

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

TATIANA ARGOLO TOSCANO FIGUEIREDO

**ACURÁCIA DO DNA HPV ONCOGÊNICO, RNA_m HPV E P16 NO
DIAGNÓSTICO DE LESÕES PRECURSORAS DE CÂNCER DE CANAL
ANAL: REVISÃO SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE**

CRICIÚMA

2024

TATIANA ARGOLO TOSCANO FIGUEIREDO

**ACURÁCIA DO DNA HPV ONCOGÊNICO, RNA_m HPV E P16 NO
DIAGNÓSTICO DE LESÕES PRECURSORAS DE CÂNCER DE CANAL
ANAL: REVISÃO SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde para obtenção do título de Doutora em Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Inês da Rosa

CRICIÚMA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

F475a Figueiredo, Tatiana Argolo Toscano.

Acurácia do DNA HPV oncogênico, RNAm HPV e P16 no diagnóstico de lesões precursoras de câncer de canal anal : revisão sistemática e meta-análise / Tatiana Argolo Toscano Figueiredo. - 2024.

54 p. : il.

Tese (Doutorado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Criciúma, 2024.

Orientação: Maria Inês da Rosa.

1. Neoplasias do ânus. 2. Biomarcadores. 3. Papillomavirus humano. 4. Testes de DNA para Papilomavírus Humano. 5. Testes de RNAm para Papilomavírus Humano. 6. Proteína p16. I. Título.

CDD 23. ed. 616.99435

Bibliotecária Eliziane de Lucca Alosilla - CRB 14/1101
Biblioteca Central Prof. Eurico Back - UNESC

INFORMAÇÕES

A Tese foi elaborada seguindo o estilo ABNT descrito na Resolução 05/2024 do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS), sendo apresentada no formato tradicional.
Este trabalho foi realizado no Laboratório de Biomedicina Translacional – Grupo de Epidemiologia, do PPGCS.



UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO, INOVAÇÃO E EXTENSÃO
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado)
Recomendado pela CAPES – Homologado pelo CNE – Portaria N° 609 de 14.03.2019

PARECER

No dia 20 (vinte) do mês de setembro de 2024, às 13 (treze) horas e 30 (trinta) minutos, na Sala 108/Bloco R1, após o cumprimento legal de conclusão das disciplinas do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado), realizaram-se a apresentação e a consequente defesa da tese intitulada: “ACURÁCIA DO DNA HPV ONCOGÊNICO, RNAm HPV E P16 NO DIAGNÓSTICO DE LESÕES PRECURSORAS DE CÂNCER DE CANAL ANAL: REVISÃO SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE”, da candidata **Tatiana Argolo Toscano Figueiredo**. A Banca examinadora foi composta pelos(as) professores(as): **Dra. Tamy Colonetti** (Membro Relator – UNESC), **Dra. Jaqueline da Silva Generoso** (Membro Interno – UNESC), **Dra. Vanessa Iribarrem Avena Miranda** (Membro Externo – UNESC) e **Dr. Antonio José Grande** (Membro Externo – UEMS). Após a apresentação, a candidata foi arguida pela Banca Examinadora, que assim expressou o resultado final da tese:

Trabalho aprovado

Trabalho não aprovado

Observações:

Criciúma, SC, 20 de setembro de 2024.

Documento assinado digitalmente
gov.br TAMY COLONETTI
Data: 23/09/2024 13:40:01-0300
Verifique em <https://validar.jti.gov.br>

Profa. Dra. TAMY COLONETTI
Membro Relator – UNESC

Documento assinado digitalmente
gov.br JAQUELINE DA SILVA GENEROSO
Data: 23/09/2024 13:46:29-0300
Verifique em <https://validar.jti.gov.br>

Profa. Dra. JAQUELINE DA SILVA GENEROSO
Membro Interno – UNESC

Documento assinado digitalmente
gov.br VANESSA IRIBARREM AVENA MIRANDA
Data: 20/09/2024 19:35:01-0300
Verifique em <https://validar.jti.gov.br>

Profa. Dra. VANESSA IRIBARREM AVENA
MIRANDA

Documento assinado digitalmente
gov.br ANTONIO JOSÉ GRANDE
Data: 23/09/2024 13:26:13-0300
Verifique em <https://validar.jti.gov.br>

Prof. Dr. ANTONIO JOSÉ GRANDE
Membro Externo – UEMS

Documento assinado digitalmente
gov.br MARIA INÉS DA ROSA
Data: 23/09/2024 13:37:38-0300
Verifique em <https://validar.jti.gov.br>

Profa. Dra. MARIA INÉS DA ROSA
Orientador(a)

Documento assinado digitalmente
gov.br EMILIO LUIZ STRECK
Data: 23/09/2024 14:58:31-0300
Verifique em <https://validar.jti.gov.br>

Prof. Dr. EMILIO LUIZ STRECK
Coordenador do PPGCS

RESUMO

Introdução: O câncer anal representa 2% de todos os cânceres, mas sua incidência é crescente em homens e mulheres, principalmente em grupos de risco (homens que fazem sexo com homens - HSH, HIV positivo e mulheres). O Papilomavírus humano (HPV) é relacionado a esse aumento. O diagnóstico precoce do câncer anal cursa com resultados favoráveis aos doentes. Atualmente o rastreamento dessa neoplasia utiliza o método histopatológico como padrão ouro. Esse meio de exame é um ato doloroso e pode ter efeitos indesejáveis, como sangramentos, sendo responsáveis por má adesão dos grupos de risco a exames periódicos preventivos de longo prazo. **Objetivo:** Determinar as acurácias dos biomarcadores DNA HPV oncogênico, RNAm HPV e p16 no diagnóstico de lesões precursoras de câncer de canal anal, tendo histopatológico como teste de referência. **Métodos:** Foi realizada uma revisão sistemática que analisou estudos observacionais prospectivos. Avaliou a sensibilidade e especificidade do DNA HR HPV, do teste RNAm HPV e do teste p16 no diagnóstico de lesões precursoras de câncer de canal anal. Foi analisada a acurácia por perfil de pacientes (homem que fazem sexo com homens, mulheres com lesão anogenital causada pelo HPV e imunossuprimidos). Para produzir uma estimativa combinada da sensibilidade e especificidade dos estudos foi realizada uma meta-análise. Os cálculos estatísticos foram realizados pelo software Metadisc®. A heterogeneidade foi avaliada por meio do cálculo das estatísticas de I-quadrado. Foi considerado heterogeneidade substancial valores de I-quadrado acima de 75%. **Resultados:** Foram incluídos 21 estudos, com 7.445 pacientes. O teste DNA HR HPV apresentou maior sensibilidade de 92,4% (IC 95% 84,2–96,5), especificidade de 41,7% (IC 95% 33,9–44,9) e AUC 0,67, seguido pelo teste RNAm HPV, com sensibilidade de 77,3% (IC 95% 73,2 %–80,9%), especificidade de 61,9% (IC 95% 56,6–66,9) e AUC 0,78. O teste DNA HPV16 apresentou maior especificidade 71,7% (IC 95% 55,3–83,8), seguido pelo teste p16, 64,1% (IC 95% 51,0–75,4); A sensibilidade do teste DNA HPV16 foi de 53,3% (IC 95% 35,4–70,3) e AUC 0,69, enquanto o p16 teve uma sensibilidade de 68,8% (IC 95% 47,9–84,1) e AUC 0,74. A análise de subgrupos de HSH com HIV, com 13 estudos e 5.123 pacientes, mostrou acurácia semelhante, com sensibilidades um pouco mais altas e especificidades mais baixas. Considerando a medida da variabilidade total entre estudos, os testes RNAm HPV mostraram a menor área da elipse de predição de 95%, 6,0%, influenciada pela baixa sensibilidade 0,011. Todos os outros grupos de testes excedem 50% da área da elipse de predição, o que representa uma alta heterogeneidade. **Conclusão:** O teste DNA HR HPV pode ser uma ferramenta útil para triagem de neoplasia intraepitelial de alto grau e câncer anal se seguido por biomarcador com maior especificidade. Como teste isolado, o teste teve melhor desempenho.

