46-1,64) e OR 0,83 (IC 95% 0,44-1,57) respectivamente.

Por fim, o exame digital anorectal (exame de toque), realizado pelo médico, tem sido considerado na literatura como uma ferramenta essencial para detectar câncer anal, já que a maioria dos carcinomas anais invasivos precoces podem ser palpáveis. Foi recomendado, no mínimo, realizar um exame digital em indivíduos de alto risco, pois é um procedimento de baixo custo e baixa tecnologia (Darragh et al., 2011). Este exame é especialmente importante em cenários nos quais há pacientes que estão em risco de câncer anal, mas que não têm acesso a médicos treinados em Anuscopia com Magnificação de Imagem (Palefsky, 2015).

A relação custo-eficácia da triagem não está bem estabelecida e nenhum estudo prospectivo de coorte foi ainda publicado sobre este tópico, esta é a razão

primária para que ainda não tenham sido definidas as diretrizes de rastreio (Palefsky, 2015). Nesta era de medicina baseada em evidências, evidência da eficácia da triagem para reduzir a incidência de câncer anal é necessária. Estudos utilizando um modelo de decisão analítico com pacientes infectados pelo HIV sugerem que a Anuscopia com Magnificação de Imagem na triagem primária, realizada bienalmente, pode ser custo-efetiva (Lam et al., 2011; Lazenby et al., 2012). A alta prevalência de infecção anal por HPV e baixa incidência de NIA e câncer anal em mulheres saudáveis, juntamente com o caráter aparentemente transitório da infecção anal por HPV, indicam que o rastreamento para NIA2+ é improvável que seja uma estratégia custo-efetiva para prevenir câncer entre uma população de mulheres saudáveis sem fatores de risco adicionais (Moscicki et al., 2015).

Embora a citologia anal seja imperfeita com desempenho variável, como visto na citologia cervical, acredita-se que a triagem com citologia pode ser eficaz na prevenção do câncer anal se os precursores forem detectados e tratados precocemente. Para que esta pergunta seja respondida, um estudo para adquirir os dados necessários foi iniciado em 2015. Conhecido como estudo ANCHOR (ANAL Cancer / HSIL Outcomes Research) (www.ANCHORstudy.org), este pretende randomizar mais de 5.000 pessoas homens e mulheres com HSIL anal em histopatológico para tratamento versus observação atenta por 5 anos ou mais. Se o estudo demonstrar que o tratamento com HSIL leva a uma redução na incidência de câncer anal, então espera-se que o rastreio e tratamento da HSIL anal deva se tornar o padrão de atendimento para homens e mulheres infectados pelo HIV. Espera-se também que quaisquer diretrizes que recomendem triagem e tratamento de HSIL que a partir deste estudo seja estendido a populações HIV-negativas, porque a eficácia do tratamento com HSIL deve ser tão boa ou melhor em indivíduos imunocompetentes (Palefsky, 2015). Este estudo deverá também, além de sedimentar as diretrizes de rastreio, ajudar a definir as diretrizes para o tratamento de lesões precursoras, o que deverá contribuir com a diminuição na incidência do câncer em si. Embora possa parecer evidente que as abordagens de prevenção do câncer anal vão ter o mesmo sucesso que as para o colo do útero, existem alguns desafios especiais no tratamento da HSIL anal. Indivíduos da população em maior risco muitas vezes têm lesões grandes e multifocais, dificultando a depuração total. A taxa de sucesso de tratamento para uma lesão individual é de aproximadamente 70% usando a maioria das abordagens, e o retratamento é frequentemente necessário (Palefsky, 2013).

Mais pesquisas são necessárias para determinar se o rastreamento de mulheres saudáveis reduziria o risco de câncer anal, já que esse grupo de mulheres saudáveis é o maior percentual de mulheres que desenvolvem câncer anal. Os dados mais convincentes para o rastreio do câncer de canal anal usando citologia hoje estão entre as mulheres com história de doença em Trato Genital Inferior, homens que fazem sexo com homens e homens e mulheres com infecção por HIV, como demonstrado acima. A idade ideal para começar a triagem não é conhecida; no entanto, raramente o câncer de canal anal ocorre com menos de 30 anos, mesmo em pessoas infectadas pelo HIV. Para aqueles com infecção pelo HIV, o rastreamento antes dos 30 anos de idade não é recomendado. Para mulheres com câncer de vulva ou VIN de alto grau, a triagem imediata é recomendada. Para mulheres com câncer cervical ou vaginal ou lesões precursoras de alto grau, sugere-se triagem com citologia ou exame digital e revisão de sintomas dentro de 5 anos do diagnóstico inicial. Não há dados de estudos prévios para definir os intervalos. Alguns especialistas sugerem anual ou bianual (Moscicki et al., 2015; Palefsky, 2015).

Em 2018, simultaneamente à publicação do artigo derivado desta tese, Clarke e colaboradores publicaram uma revisão na qual os autores discutiram a história natural da doença e realizaram uma revisão sistemática e meta-análise do desempenho da citologia anal, teste de DNA hrHPV e vários biomarcadores para a detecção de precursores e câncer anal. Esta revisão pontuou que infecções por HPV atingem o pico por volta dos 20 anos, logo após o início da atividade sexual e que lesões precursoras em colo do útero tem pico cerca de 10 anos depois. O ápice da prevalência de câncer invasivo na população ocorre cerca de 30 anos após o pico inicial da infecção, aproximadamente entre 35 e 55 anos de idade em populações não rastreadas. (Schiffman et al., 2010) Em contraste, as prevalências de HPV em HSH e em pacientes HSH HIV positivo é alta na maioria dos grupos etários. Seguindo a mesma tendência, lesões precursoras não têm um pico etário característico e o pico de diagnóstico de câncer anal é aproximadamente entre 45 e 64 anos. (Chin-Hong et al., 2008) Estas diferenças de padrões de história natural do HPV cervical e anal podem refletir fatores biológicos (por exemplo, controle imunológico menos efetivo, particularmente entre HSH HIV-positivos) e fatores comportamentais (por exemplo, altos níveis de aquisição em grupos de idade mais avançada e menos triagem e remoção de precursores anteriores). Na revisão sistemática, foram incluídos 14 estudos, sete em comum com a presente revisão. Para citologia anal, utilizando como

pontos de corte, como a presente revisão, ASCUS+ para citologia positiva e NIA2+ para histopatológico positivo, sensibilidade agrupada identificada foi de 77,3% (IC95% 64,9- 86,3) e especificidade de 55,5% (IC95% 45,5-65,2), algo discrepante de nossos resultados, com sensibilidade de 85,0% (IC95% 82,0-87,0) e especificidade de 43,2% (IC95% 41,4-45,1). Na análise dos testes de DNA HPV de alto risco, identificaram sensibilidade de 91,3% (IC95% 78,9-96,7) e especificidade 33,1% (IC95% 22,2-46,3), semelhante ao nosso resultado, de 93,6% (IC95% 90,3-96,1) e 40,1% (IC95% 36,6-43,7), respectivamente. Entre os estudos que foram restritos aos HSH HIV+, a sensibilidade foi de 95,4% (IC95% 84,6-98,7) e especificidade 23,8% (IC95% 16,3-33,4), e no presente estudo de 98,1% (IC95% 95,6-99,4) e 31,5% (IC95% 27,7-35,6), respectivamente. Quanto aos testes de RNAm E6/E7, a sensibilidade foi de 74,3% (IC 95% 68,3 -79,6) e especificidade de 65,5% (IC95% 58,5-71,9), muito semelhante ao nosso resultado, de 77,6% (IC95% 70,2-84,0) e 62,8% (IC95% 57,0-68,3), respectivamente. Para a coloração p16/ Ki67, a sensibilidade foi de 56,6% (IC95% 27,9-81,5) e especificidade 62,3% (IC95% 47,8-74,9), diversa da nossa, de 80,4% (IC95% 73,1-86,5) e 56,6% (IC95% 50,7-62,4), respectivamente. Outro biomarcador analisado pela revisão foi a genotipagem HPV 16/18, com sensibilidade e especificidade de 39,9% (95%IC 22,4-60,5) e 74,3% (IC95% 67,3-80,1). A análise matemática associando dois testes identificou que a utilização da citologia associada ao RNAm E6/E7 teve sensibilidade de 58% e especificidade de 85%, obtendo a menor taxa de referência para anuscopia com magnificação de imagem. (Clarke et al., 2018)

Altos níveis de heterogeneidade na sensibilidade e especificidade foram observados entre os estudos incluídos. A heterogeneidade pode ser explicada por diferentes métodos de detecção, diferentes desenhos de estudo, baixa reprodutibilidade entre citopatologistas e diferentes frequências de NIA em diferentes populações. A inconsistência (I^2) da citologia variou, de acordo com o ponto de corte utilizado, entre 81,7%-93,6% para sensibilidade, 92,6%-96,5% para especificidade e 20,7%-59,8% para DOR, na análise com todos os indivíduos. A inconsistência foi menor no subgrupo HSH HIV+, variando de 0,0 a 61,7% para sensibilidade, 75,3% a 79,0% para especificidade e 8,3% a 61,1% para DOR. Análise de sensibilidade para outros subgrupos estratificados por continente e estudos com verificação parcial do teste de referência também foram realizados para identificar os fatores de confusão da heterogeneidade; no entanto, os altos níveis de heterogeneidade persistiram (dados não mostrados). Outra limitação deste estudo foi o pequeno tamanho da

amostra para subgrupos que não o HIV-soropositivo, particularmente mulheres infectadas pelo HPV, mas não soropositivas para o HIV, um subgrupo com maior incidência de câncer anal comparado aos homens. Possivelmente esta lacuna deve-se ao fato de que indivíduos soropositivos para o HIV recebem acompanhamento médico maior do que os demais subgrupos.