Palavras-chave: Câncer anal; Neoplasia intraepitelial anal; DNA HR HPV; RNAm HPV; p16.

ABSTRACT

Introduction: Anal cancer accounts for 2% of all cancers, and its incidence is increasing in both men and women, particularly in high-risk groups (men who have sex with men - MSM, HIV-positive individuals, and women). Human papillomavirus (HPV) is related to this increase. Early diagnosis of anal cancer results in favorable outcomes for patients. Currently, screening for this neoplasm uses histopathological methods as the gold standard. This examination method is painful and can have undesirable effects, such as bleeding, leading to poor adherence to long-term preventive periodic exams by high-risk groups. **Objective:** Determine the accuracies of the biomarkers oncogenic HPV DNA, HPV mRNA, and p16 in diagnosing precursor lesions of anal canal cancer, using histopathology as the reference test. **Methods:** A systematic review was conducted, analyzing prospective observational studies. The sensitivity and specificity of HR HPV DNA, HPV mRNA test, and p16 test in diagnosing precursor lesions of anal canal cancer were evaluated. Accuracy was analyzed by patient profile (men who have sex with men, women with HPV-induced anogenital lesions, and immunosuppressed individuals). A meta-analysis was performed to produce a combined estimate of the sensitivity and specificity of the studies. Statistical calculations were performed using Metadisc® software. Heterogeneity was assessed by calculating I-squared statistics. Substantial heterogeneity was considered for I-squared values above 75%. **Results:** Twenty-one studies were included, with 7,445 patients. The HR HPV DNA test showed the highest sensitivity of 92.4% (95% CI 84.2–96.5), specificity of 41.7% (95% CI 33.9–44.9), and AUC 0.67, followed by the HPV mRNA test, with a sensitivity of 77.3% (95% CI 73.2–80.9%), specificity of 61.9% (95% CI 56.6–66.9), and AUC 0.78. The HPV16 DNA test showed the highest specificity of 71.7% (95% CI 55.3–83.8), followed by the p16 test, 64.1% (95% CI 51.0–75.4); the sensitivity of the HPV16 DNA test was 53.3% (95% CI 35.4–70.3) and AUC 0.69, while p16 had a sensitivity of 68.8% (95% CI 47.9–84.1) and AUC 0.74. Subgroup analysis of MSM with HIV, with 13 studies and 5,123 patients, showed similar accuracy, with slightly higher sensitivities and lower specificities. Considering the measure of total variability between studies, the HPV mRNA tests showed the smallest area of the 95% prediction ellipse, 6.0%, influenced by low sensitivity 0.011. All other test groups exceed 50% of the prediction ellipse area, representing high heterogeneity. **Conclusion:** The HR HPV DNA test can be a useful tool for screening aHSIL and anal cancer if followed by a biomarker with higher specificity. As a standalone test, the HPV mRNA performed better.

Keywords: Anal cancer; Anal intraepithelial neoplasia; HR HPV DNA; HPV mRNA; p16.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CCS	Cânceres de células escamosas
CDK	Quinases dependentes de ciclina
CDKN2A	Inibidor quinase dependente de ciclina 2A
CEP	Comitê de ética e pesquisa
CONITEC	Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DOR	<i>Diagnostic Odds ratio</i>
FN	Falso negativo
FP	Falso positivo
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HPV	Papilomavírus humano
HRA	Exame de alta resolução do canal anal
HR HPV	Papilomavírus humano de alto risco
HSH	Homens que fazem sexo com homens
HSIL	Lesões intraepiteliais escamosas de alto grau
NIA	Neoplasia intraepitelial anal
NIC	Neoplasia intraepitelial cervical
PBE	Prática baseada em evidências
PRISMA	Preferred Reported Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses
PROSPERO	International Prospective Register of Ongoing Systematic Reviews
QUADAS	<i>Diagnostic Accuracy Studies</i>
RNA _m	Ácido ribonucleico mensageiro
SIL	Lesões intraepiteliais escamosas
UNESC	Universidade do Extremo Sul Catarinense
VN	Verdadeiros negativos
VP	Verdadeiros positivos
ZTA	Zona de transição anal

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
1.1 PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV)	10
1.2 HPV E O CÂNCER DE CANAL ANAL	11
1.3 EPIDEMIOLOGIA.....	13
1.4 DIAGNÓSTICO	14
1.5 JUSTIFICATIVA	16
2 OBJETIVOS	17
2.1 GERAL.....	17
2.2 ESPECÍFICOS	17
3 MÉTODOS	18
3.1 PICO	18
3.2 ESTRATÉGIAS DE BUSCA.....	18
3.3 CRITÉRIOS DE SELEÇÃO DOS ESTUDOS	18
3.3.1 Critérios de inclusão dos estudos	19
3.3.2 Critérios de exclusão dos estudos	19
3.4 SELEÇÃO DE ESTUDOS	19
3.4.1 Leitura de títulos e resumos	19
3.4.2 Leitura na íntegra dos artigos selecionados	19
3.5 EXTRAÇÃO DE DADOS	20
3.6 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE METODOLÓGICA DOS ESTUDOS	20
3.7 SÍNTESE DE DADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA	21
4 RESULTADOS	23
4.1 AVALIAÇÃO DO RISCO DE VIÉS.....	28
4.2 ACURÁCIA DO TESTE DE DNA HR HPV	31
4.3 ACURÁCIA DO TESTE RNAMm HPV	34
4.4 ACURÁCIA DO TESTE DE COLORAÇÃO p16	34
4.4.1 Acurácia do teste DNA HPV16	35
4.5 ANÁLISE DE SENSIBILIDADE.....	35
4.6 ANÁLISES QUANTITATIVAS DE HETEROGENEIDADE	37
4.7 INVESTIGAÇÃO DE VIÉS DE PUBLICAÇÃO	37
5 DISCUSSÃO	38
6 CONCLUSÃO	44
REFERÊNCIAS	45

1 INTRODUÇÃO

1.1 PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV)

O papilomavírus humano (HPV) apresenta o genoma constituído de uma molécula de DNA de fita dupla circular, não envelopado pequeno, com cerca de 8.000 pb. Apresenta mais de 100 genótipos diferentes identificados, dos quais pelo menos 30 a 40 genótipos são sexualmente transmissíveis e infectam o epitélio escamoso do trato anogenital, destes, 13 genótipos podem dar início a um processo neoplásico e são comumente conhecidos como HPV de alto risco ou oncogênico (IARC, 2007, 2012; VILLIERS, 2013). O HPV é predominante na população jovem e sexualmente ativa devido a sua forma de transmissão que ocorre através de qualquer atividade sexual que envolva contato pele a pele ou contato pele-mucosa, incluindo sexo vaginal, anal e oral (SMYCZEK; SINGH; ROMANOWSKI, 2013).