6 CONCLUSÃO

Os resultados do estudo mostraram que a citologia é um bom teste para o rastreamento do câncer anal ao considerarmos todos os indivíduos e soropositivos para HIV, seu desempenho foi ainda melhor no grupo Homens que fazem sexo com homens.

Quanto ao teste de DNA HPV, este mostrou altíssima sensibilidade com baixa especificidade e desempenho de DOR muito superior ao da citologia, sugerindo ser um teste adequado para rastreio primário.

O teste RNAm HPV obteve bom desempenho quanto à sensibilidade e especificidade, sendo o melhor desempenho quanto a especificidade dentre os testes do presente estudo.

O resultado obtido com os estudos que analisaram a coloração do p16/KI67 identificou um bom desempenho global.

Devido à carência de estudos, não foi possível a análise do grupo “mulheres HPV+” isoladamente.

6.1 PERSPECTIVAS

Os resultados desta revisão sistemática mostram claramente a precisão da citologia na triagem do câncer anal. Por um lado, a avaliação de custo-efetividade com estudos prospectivos, avaliando se a triagem é eficaz para diminuir a morbimortalidade, é necessária para desenvolver diretrizes de triagem baseadas em evidências. Estes estudos devem incluir não somente citologia anal, mas também biomarcadores promissores como DNA hrHPV, RNAm HPV e coloração p16 / K67 e HRA. Por outro lado, considerando a alta incidência deste câncer em populações específicas e o grande tempo necessário para o desenvolvimento de tais estudos, torna-se

fundamental fomentar as medidas para profilaxia já, com campanhas educativas, vacinação em ambos os sexos e definição de protocolos de rastreios, ainda que estes sejam reavaliados após alguns anos.

7 REFERÊNCIAS

Abramowitz L, Benabderrahmane D, Baron G, Walker F, Yeni P, Duval X. Systematic evaluation and description of anal pathology in HIV-infected patients during the HAART era. *Dis Colon Rectum*. 2009;52(6):1130-6.

Abramowitz L, Jacquard AC, Jaroud F, Haesebaert J, Siproudhis L, Pradat P, Aynaud O, Leocmach Y, Soubeyrand B, Dachez R, Riethmuller D, Mouglin C, Pretet JL, Denis F. Human papillomavirus genotype distribution in anal cancer in France: the EDiTH V study. *Int J Cancer*. 2011;129(2):433-9.

Altman D. Relation between two continuous variables. In: Altman D, ed. *Practical Statistics for Medical Research*. 9th edn. London, England: Chapman 9:277-99. 1999.

Araín S, Walts AE, Thomas P, Bose S. The Anal Pap Smear: Cytomorphology of squamous intraepithelial lesions. *Cytojournal*. 2005;16;2(1):4.

Arbyn M, Sanjosé S, Saraiya M, Sideri M, Palefsky J, Lacey C, Gillison M, Bruni L, Ronco G, Wentzensen N, Brotherton J, Qiao Y, Denny L, Bornstein B, Abramowitz L, Giuliano A, Tommasino M, Monsonego J. Eurogin 2011 roadmap on prevention and treatment of HPV-related disease. *Int J Cancer*. 2012;131(9):1969-82.

Arbyn M, Roelens J, Simoens C, Buntinx F, Paraskevaidis E, Martin-Hirsch PPL, Prendiville WJ. Human papillomavirus testing versus repeat cytology for triage of minor cytological cervical lesions. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013;28(3):CD008054.

Baranoski AS, Tandon R, Weinberg J, Huang FF, Stier EA. Risk factors for abnormal anal cytology over time in HIV-infected women. *Am J Obstet Gynecol*. 2012;207(2):107.e1-8.

Bean SM, Chhieng DC, Roberson J, Raper JL, Broker TR, Hoesley CJ, Eltoum IA, Jin G. Anal-rectal cytology: correlation with human papillomavirus status and biopsy diagnoses in a population of HIV-positive patients. *J Low Genit Tract Dis*. 2010;14(2):90-6.

Berry JM, Palefsky JM, Jay N, Cheng SC, Darragh TM, Chin-Hong PV. Performance characteristics of anal cytology and human papillomavirus testing in patients with high-resolution anoscopy-guided biopsy of high-grade anal intraepithelial neoplasia. *Dis Colon Rectum*. 2009;52(2):239-47.

Betancourt EM, Wahbah MM, Been LC, Chiao EY, Citron DR, Laucirica R. Anal cytology as a predictor of anal intraepithelial neoplasia in HIV-positive men and women. *Diagn Cytopathol*. 2013;41(8):697-702.

Bosch FX, Broker TR, Forman D, Moscicki AB, Gillison ML, Doorbar J, Stern PL, Stanley M, Arbyn M, Poljak M, Cuzick J, Castle PE, Schiller JT, Markowitz LE, Fisher WA, Canfell K, Denny LA, Franco EL, Steben M, Kane MA, Schiffman M, Meijer CJ, Sankaranarayanan R, Castellsagué X, Kim JJ, Brotons M, Alemany L, Albero G, Diaz M, de Sanjosé S; Authors of the ICO Monograph 'Comprehensive Control of HPV Infections and Related Diseases' Vaccine Volume 30, Supplement 5, 2012.

Comprehensive Control of Human Papillomavirus Infections and Related Diseases. Vaccine. 2013;31(08):11–31.

Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, Gatsonis CA, Glasziou PP, Irwig LM, Lijmer JG, Moher D, Rennie D, DE Vet HC, Standards for Reporting of Diagnostic Accuracy. Towards complete and accurate reporting of studies of diagnostic accuracy: The STARD Initiative. Ann Intern Med. 2003;138(1):40-4.

Burgos, J. et al. The role of oncogenic HPV determination for diagnosis of highgrade anal intraepithelial neoplasia in HIV-infected MSM. AIDS (2017)31, 2227–2233.

Cardinal LH, Carballo P, Lorenzo MC, García A, Suzuki V, Tatti S, Vighi S, Díaz LB. A six-year experience with anal cytology in women with HPV in the lower genital tract: utility, limitations, and clinical correlation. Diagn Cytopathol. 2014;42(5):396-400.

Castro FA, Quint W, Gonzalez P, Katki HA, Herrero R, van Doorn LJ, Schiffman M, Struijk L, Rodriguez AC, DelVecchio C, Lowy DR, Porras C, Jimenez S, Schiller J, Solomon D, Wacholder S, Hildesheim A, Kreimer AR. Prevalence of and risk factors for anal human papillomavirus infection among young healthy women in Costa Rica. J Infect Dis. 2012;206(7):1103–10.

Chiao EY, Giordano TP, Palefsky JM, Tyring S, Serag HE. Screening HIV-infected individuals for anal cancer precursor lesions: a systematic review. Clin Infect Dis. 2006;43(2):223-33.

Chin-Hong PV, Berry JM, Cheng SC, Catania JA, Da Costa M, Darragh TM, Fishman F, Jay N, Pollack LM, Palefsky JM 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. 2008;149(5):300-6.

The Cochrane Collaboration. The Nordic Cochrane Centre (Copenhagen). Review Manager (RevMan). Version 5.0.2 edn 2013. [Internet]. Disponível em: <<http://ims.Cochran.org/revman>.> Acesso em 03/02/2017.

Cranston RD, Darragh TM, Holly EA, Jay N, Berry JM, Da Costa M, Efird JT, Palefsky JM. Self-collected versus clinician-collected anal cytology specimens to diagnose anal intraepithelial neoplasia in HIV-positive men. J Acquir Immune Defic Syndr. 2004;36(4):915-20.

Crum-cianflone NF, Hullsiek KH, Marconi VC, Ganesan A, Weintrob A, Barthel RV, Agan BK. Anal cancers among HIV-infected persons: HAART is not slowing rising incidence. AIDS. 2010;24(4):535–43.

Daling JR, Weiss NS, Klopfenstein LL, Cochran LE, Chow WH, Daifuku R. Correlates of homosexual behavior and the incidence of anal cancer. JAMA. 1982;247(14):1988–90.

Darragh TM, Winkler B. Anal cancer and cervical cancer screening: key differences. Cancer Cytopathol. 2011;119(1):5–19.

Darragh TM, Tokugawa D, Castle PE, Follansbee S, Borgonovo S, LaMere BJ, Schwartz L, Gage JC, Fetterman B, Lorey T, Wentzensen N. Interrater agreement of anal cytology. *Cancer Cytopathol.* 2013;121(2):72-8.

Iribarren Díaz M, Ocampo Hermida A, González-Carreró Fojón J, Longueira Suárez R, Rivera Gallego A, Casal Núñez E, Ocampo Álvarez A, Cachay ER. Preliminary results of a screening program for anal cancer and its precursors for HIV-infected men who have sex with men in Vigo-Spain. *Rev Esp Enferm Dig.* 2017;109(4):242-9.

D'Souza G, Wiley DJ, Li X, Chmiel JS, Margolick JB, Cranston RD, Jacobson LP. Incidence and epidemiology of anal cancer in the multicenter AIDS cohort study. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2008;48(4):491-9.

D'Souza G, Wentz A, Wiley D, Shah N, Barrington F, Darragh TM, Joste N, Plankey M, Reddy S, Breen EC, Young S, Cranston RD. Anal Cancer Screening in Men Who Have Sex With Men in the Multicenter AIDS Cohort Study. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2016;71(5):570-6.