O HPV é capaz de induzir células epiteliais escamosas a sofrerem alterações malignas/tumorações (verrugas e papilomas) ou lesões benignas em diversas localizações (BOSCH et al., 2013; VAN DOORSLAER, 2013). A infecção anogenital pelo HPV é comum e estima-se que 80% da população sexualmente ativa já tenha entrado em contato com o vírus em algum momento (BRUNI et al., 2023). A infecção é geralmente transitória devido ao eventual reconhecimento do vírus pelo sistema imunológico, que elimina a infecção viral sem causar doença significativa (STANLEY, 2012). No entanto, se a infecção ocorrer devido a um genótipo de HPV de “alto risco” pode se tornar persistente e gerar alterações celulares que levem à formação de neoplasias malignas. O HPV infecta as células basais epiteliais nos locais onde ocorreram micro traumas que expõem a membrana basal (DOORBAR et al., 2015).

Inicialmente, o HPV se replica junto com as células basais do hospedeiro e mantém um número constante de cópias de seu DNA, enquanto a expressão dos genes iniciais (E) (responsáveis principalmente pela replicação e transcrição viral) é limitada (DELLA FERA et al., 2021). À medida que os queratinócitos do paciente se dirigem para a camada superior do epitélio (onde param de se replicar e começam a se diferenciar), a expressão dos genes iniciais do HPV aumenta e o DNA do HPV replica-se rapidamente até atingir mil cópias por célula. Em células hospedeiras diferenciadas nas camadas superiores, ocorre a expressão de genes tardios do HPV (L) (formando as proteínas do capsídeo viral L1 e L2) e os vírions de HPV se montam e são liberados. Todo o ciclo de vida viral dura pelo menos 3 semanas, e ocorre completamente de forma intraepitelial (ALBERT; LAIMINS, 2020).

O HPV não causa citólise ou morte celular e é liberado apenas de queratinócitos totalmente diferenciados que descamariam e morreriam. Além disso, o HPV inibe a síntese e liberação de citocinas das células infectadas. Com essa inibição, evita efetivamente a ativação das cascatas inflamatórias, incluindo a ativação das células de Langerhan e das células dendríticas por um período prolongado. O fato de o HPV ser liberado apenas da superfície do epitélio onde há escassa drenagem linfática ou sanguínea também explica o atraso no início da resposta imune e a falta de viremia (EGAWA et al., 2015; GRAHAM, 2010; STANLEY, 2012).

É um vírus sexualmente transmissível, o HPV, com relação bem estabelecida com neoplasias, especificamente com cânceres envolvendo o aparelho anogenital (cervical, vaginal, vulvar, peniano e anal) e a cabeça e o pescoço (PALEFSKY, 2024). Dos estimados 12,7 milhões de novos cânceres ocorridos em 2008 em todo o mundo, 4,8% foram atribuíveis à infecção pelo HPV (BOSCH et al., 2013). Dentre as infecções sexualmente transmissíveis o HPV é o agente etiológico mais comum em todo o mundo, causando aproximadamente 5% de todos os cânceres em homens e 10% de todos os cânceres em mulheres (LEHTINEN; DILLNER, 2013). A associação entre os genótipos do HPV com risco de câncer é variável. O HPV 16 é o tipo mais comum associado ao câncer anal (FRISCH et al., 1997). No entanto, a gama de genótipos do HPV associados a essa neoplasia parece depender se ocorre ou não coinfeção com o vírus HIV (PALEFSKY, 2024).

1.2 HPV E O CÂNCER DE CANAL ANAL

O Papilomavírus humano (HPV) é associado com o aumento do número de cânceres, principalmente de câncer anal e cervical, responsável por mais de 99% dos casos (MARIANI et al., 2017). Acredita-se também ser responsável por cerca de 70% dos cânceres vaginal e vulvar e de orofaringe, e mais de 60% dos cânceres de pênis (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC), 2012).

A biologia do HPV é bem estudada e sua relação com a malignidade bem estabelecida, principalmente com cânceres envolvendo o trato anogenital. A neoplasia anal causada pelo HPV pode manifestar-se como doença pré-invasiva (lesões intraepiteliais escamosas de alto grau [HSIL]) ou invasiva (câncer anal) (PALEFSKY; BRICKMAN, 2023). As lesões pré-invasivas também podem ser classificadas como neoplasia intraepitelial anal (NIA) 2 (dois terços inferiores do epitélio afetado) ou 3 (todo epitélio afetado) (BERRY et al., 2014) (Figura 1).

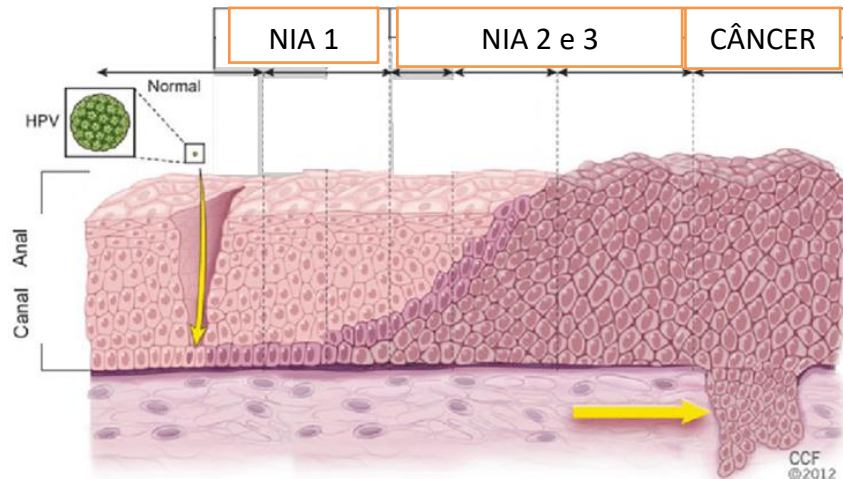


Figura 1 - Classificação da neoplasia intraepitelial anal **Fonte:** Cleveland Clinic Center for Medical Art & Photography©, 2015.

Os HPVs de alto risco (HR HPV) são vírus tumorais que expressam oncogenes virais (proteínas precoces E5, E6 e E7), que reagem com inúmeras proteínas celulares, como as proteínas supressoras de tumor p53 (E6) e pRB (E7). Além disso, o HR-HPV pode ser incorporado ao genoma celular e desta forma aumentar a expressão dos oncogenes do HPV. Esta alteração gerada pelo HPV leva à inativação dos *checkpoints* do ciclo celular, ao aumento da proliferação celular, ao aumento da instabilidade genética e, finalmente, à imortalização de células HPV-positivas (BERNARDI et al., 2015; DELLA FERA et al., 2021; PALEFSKY; BRICKMAN, 2023).

As oncoproteínas E6 e E7 também induzem mecanismos de evasão imune e desta forma facilitam o estabelecimento de infecções persistentes pelo Papilomavírus (BERNARDI et al., 2015). O principal fator de risco para NIA e câncer anal é uma infecção persistente por HR-HPV, em que o HPV 16 desempenha um papel excepcional devido ao seu alto potencial oncogênico (LIN; FRANCESCHI; CLIFFORD, 2018).

O SIL anal e outras manifestações histopatológicas da infecção pelo HPV são mais comumente detectados na zona de transição anal (ZTA), onde o epitélio colunar retal e o epitélio escamoso anal se encontram (PALEFSKY, 1994). (Figura 2).

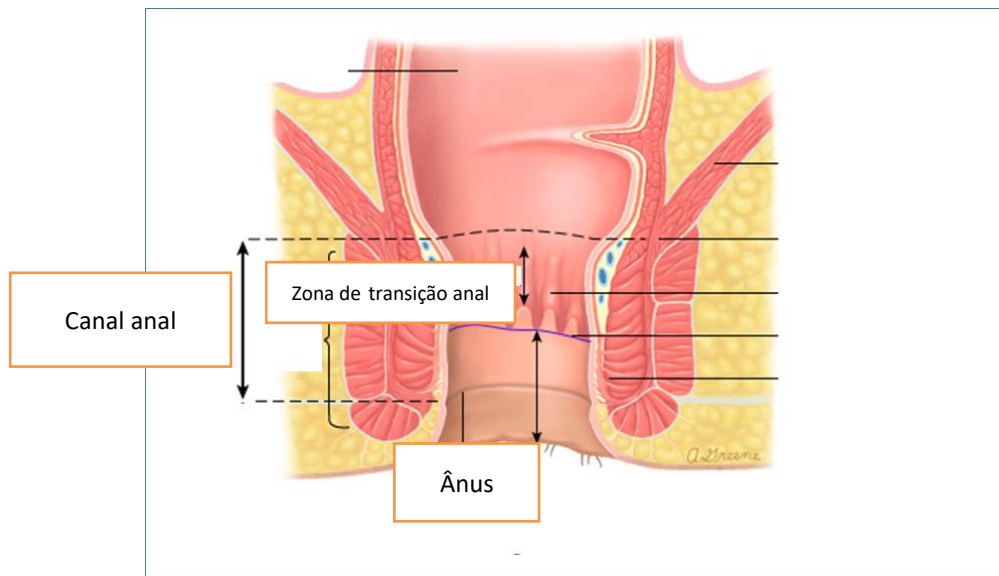


Figura 2 - Anatomia do ânus e do reto. *Fonte: Gráfico 62539 Versão 16.0 © UpToDate, 2022.*

O canal anal situa-se no fim do trato alimentar nos 3,5 a 4 cm distais. É separado em duas metades pela linha pectínea, cada parte tem uma origem embrionária distinta. A metade distal do canal anal é constituída pela anoderme, uma forma modificada da pele, que recebe inervação somática, tornando esse segmento sensível a estímulos dolorosos. Já a metade proximal é constituída de epitélio colunar, semelhante à mucosa do reto. Essa última recebe inervação autônoma, sendo insensível a estímulos dolorosos. O reto é a continuação do cólon sigmoide que leva ao canal anal (STEWART, 2024).

As neoplasias anais incluem os cânceres de células escamosas (CCS), adenocarcinoma (derivado das criptas anais), tumores neuroendócrinos e melanoma. O CCS é de longe o câncer anal mais comum (SPANOS, 2022). O câncer de células escamosas deve ser distinguido dos carcinomas basais celulares da pele perianal, esses últimos classificados como cânceres de pele. Tumores que surgem dentro do canal anal acima da linha pectínea são denominados CCSs não queratinizantes, enquanto aqueles que surgem dentro do canal anal distal e abaixo dela são CCSs queratinizantes. Os adenocarcinomas decorrentes de elementos glandulares dentro do canal anal são raros (WILLET; ENG, 2024).

1.3 EPIDEMIOLOGIA

O câncer anal representa 2% de todos os cânceres (VALVO et al., 2019). Apesar de pouco frequente em relação a outras neoplasias, sua incidência vem aumentando entre homens e mulheres nas últimas décadas. Publicações mostram que, principalmente entre as

mulheres, a taxa de incidência de cânceres do ânus, canal anal e anorretal, em todas as idades, mais do que dobrou (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC), 2012).

Estudos apontam para risco aumentado de câncer anal entre grupos específicos, incluindo pessoas vivendo com HIV, mulheres com histórico de câncer ou lesões intraepiteliais escamosas de alto grau (HSIL) cervical ou vulvar e receptores de transplante de órgãos sólidos (CLIFFORD et al., 2021).

A incidência de câncer anal entre homens que fazem sexo com homens (HSH) e HIV positivo é estimada em 89/100.000 pessoas/ano (CLIFFORD et al., 2021; COLÓN-LÓPEZ et al., 2018). Já entre mulheres HIV positiva a incidência foi de 18,6 a 35,6/100.000 pessoas/ano (DESHMUKH et al., 2020). Os dados de maior prevalência e incidência de infecção por HPV e HSIL anal na população HIV positiva são compatíveis com o elevado risco de câncer anal nessa população (WEI et al., 2021). Comparativamente a incidência de câncer anal na população geral é de 1,6/100.000 pessoas/ano (DESHMUKH et al., 2020).

O HSIL anal pode progredir para câncer anal invasivo (PALEFSKY; BRICKMAN, 2023). Em uma meta análise o risco de progressão de HSIL para câncer foi estimado em 265/100.000 pessoas/ano entre HSH HIV positivos (MACHALEK et al., 2012). Uma série retrospectiva de 138 HSH vivendo com HIV, que desenvolveram carcinoma anal durante um período de 15 anos, incluiu 72 homens que desenvolveram câncer anal durante o período de observação. Desta população, 37,5 % dos casos (27 homens) o câncer desenvolveu-se de um local previamente biopsiado para HSIL (BERRY et al., 2014). A prevenção secundária de câncer anal em grupos de risco tem sido recomendada para a redução do risco de progressão da doença (PALEFSKY et al., 2022).

1.4 DIAGNÓSTICO

As lesões anais pré-invasivas, conhecidas como lesões intraepiteliais escamosas de alto grau (HSIL), tipicamente são assintomáticas, podendo em alguns casos apresentarem prurido, irritação, sangramentos e tenesmo, além da presença de verrugas ano genitais. O diagnóstico de HSIL anal requer o exame histopatológico de citologia e/ou biópsia das amostras anais (PALEFSKY; BRICKMAN, 2023).

Há evidências indiretas que apoiam benefício de testes de rastreamento para detecção precoce e tratamento de HSIL anal em populações de alto risco (CHIAO et al., 2006). A citologia anal e a detecção de HPV geralmente são indicados em homens e mulheres que

praticam relação sexual anal receptiva ou possuem condiloma na região perianal (ESSER et al., 2015). Isso é especialmente importante em pacientes com imunossupressão de qualquer causa e em pacientes HIV-positivo independentemente de seu estado imunológico (REPISO JIMÉNEZ et al., 2017).

Como já citado, as lesões pré-invasivas não são sintomáticas e não se apresentam no exame físico de rotina. Assim, tem-se apoiado testes de rastreamento, em populações de risco, usando a citologia como triagem inicial. Aqueles com rastreamento positivo, ou seja, citologia anormal, devem então ser referenciados para a realização do exame de alta resolução do canal anal (HRA), onde áreas suspeitas serão identificadas e biopsiadas (PALEFSKY; BRICKMAN, 2023). O HRA refere-se ao exame do canal anal com o uso de um colposcópico para iluminação e ampliação da lesão, após a aplicação de ácido acético a 5% e soluções de iodo lugol para identificá-las. Assim, amostras de biópsia para avaliação histopatológica são obtidas (HILLMAN et al., 2016).