Dietrich A, Hermans C, Heppt MV, Ruzicka T, Schaubert J, Reinholz M. Human papillomavirus status, anal cytology and histopathological outcome in HIV-positive patients. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2015;29(10):2011-8.

Etienne I, Vuong S, Si-Mohamed A, Fléjou JF, Atienza P, Bauer P. Cytological Diaconesses Group. Value of cytological smears and PCR screening for human papilloma virus DNA in detecting anal intraepithelial neoplasia. *Cancer.* 2012;118(24):6031-8.

Ferlay J, Parkin DM, Curado MP. Volumes I to IX. IARC; Lyon, France: 2010. Cancer incidence in five continents.

Fernandes JV, Fernandes TAAM. Human Papillomavirus: Biology and Pathogenesis, Human Papillomavirus and Related Diseases – From Bench to Bedside – A Clinical Perspective, Dr. Davy Vanden Broeck (Ed.). p. 348. 2012.

Forman D, de Martel C, Lacey CJ, Soerjomataram I, Lortet-Tieulent J, Bruni L, Vignat J, Ferlay J, Bray F, Plummer M, Franceschi S. Global burden of human papillomavirus and related diseases. *Vaccine.* 2012;30(S5):F12–23.

Fox PA, Seet JE, Stebbing J, Francis N, Barton SE, Strauss S, Allen-Mersh TG, Gazzard BG, Bower M. 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(2):142-6.

Friedlander MA, Stier E, Lin O. Anorectal cytology as a screening tool for anal squamous lesions: cytologic, anoscopic, and histologic correlation. *Cancer.* 2004;102(1):19-26.

Frisch M, Biggar RJ, Goedert JJ. Human papillomavirus-associated cancers in patients with human immunodeficiency virus infection and acquired immunodeficiency syndrome. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92(18):1500–10.

Gami B, Kubba F, Ziprin P. Human Papilloma Virus and Squamous Cell Carcinoma of the Anus. *Clin Med Insights Oncol*. 2014;8:113-9.

Gandra S, Azar A, Wessolossky M. Anal high-risk human papillomavirus infection and high-grade analintraepithelial neoplasia detected in women and heterosexual men infected with human immunodeficiency virus. *HIV AIDS (Auckl)*. 2015;7:29-34.

Garbuglia AR, Gentile M, Del Nonno F, Lorenzini P, Lapa D, Lupi F, Pinnetti C, Baiocchini A, Libertone R, Cicalini S, Capobianchi MR, Ammassari A. An anal cancer screening program for MSM in Italy: Prevalence of multiple HPV types and vaccine-targeted infections. *J Clin Virol*. 2015;72:49–54.

Gatsonis C, Paliwal P. Meta-analysis of diagnostic and screening test accuracy evaluations; methodologic primer. *Ajr Am J Roentgenol*. 2006;187(2):271-81.

Hernandez BY, McDuffie K, Zhu X, Wilkens LR, Killeen J, Kessel B, Wakabayashi MT, Bertram CC, Easa D, Ning L, Boyd J, Sunoo C, Kamemoto L, Goodman MT. Anal human papillomavirus infection in women and its relationship with cervical infection. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005;14(11Pt1):2550–6.

Higgins JPT, Green S (editors). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* Version 5.1.0 [updated March 2011]. The Cochrane Collaboration, 2011. Available from www.cochrane-handbook.org. Acesso em fevereiro de 2012.

IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol. 64. Human papillomaviruses. Lyons, France: International Agency for Research on Cancer, 1995.

Islami F, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Bray F, Jemal A. International trends in anal cancer incidence rates. *Int J Epidemiol*. 2016;46(3):924-38.

Jaeschke R, Guyatt G, Sackett DL. For the evidence-based working group. User's guides to the medical literature II. How to use an article about a diagnostic test. Are the results of study valid? *JAMA*. 1994;271(5):389-91.

Jacyntho CM, Giraldo PC, Horta AA, Grandelle R, Goncalves AK, Fonseca T, Eleuterio J Jr. Association between genital intraepithelial lesions and anal squamous intraepithelial lesions in HIV-negative women. *Am J Obstet Gynecol*. 2011;205(2):115.e111–115.

Johnson LG, Madeleine MM, Newcomer LM, Schwartz SM, Daling JR. Anal cancer incidence and survival: the surveillance, epidemiology, and end results experience, 1973-2000. *Cancer*. 2004;101(2):281–8.

Jones CM, Athanasiou T. Summary receiver operating characteristic curve analysis techniques in the evaluation of diagnostic tests. *Ann Thorac Surg*. 2005;79(1):16-20.