Não há consenso sobre o momento para o início do rastreamento do câncer de canal anal. Como a incidência da neoplasia é baixa entre pessoas imunossuprimidas com menos de 25 anos e imunocompetentes com menos de 40 anos, geralmente adia-se a triagem de pessoas vivendo com HIV e aquelas imunossuprimidas por outras causas até depois dos 25 anos. Assim como adia-se o rastreamento de pessoas imunocompetentes de risco até depois dos 40 anos de idade (PALEFSKY; BRICKMAN, 2023).

A frequência de testes também não está estabelecida, sendo realizada por muitos especialistas a cada 2 ou 3 anos em imunocompetentes de risco e anualmente em pessoas vivendo com HIV (PALEFSKY; BRICKMAN, 2023).

Outra forma de diagnosticar lesões pré-neoplásicas de canal anal seria através de testes moleculares. A detecção de DNA do HPV de alto risco (DNA HR-HPV), a análise do HPV E6/E7 RNAm (RNAm HPV) e do inibidor quinase dependente de ciclina 2A (CDKN2A), mais conhecido como p16 INK4A (p16) são exemplos de testes diagnósticos moleculares (SONG et al., 2019).

O p16 atua como uma proteína supressora de tumor inibindo as quinases dependentes de ciclina (CDK) -4 e -6 (KLAES et al., 2001). Nas neoplasias associadas ao HPV a oncoproteína viral E7 aumenta indireta e substancialmente a transcrição do p16 em células proliferantes, resultando em uma forte super expressão sem ação supressiva do tumor (KOERBER et al., 2014). A super expressão do p16 permite a identificação precisa da transformação neoplásica associada ao HPV, como demonstrada em vários estudos (VON KNEBEL DOEBERITZ et al., 2012).

Ocorre que o benefício destes testes sobre a citologia anal ainda não foi estabelecido em grupos de risco como por exemplo: HSH e HSH vivendo com HIV, sendo assim, seu uso ainda não está recomendado (PALEFSKY; BRICKMAN, 2023).

1.5 JUSTIFICATIVA

O câncer anal representa 2% de todos os cânceres e sua incidência é crescente em homens e mulheres. A aplicação de técnicas para rastreamento de neoplasias permitiu a diminuição da incidência de cânceres, como por exemplo o carcinoma de colo uterino de 40/100 mil mulheres para 8/100 mil mulheres em todo o mundo. Cabe ressaltar que o diagnóstico precoce de câncer anal invasivo cursa com resultados favoráveis. Porém os métodos de aquisição do tecido da mucosa anal para estudo histológico são invasivos e requerem experiência profissional específica. Por ser uma região muito vascularizada e sensível, a retirada de material do canal anal é um ato doloroso e pode levar a sangramento. Estes fatores podem ser responsáveis pela má aderência dos pacientes a exames periódicos preventivos ao longo prazo.

Os testes moleculares DNA HR HPV, RNAm HPV E P16 necessitam de técnica menos invasiva por meio da coleta do *SWAB* da mucosa anal. Este procedimento tem a vantagem de ser mais tolerado pela população de risco e proporcionar maior aderência durante o acompanhamento preventivo.

A literatura ainda não apresenta resultados contundentes em favor da substituição destes testes moleculares em comparação aos testes tradicionais citados anteriormente. Assim, o presente estudo tem como objetivo avaliar a acurácia de testes de rastreamento molecular (DNA HPV de alto risco, RNA mensageiro e p16) para o diagnóstico de lesões precursoras do câncer de canal anal em população de alto risco para a doença.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Determinar a acurácia dos biomarcadores DNA HPV oncogênico, RNAm HPV e p16 no diagnóstico de lesões precursoras de câncer de canal anal, tendo histopatológico como teste de referência.

2.2 ESPECÍFICOS

- Avaliar a sensibilidade e especificidade do DNA HR HPV no diagnóstico de lesões precursoras de câncer de canal anal.
- Analisar a sensibilidade e especificidade do teste RNAm HPV no diagnóstico de lesões precursoras de câncer de canal anal.
- Determinar a sensibilidade e especificidade do teste p16 no diagnóstico de lesões precursoras de câncer de canal anal.
- Analisar a acurácia por perfil de pacientes (homem que fazem sexo com homens, mulheres com lesão anogenital causada pelo HPV e imunossuprimidos).

3 MÉTODOS

O estudo caracterizou-se por uma revisão Sistemática e seguiu as recomendações do *checklist Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA)* (PAGE et al., 2021). Foi realizado o registro no *International Prospective Register of Ongoing Systematic Reviews (PROSPERO)* (<http://www.crd.york.ac.uk/prospero/>), sob o seguinte protocolo: CRD42015024201.

3.1 PICO

A prática baseada em evidências (PBE) propõe que os problemas clínicos que surgem na prática assistencial, de ensino ou pesquisa, sejam decompostos e, a seguir, organizados utilizando-se a estratégia PICO, representando um acrônimo para População/Pacientes, “*Index test*” (Teste índice), Comparação (Teste de referência) e “*Outcomes*” (desfecho) (DONATO; DONATO, 2019). Sendo assim, esta pesquisa teve a seguinte definição:

P: homens e mulheres rastreados para câncer de canal anal;

I: testes biomarcadores (DNA HR HPV, RNAm HPV e p16);

C: histopatológico;

O: lesões precursoras de câncer de canal anal.

3.2 ESTRATÉGIAS DE BUSCA

A pesquisa foi realizada fazendo-se uma busca exaustiva nos bancos de dados *PubMed, Cancerlit, Lilacs, Scopus, Embase, Medline, Google Scholar, Cochrane Library*, literatura “*Grey*” e lista de referências dos artigos inicialmente identificados, por publicações relevantes até abril de 2022. A seleção dos termos foi realizada pelos descritores do MeSH no MEDLINE e foram definidos como: “*Anal Neoplasm*”, “*Anal Cancer*”, “*Anal Tumor*”, “*AIN*”, “*Anal Cancer*”, “*Screening*”, “*DNA HR HPV*”, “*RNAm HPV*” e “*p16*”. A pesquisa foi limitada para humanos e não houve restrição de idioma ou sexo.

3.3 CRITÉRIOS DE SELEÇÃO DOS ESTUDOS

Estudos observacionais prospectivos nos quais foram comparados os resultados do teste diagnóstico de interesse que foram a identificação da “*DNA HR HPV*”, “*RNAm HPV*” e

“p16” e sua correlação com os achados do anatomopatológicos (teste referência ou padrão-ouro) da região anal em populações específicas (normalidade, NIA ou câncer).

3.3.1 Critérios de inclusão dos estudos

Para critérios de inclusão, em cada estudo foi necessário que contivesse exame anatomopatológico, confirmando ou não a lesão pré-neoplásica / neoplásica. Os testes diagnósticos “DNA HR HPV”, “RNAm HPV” e “p16” (testes em avaliação ou Index test) foram comparados com o resultado anatomopatológico das biópsias.