Kahn JA, Belzer M, Chi X, Lee J, Gaur AH, Mayer K, Martinez J, Futterman DC, Stier EA, Paul ME, Chiao EY, Reirden D, Goldstone SE, Ortiz Martinez AP, Cachay ER, Barroso LF, Da Costa M, Wilson CM, Palefsky JM. Pre-vaccination prevalence of

anogenital and oral human papillomavirus in young HIV-infected men who have sex with men. *Papillomavirus Research* 7 (2019) 52–61

Lacey HB, Wilson GE, Tilston P, Wilkins EG, Bailey AS, Corbitt G, Green PM. A study of anal intraepithelial neoplasia in HIV positive homosexual men. *Sex Transm Infect.* 1999;75(3):172-7.

Lam JMC, Hoch JS, Tinmouth J, Sano M, Raboud J, Salit IE. Cost-effectiveness of screening for anal precancers in HIV-positive men. *AIDS.* 2011;25(5):635–42.

Lampinen TM, Miller ML, Chan K, Anema A, van Niekerk D, Schilder AJ, Taylor R, Hogg RS. Randomized clinical evaluation of self-screening for anal cancer precursors in men who have sex with men. *Cytojournal.* 2006;3:4.

Lazenby GB, Unal ER, Andrews AL, Simpson K. A cost-effectiveness analysis of anal cancer screening in HIV-positive women. *J Low Genit Tract Dis.* 2012;16(3):275-80.

Leeds IL, Fang SH. Anal cancer and intraepithelial neoplasia screening: A Review. *World J Gastrointest Surg.* 2016;8(1):41-51.

Lijmer JG, Mol BW, Heisterkamp S, Bossel GJ, Prins MH, van Der Meulen JH, Bossuyt PM. Empirical evidence of design-related bias in studies of diagnostic tests. *JAMA.* 1999;282(11):1061-6.

Littenberg B, Moses LE. Estimating diagnostic accuracy from multiple conflicting reports. *Med Decis Making.* 1993;13(4):313-21.

Macedo, ACL, Bavaresco, D, Gonçalves, JC, Grande AJ, da Rosa, MI. Accuracy of Messenger RNA Human Papillomavirus Tests for Diagnostic Triage of Minor Cytological Cervical Lesions: A Systematic Review and Meta-Analysis Sexually Transmitted Diseases. 2019. 46(5):297–303.

Machalek DA, Poynten M, Jin F, Fairley CK, Farnsworth A, Garland SM, Hillman RJ, Petoumenos K, Roberts J, Tabrizi SN, Templeton DJ, Grulich AE. Anal human papillomavirus infection and associated neoplastic lesions in men who have sex with men: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol.* 2012;13(5):487-500.

Maia LB, Marinho LC, Wanderley Paes Barbosa T, Batalha Filho ES, Ribeiro Velasco LF, Garcia Costa PG, Carneiro FP, de Oliveira PG. A comparative study between conventional and liquid-based cytology in screening for anal intraepithelial lesions in HIV-positive patients. *Diagn Cytopathol.* 2014;42(10):840-5.

Mavrogianni P, Alexandrakis G, Stefanaki C, Hadzivassiliou M, Karameris A, Mela A, Bethimoutis G, Apostolopoulos P, Tsibouris P, Katsambas A, Kalantzis N. The role of cytology and HPV typing as a screening tool in patients with intraanal warts. *J Clin Gastroenterol.* 2011;45(4):e39-43.

Meites E, Markowitz LE, Paz-Bailey G, Oster AM; NHBS Study Group. HPV vaccine coverage among men who have sex with men - National HIV Behavioral Surveillance System, United States, 2011. *Vaccine.* 2014;32(48):6356–9.

Moher D, Altman D, Schulz K, Simera I, Wager E, ed. Guidelines for reporting health research: a user's manual. John Wiley & Sons; 2014.

Morshed K, Polz-gruszka D, Szymanski, Polz-dacewicz M, Human Papillomavirus (HPV) – Structure, epidemiology and pathogenesis. *Otolaryngol Pol.* 2014;68(5):213-9.

Moscicki A, Darragh TM, Berry-Lawhorn JM, Roberts JM, Khan MJ, Boardman LA, Chiao E, Einstein MH, Goldstone SE, Jay N, Likes WM, Stier EA, Welton ML, Wiley DJ, Palefsky JM. Screening for Anal Cancer in Women. *J Low Genit Tract Dis.* 2015;19(301):S26–S41.

Nathan M, Singh N, Garrett N, Hickey N, Prevost T, Sheaff M. Performance of anal cytology in a clinical setting when measured against histology and high-resolution anoscopy findings. *AIDS.* 2010;24(3):373-9.

Nahas CS, da Silva Filho EV, Segurado AA, Genevcus RF, Gerhard R, Gutierrez EB, Marques CF, Cecconello I, Nahas SC. Screening anal dysplasia in HIV-infected patients: is there an agreement between anal pap smear and high-resolution anoscopy-guided biopsy? *Dis Colon Rectum.* 2009;52(11):1854-60.