3.3.2 Critérios de exclusão dos estudos

Foram excluídos estudos com desenhos diferentes do proposto, que não discriminassem se o teste de DNA HPV se referia a HPV de alto risco, nos quais foi utilizada a autocoleta, estudos somente com material histopatológico e somente com casos de câncer.

3.4 SELEÇÃO DE ESTUDOS

3.4.1 Leitura de títulos e resumos

Dois revisores (TATF e ACLM) de forma independente, selecionaram os resumos dos artigos resultantes das pesquisas nas bases de dados. O processo de triagem foi conduzido através do software ‘Rayyan’ (<https://rayyan.qcri.org/>). Um terceiro revisor (MIR) foi responsável por resolver os conflitos na seleção dos estudos incluídos.

3.4.2 Leitura na íntegra dos artigos selecionados

Após triagem dos resumos, os estudos selecionados foram lidos na íntegra por dois revisores (TATF e ACLM) que iriam decidir, de forma independente, sobre a inclusão dos estudos na pesquisa com base nos critérios de inclusão. A inclusão final ou exclusão dos estudos foram feitas de acordo com uma lista de critérios de seleção (“*checklist*”). Um terceiro revisor (MIR) foi responsável por resolver quaisquer discordâncias na seleção dos estudos incluídos.

3.5 EXTRAÇÃO DE DADOS

Dois revisores (TATF e ACLM) de forma independente realizaram a extração dos dados do “DNA HR HPV”, “RNAm HPV” e “p16” (testes em avaliação) e presença de NIA 2 ou 3 ou neoplasia e exame citológico confirmando a lesão. Qualquer discordância foi resolvida por consenso tanto para artigos em inglês como em outro idioma. Os principais desfechos diagnósticos considerados foram: normal, NIA (neoplasia intraepitelial anal) 1 (lesão de baixo grau), NIA 2/ NIA3 (lesão de alto grau) e câncer. Os dados foram tabulados em planilha com informações sobre os estudos como: autor/ ano, país, título e objetivo, delineamento do estudo, critérios de seleção dos participantes, número de participantes, idade, proporção de mulheres incluídas no estudo, uso de esquema antirretroviral para pacientes HIV positivo e demais informações avaliadas de cada estudo incluído.

3.6 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE METODOLOGICA DOS ESTUDOS:

Todos os artigos encontrados foram avaliados conforme os critérios de elegibilidade de qualidade metodológica. Esta avaliação envolveu examinar cada estudo conforme as características da população de pacientes, o teste diagnóstico e o padrão de referência (BOSSUYT et al., 2003; JAESCHKE; GUYATT; SACKETT, 1994; LIJMER et al., 1999).

A avaliação da qualidade metodológica dos estudos de acurácia diagnóstica foi realizada de acordo com critérios do *Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies II* (QUADAS II), modificado para uso pela *Cochrane Collaboration* (na qual itens relacionados com a comunicação e qualidade foram removidos) (REITSMA et al., 2009; WHITING et al., 2003). A versão modificada consiste em 11 itens sobre as características de estudo com o potencial de introduzir viés. Os itens foram classificados como positivos (sem viés), negativo (potencial viés), ou informação insuficiente, categorização essa que contempla o exame do delineamento dos estudos, como os métodos de coleta de dados, as características relevantes da população de pacientes / seleção, uso de ponto de corte pré-definido quanto aos testes em avaliação, além da presença de viés de verificação e intervalo entre as coletas do teste em avaliação e do teste referência (ALTMAN, 1990; BOSSUYT et al., 2003; REITSMA et al., 2009; WHITING et al., 2003).

3.7 SÍNTESE DE DADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para avaliação da concordância entre a elegibilidade de cada estudo e a qualidade metodológica, assim como também a concordância dos testes em avaliação e o resultado anatomopatológico, foram calculadas as porcentagens observadas de concordância através do coeficiente Kappa (ALTMAN, 1990).

A tabela de contingência 2 x 2 foi construída em cada estudo selecionado, separadamente para cada teste em avaliação, onde os resultados das biópsias (histopatológico) foram classificados em positivo ou negativo para neoplasia. Quando na tabela de contingência houve alguma célula contendo “0”, foi adicionado 0,5 a cada uma das células, viabilizando os cálculos. E em casos de mais de duas células com zero, o estudo foi excluído. Quando o histopatológico era positivo e o teste em avaliação positivo identificava-se os verdadeiros positivos (VP). Quando a biópsia era positiva e o teste molecular negativo identificava-se os falsos negativos (FN). Se o histopatológico era negativo e o teste em avaliação negativo identificava-se os verdadeiros negativos (VN) e se a biópsia era negativa e o teste molecular em avaliação positivo identificava-se os falsos positivos (FP).

A sensibilidade, probabilidade de um teste em avaliação positivo nos doentes, foi calculada, baseando-se na tabela de contingência, através do cálculo: $VP / (VP + FN)$. Com a mesma tabela a especificidade, probabilidade de um teste índice negativo nos não doentes, foi calculada: $VN / (VN + FP)$ e também a acurácia, probabilidade de o mesmo teste em avaliação fornecer resultados corretos (positivo para doentes e negativos em não doentes), pelo cálculo: $(VP + VN) / N$ (total de pacientes da tabela). Calculou-se ainda a DOR (*Diagnostic Odds ratio*) obtida pelo produto cruzado da tabela 2x2 ($VP \times VN / FN \times FP$).

Para produzir uma estimativa combinada da sensibilidade e especificidade dos estudos foi realizada uma meta-análise. Foi construída uma curva ROC sumarizada (SROC), por meio do método Moses e Littenberg, a qual relaciona a sensibilidade no eixo das ordenadas e a taxa de falsos positivos ($1 - \text{especificidade}$) no eixo das abscissas. Essa curva apresentou como principais estatísticas a área sob ela (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; PALIWAL, 2006). Já a estatística Q^* representou 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., 2009).

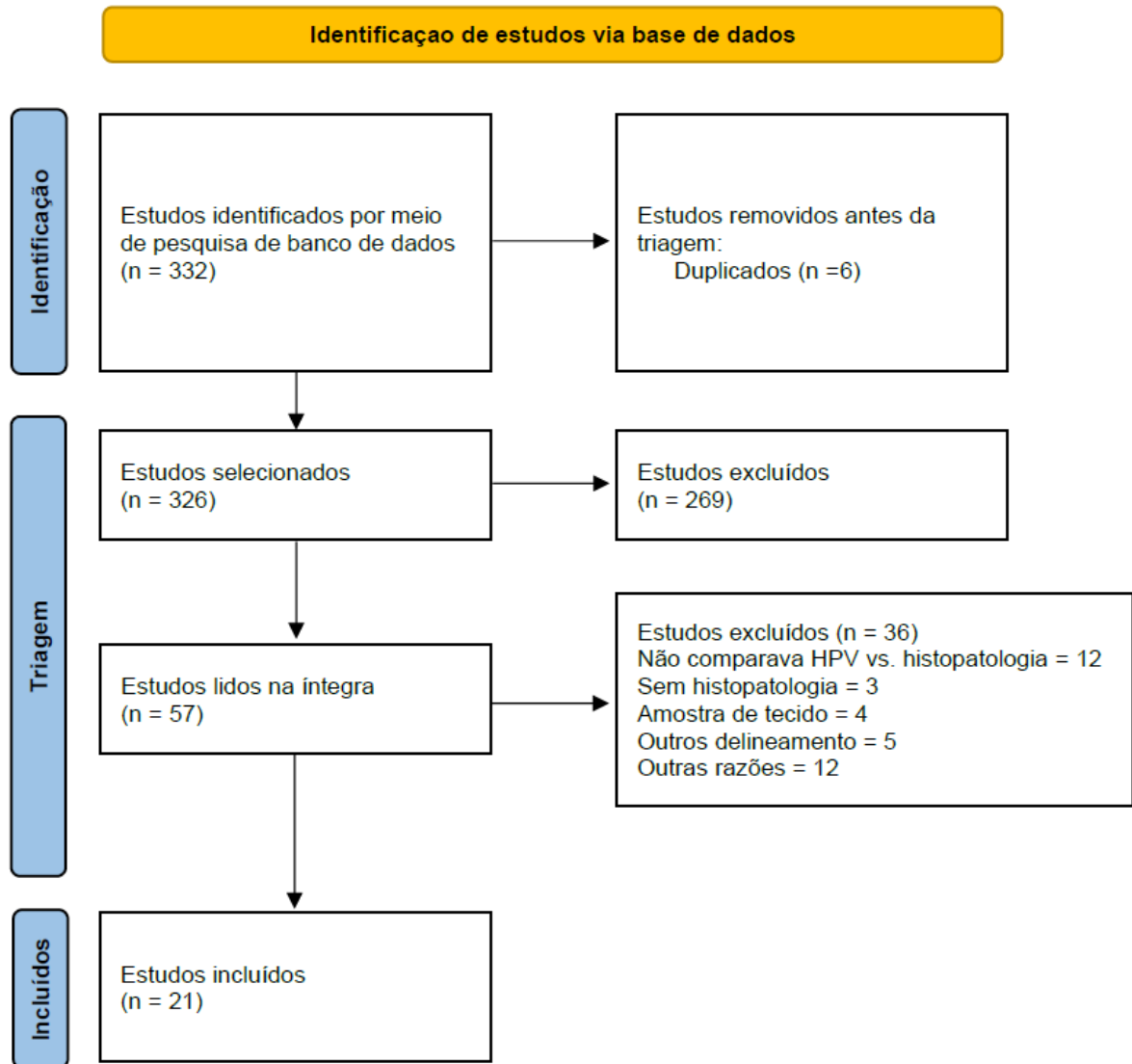
Os cálculos estatísticos foram realizados pelo software Metadisc® (ZAMORA et al., 2006).

A heterogeneidade foi avaliada por meio do cálculo das estatísticas de I-quadrado. Foi considerado heterogeneidade substancial valores de I-quadrado acima de 75% (HIGGINS et al., 2023). 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; ATHANASIOU, 2005).

4 RESULTADOS

Entre os 332 estudos identificados através de buscas em bases de dados e listas de referências, 326 estudos foram para o processo de triagem. Após leitura de títulos e resumo, 269 estudos foram excluídos, restando 57 estudos para leitura na íntegra. Foram excluídos 36 estudos, pelos seguintes motivos: 12 estudos não faziam comparação entre o HPV e histopatologia, três estudos não apresentavam histopatologia, quatro apresentavam outras amostras de tecido, cinco apresentavam outros delineamentos e 12 por outras razões. Dessa forma, 21 estudos primários foram incluídos nas análises (Figura 3) (BARANOSKI et al., 2012; BERTISCH et al., 2013; BURGOS et al., 2017; CASTLE et al., 2013; CHIAO et al., 2020; CLARKE et al., 2019; CLIFFORD et al., 2018; ETIENNEY et al., 2012; GAISA et al., 2021; HIDALGO-TENORIO et al., 2017; JIN et al., 2017; KIMURA et al., 2021; PANKAM et al., 2017; PHANUPHAK et al., 2013; PICHON et al., 2019; SAHASRABUDDHE et al., 2013; SALIT et al., 2010; SENDAGORTA et al., 2015; SERRANO-VILLAR et al., 2017; WALTZ; LECHAGO; BOSE, 2006; WENTZENSEN et al., 2012).

Figura 3 – Fluxograma de seleção de estudos.



Fonte: Do Autor, 2024.

Das principais análises, 20 estudos (BARANOSKI et al., 2012; BERTISCH et al., 2013; BURGOS et al., 2017; CASTLE et al., 2013; CHIAO et al., 2020; CLARKE et al., 2019; CLIFFORD et al., 2018; GAISA et al., 2021; HIDALGO-TENORIO et al., 2017; JIN et al., 2017; KIMURA et al., 2021; PANKAM et al., 2017; PHANUPHAK et al., 2013; PICHON et al., 2019; SAHASRABUDDHE et al., 2013; SALIT et al., 2010; SENDAGORTA et al., 2015; SERRANO-VILLAR et al., 2017; WALTS; LECHAGO; BOSE, 2006; WENTZENSEN et al., 2012) relataram o resultado principal, AIN1- vs. AIN2+, e 10 estudos (ETIENNEY et al., 2012; KIMURA et al., 2021; PHANUPHAK et al., 2013; SAHASRABUDDHE et al., 2013; SERRANO-VILLAR et al., 2017; WALTS; LECHAGO; BOSE, 2006; WENTZENSEN et al., 2012) relataram Normal vs. NIA1+. Um total de 7445 pacientes atendeu aos critérios de inclusão e foram analisados. As principais características dos estudos incluídos são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Características dos 21 estudos incluídos na revisão sistemática.

Autor, ano	País	Critério de Inclusão	Média de Idade (intervalo)	Sexo m/f	Desenho de Estudo	N total	N AIN2+	Biópsia realizada %	Teste de DNA para HPV de alto risco (se presente).	Teste de RNAm HPV (se presente).	Teste de p16 (se presente).
Baranovski et al., 2012	EUA	Mulheres infectadas pelo HIV	40 (22–57)	0/99	coorte	99	8	(Todos HRA)	HC2	-	-
Bertisch et al., 2013	Suíça	Todos os infectados pelo HIV (casos: apenas câncer)	>25	132/23	coorte aninhada	155	41	100	Xmap	-	-
Burgos et al., 2017	Espanha	HSH infectados pelo HIV	40,8 (33–47)	574/0	coorte	574	77	(Todos HRA)	CLART2	-	-
Castle et al., 2013	EUA	HSH infectados pelo HIV	52 (33–79)	334/0	transversal	334	62	(Todos HRA)	LINEAR ARRAY	PreTect HPV-Proofer	-
Chiao, 2020	EUA	Mulheres infectadas pelo HIV	50 (44–55)	0/100	coorte	229	60	100	HC2	Aptima	-
Clarke et al., 2019	EUA	HSH infectados pelo HIV	53 (26–79)	359/0	coorte	359	255	73	Cobas 4800	PreTect HPV-Proofer	CINtecPLUS
Clifford et al., 2018	França	HSH infectados pelo HIV	51 (45–56)	502/0	transversal	502	51	44.8	Cobas 4800	-	CINtecPLUS
Etienney et al., 2012	França	Hemorroidectomia e/ou fissurectomia	47,3 (21–81)	147/153	transversal	300	10	100	PCR	-	-
Gaisa et al.,	EUA	Pacientes do Serviço de Doenças Infecciosas	45 (34–54)	1661/176	transversal	1837	756	99	Cobas 4800	-	-
Jin et al., 2017	Austrália	HSH infectados e não infectados pelo HIV	49 (35–79)	500/0	transversal	500	196	100	Cobas 4800	NucliSENS easyQ HPV	CINtecPLUS
Kimura et al., 2021	Brasil	Pacientes assintomáticos do Serviço de Doenças Infecciosas	49,5 (38–60)	262/102	transversal	364	61	100	Abbott RT HR HPV	-	-
Hidalgo-Tenorio, 2017	Espanha	HSH infectados pelo HIV	36,7 (25–47)	319/0	transversal	319	44	100	LINEAR ARRAY	-	-
Pankam, 2017	Tailândia	HSH infectados e não infectados pelo HIV	29 (24–36)	95/0	transversal	32	22	100	LINEAR ARRAY	-	-