Ong J, Chen M, Temple-Smith M, Walker S, Hoy J, Woolley I, Grulich A, Fairley C. The inside story. Physicians' views on digital ano-rectal examination for anal cancer screening of HIV positive men who have sex with men. *Journal of medical screening.* 2013;20(4):188–91.

Ong J, Walker S, Grulich A, Hoy J, Read TRH, Bradshaw C, Chen M, Garland SM, Hillman R, Templeton DJ, Hocking J, Eu B, BK, Chow EPF, Fairley CK. Incorporating digital anorectal examinations for anal cancer screening into routine HIV care for men who have sex with men living with HIV: a prospective cohort study. *J Int AIDS Soc.* 2018 Dec; 21(12): e25192.

Panther LA, Wagner K, Proper J, Fugelso DK, Chatis PA, Weeden W, Nasser IA, Doweiko JP, Dezube BJ./ 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(10):1490-2.

Palefsky JM, Holly EA, Ralston ML, Arthur SP, Jay N, Berry JM, DaCosta MM, Botts R, Darragh TM. Anal squamous intraepithelial lesions in HIV-positive and HIV-negative homosexual and bisexual men: prevalence and risk factors. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol.* 1998;17(4):320-6.

Palefsky JM. Medical management of anal intraepithelial neoplasia. In: Zbar AP, Madoff RD, Wexner, SD, eds. *Reconstructive Surgery of the Rectum, Anus and Perineum.* London, UK: Springer; 2013:191-200.

Palefsky JM. Screening to Prevent Anal Cancer: Current Thinking and Future Directions. *Cancer Cytopathology* September 2015;123(9):509-10.

Phanuphak N, Teeratakulpisarn N, Triratanachai S, Keelawat S, Pankam T, Kerr SJ, Deesua A, Tantbirojn P, Numto S, Phanuphak P, Palefsky JM, Ananworanich J. High prevalence and incidence of high-grade anal intraepithelial neoplasia among young Thai men who have sex with men with and without HIV. *AIDS*. 2013;27(11):1753-62.

Reitsma JB, Glas AS, Rutjes AWS, Scholten R, Bossuyt PM, Zwinderman AH. Bivariate analysis of sensitivity and specificity produce informative summary measures in diagnostic reviews. *J Clin Epidemiol*. 2005;58(10):982-90.

Reitsma JB, Rutjes AWS, Whiting P, Ylassov VV, Leeflang MMG, Deeks JJ. Chapter 9: Assessing methodological quality. In: Deeks JJ, Bossuyt PM, Gatsonis C. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Diagnostic Test Accuracy* Version 1.0.0. Wiley-Blackwell. 2009.

Review Manager (RevMan) [Computer program]. Version 5.3. Copenhagen: The Nordic Cochrane Centre, The Cochrane Collaboration. 2014.

Roelens J, Reuschenbach M, Von Knebel-Doeberitz M, Wentzensen N, Bergeron C, Arbyn M. p16INK4a immunocytochemistry versus HPV testing for triage of women with minor cytological abnormalities: A systematic review and meta-analysis. *Cancer Cytopathol*. 2012;120(5):294-307.

de 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(1):22-5.

Sahasrabudde VV, Castle PE, Follansbee S, Borgonovo S, Tokugawa D, Schwartz LM, Lorey TS, LaMere BJ, Gage JC, Fetterman B, Boyle S, Sadorra M, Tang SD, Darragh TM, Wentzensen N. Human papillomavirus genotype attribution and estimation of preventable fraction of anal intraepithelial neoplasia cases among HIV-infected men who have sex with men. *J Infect Dis*. 2013;207(3):392-401.

Salit IE, Lytwyn A, Raboud J, Sano M, Chong S, Diong C, Chapman W, Mahony JB, Tinmouth J. The role of cytology (Pap tests) and human papillomavirus testing in anal cancer screening. *AIDS*. 2010;24(9):1307-13.

Santoso JT, Long M, Crigger M, Wan JY, Haefner HK. Anal intraepithelial neoplasia in women with genital intraepithelial neoplasia. *Obstet Gynecol*. 2010;116(3):578-82.

Schiffman M, Wentzensen N. From human papillomavirus to cervical cancer. *Obstet Gynecol*. 2010;116(1):177-85.

Schlecht NF, Burk RD, Nucci-Sack A, Shankar V, Peake K, Lorde-Rollins E, Porter R, Linares LO, Rojas M, Strickler HD, Diaz A. Cervical, anal and oral HPV in an adolescent inner-city health clinic providing free vaccinations. *PLoS One*. 2012;7(5):e37419.

Scholefield JH, Castle MT, Watson NF. Malignant transformation of high-grade anal intraepithelial neoplasia. *Br J Surg.* 2005;92(9):1133-6.

Sendagorta E, Romero MP, Bernardino JI, Beato MJ, Alvarez-Gallego M, Herranz P. Human papillomavirus mRNA testing for the detection of anal high-grade squamous intraepithelial lesions in men who have sex with men infected with HIV. *J Med Virol.* 2015;87(8):1397-403.

Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics, 2019. *CA Cancer J Clin.* 2019;69(1):7-34.

Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics 2012. *CA Cancer J Clin.* 2012;62:10-29.

Sigel K, Dubrow R, Silverberg M, Crothers K, Braithwaite S, Justice A. Cancer screening in patients infected with HIV. *Curr HIV/AIDS Rep.* 2011;8(3):142-52.

Silverberg MJ, Chao C, Leyden WA, Xu L, Horberg MA, Klein D, Towner WJ, Dubrow R, Quesenberry CP Jr, Neugebauer RS, Abrams DI. HIV infection, immunodeficiency, viral replication, and the risk of cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2011;20(12):2551–9.

Silverberg MJ, Lau B, Justice AC, Engels E, Gill MJ, Goedert JJ, Kirk GD, D'Souza G, Bosch RJ, Brooks JT, Napravnik S, Hessol NA, Jacobson LP, Kitahata MM, Klein MB, Moore RD, Rodriguez B, Rourke SB, Saag MS, Sterling TR, Gebo KA, Press N, Martin JN, Dubrow R. Risk of anal cancer in HIV-infected and HIV-uninfected individuals in North America. *Clin Infectious Dis.* 2012;54(7):1026–34.

Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, Raab S, Sherman M, Wilbur D, Wright T Jr, Young N; Forum Group Members; Bethesda 2001 Workshop. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA.* 2002;287(16):2114-9.

Stanley MA, Sterling JC. Host responses to infection with human papillomavirus. *Curr Probl Dermatol.* 2014; 45:58–74.

Sturegard E, Johansson H, Ekstrom J, Hasson BG, Johnsson A, Gustafsson E, Dillner J, Forslund O. Human papillomavirus typing in reporting condyloma. *Sex Transm Dis.* 2013;40(2):123-9.

Swedish KA, Lee EQ, Goldstone SE. The changing picture of high-grade anal intraepithelial neoplasia in men who have sex with men: the effects of 10 years of experience performing high-resolution anoscopy. *Dis Colon Rectum.* 2011;54(8):1003-7.

Tosato Boldrini NA, Bondi Volpini LP, deFreitas LB, Musso C, MercEon de Vargas PR, Spano LC, Miranda AE. Anal HPV infection and correlates in HIV-infected patients attending a Sexually Transmitted Infection clinic in Brazil. *PLoS ONE.* 2018;13(7):e0199058.

Tseng HF, Morgenstern H, Mack TM, Peters RK. Risk factors for anal cancer: results of a population-based case-control study. *Cancer Causes Control* 2003;14(9):837–46.

Varnai AD, Bollmann M, Griefingholt H, Speich N, Schmitt C, Bollmann R, Decker D. 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(2):135-42.

Walts AE, Lechago J, Bose S. P16 and Ki67 immunostaining is a useful adjunct in the assessment of biopsies for HPV-associated anal intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol.* 2006;30(7):795-801.

Watson AJ, Smith BB, Whitehead MR, Sykes PH, Frizelle FA. Malignant progression of anal intra-epithelial neoplasia. *ANZ J Surg.* 2006;76(8):715-7.

Whiting PF, Rutjes AW, Westwood ME, Mallett S, Deeks JJ, Reitsma JB, Leeflang MM, Sterne JA, Bossuyt PM. QUADAS-2 Group. QUADAS-2: a revised tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies. *Ann Intern Med.* 2011;155(8):529-36.

Wentzensen N, Follansbee S, Borgonovo S, Tokugawa D, Schwartz L, Lorey TS, Sahasrabudhe VV, Lamere B, Gage JC, Fetterman B, Darragh TM, Castle PE. Human papillomavirus genotyping, human papillomavirus mRNA expression, and p16/Ki-67 cytology to detect anal cancer precursors in HIV-infected MSM. *AIDS.* 2012;26(17):2185-92.

Willeford WG, Barroso L, Keller J, Fino N, Bachmann LH. Anal Dysplasia Screening and Treatment in a Southern Human Immunodeficiency Virus Clinic. *Sex Transm Dis.* 2016;43(8):479-82.

Wilkin, T. et al. High-grade anal intraepithelial neoplasia among HIV-1-infected men screening for a multicenter clinical trial of a human papillomavirus vaccine. *HIV Clin. Trials* 14, 75–79 (2013).

Zamora J, Abraira V, Muriel A, Khan K, Coomarasamy A. Meta-DiSc: a software for meta-analysis of test accuracy data. *Javir BMC Med Res Methodol.* 2006;6:31.