Phanuphak et al., 2013	Tailândia	HSH infectados e não infectados pelo HIV	28,8 (21–35)	246/0	coorte	246	34	100	LINEAR ARRAY	HPV OncoTect	p16INK4a
Pichon et al., 2019	França	Todos - citologia anormal	46,5 (19–70)	19/3	coorte	22	5	100	CLART2	-	CINtecPLUS
Sahasrabuddhe et al., 2013	EUA	HSH infectados pelo HIV	53 (26–79)	342/0	transversal	342	104	100	LINEAR ARRAY	-	-
Salit et al., 2010	Canadá	HSH infectados pelo HIV	44,4 (39–50)	400/0	transversal	400	98	94,6	HC2	-	-
Sendagorta et al., 2015	Espanha	HSH infectados pelo HIV	42 (33–50)	101/0	transversal	101	47	100	CLART	NucliSENS EasyQ	-
Serrano-Villar et al., 2017	Espanha	HSH infectados pelo HIV	39 (29–49)	230/0	transversal	230	68	100	-	-	CINtecPLUS
Walts et al., 2006	EUA	Amostras de tecidos dos arquivos de patologia cirúrgica	45,6 (19–72)	68/10	transversal	78	41	100	-	-	p16 INK4a
Wentzensen et al., 2012	EUA	HSH infectados pelo HIV	53 (26–79)	274/0	transversal	274	78	80,7	Cobas 4800	PreTect HPV-Proofer	CINtecPLUS

Legenda: EUA: Estados Unidos; HIV: Vírus da imunodeficiência humana; HPV: Papilomavírus humano; HRA: Exame de alta resolução do canal anal; PCR: Proteína C Reativa

A Tabela 2 apresenta as tabelas de contingência somadas referentes à amostra completa e HSH vivendo com HIV aplicadas para NIA1- vs. NIA2+, bem como acurácia (sensibilidade, especificidade, AUC, DOR e tabelas de contingência somadas) por biomarcador.

Quinze estudos incluíram participantes com menos de 35 anos de idade, embora dezoito tivessem uma média de idade acima de 35 anos, considerando aqueles que informaram. A maioria eram HSH vivendo com HIV (5123/7445 participantes). Todos os estudos relataram a proporção de sexo e em seis estudos nos quais ambos os sexos foram incluídos, em cinco houve uma pequena proporção de mulheres (9,6%–28%) (BERTISCH et al., 2013; GAISA et al., 2021; KIMURA et al., 2021; PICHON et al., 2019; WALTZ; LECHAGO; BOSE, 2006). Nenhum dos 21 estudos mostrou informações sobre gênero, ou seja, identificação em pessoas do sexo feminino, masculino e de gênero diverso (HEIDARI et al., 2016). No grupo "pessoas vivendo com HIV", no mínimo 74,6% dos pacientes estavam utilizando Terapia Antirretroviral Altamente Ativa. Análises de outros subgrupos de alto risco, como "HSH independentemente do estado de HIV", "pessoas vivendo com HIV independentemente do gênero" e "mulheres com HPV", não foram possíveis, pois poucos estudos estavam disponíveis. Três estudos incluíram mulheres vivendo com HIV e permitiram uma análise do teste de DNA de HPV de alto risco, embora fosse uma amostra pequena (BARANOSKI et al., 2012; CHIAO et al., 2020; GAISA et al., 2021).

Tabela 2 – Tabela de contingência e de acurácia dos testes.

Todos os testes	DNA HR HPV% (IC 95%)	RNA_m HPV% (IC 95%)	HPV 16% (IC 95%)	p16% (IC 95%)
Sensibilidade	92,4 (84,2–96,5)	77,3 (73,2–80,9)	53,3 (35,4–70,3)	68,8 (47,9–84,1)
Especificidade	41,7 (33,9–44,9)	61,9 (56,6–66,9)	71,7 (55,3–83,8)	64,1 (51,0–75,4)
DOR	8,7 (4,6–16,2)	5,52 (4,2–7,1)	2,88 (1,28–4,48)	3,93 (1,12–6,74)
AUC	0,67 (0,63–0,71)	0,78 (0,74–0,82)	0,69 (0,64–0,72)	0,74 (0,70–0,77)
VP	1768	466	230	448
FP	3172	544	649	597
FN	144	142	205	138
VN	1724	898	1394	849
N total	6798	2050	2478	2032
Estudos	20	7	6	8
HSH HIV+				
Sensibilidade	96,8 (89,2–99,1)	79,0 (74,0–83,0)	60,0 (54,0–65,0)	76,0 (49,0–91,0)
Especificidade	32,1 (26,3–38,6)	59,0 (52,0–65,0)	67,0 (54,0–79,0)	65,0 (52,0–76,0)
DOR	14,13 (4,34–45,95)	5,0 (4,0–8,0)	3,0 (2,0–6,0)	6,0 (2,0–17,0)
AUC	0,55 (0,51–0,60)	0,80 (0,76–0,83)	0,62 (0,57–0,67)	0,73 (0,69–0,77)
VP	1315	269	191	249
FP	2550	350	574	405
FN	68	72	131	87
VN	1105	509	940	575
N total	5038	1200	1836	1316
Estudos	12	5	5	5




Legenda: DOR = Diagnostic Odds Ratio; AUC = área sob a curva; VP = verdadeiro positivo; FP = Falso positivo; FN = Falso negativo; VN = Verdadeiro negativo. **Fonte:** Do Autor, 2024

4.1 AVALIAÇÃO DO RISCO DE VIÉS

O QUADAS-2 foi realizado considerando as seguintes categorias: pacientes, índices e testes de referência e "fluxo e timing", conforme resumido na Figura 4.

Figura 4 – Avaliação do risco de viés pela ferramenta QUADAS-2

	Risk of Bias				Applicability Concerns		
	Patient Selection	Index Test	Reference Standard	Flow and Timing	Patient Selection	Index Test	Reference Standard
Baranovski, 2012	+	+	+	+	+	+	+
Bertisch, 2013	+	+	+	+	+	+	+
Burgos, 2017	+	+	+	?	+	+	+
Castle, 2013	+	+	+	?	+	+	+
Chiao, 2020	+	+	+	+	+	+	+
Clarke, 2019	+	+	+	?	+	+	+
Clifford, 2018	+	+	+	?	+	+	+
Etienny, 2012	+	+	+	+	+	+	+
Gaisa, 2021	+	+	+	+	+	+	+
Hidalgo-Tenorio, 2017	+	+	+	+	+	+	+
Jin, 2017	+	+	+	+	+	+	+
Kimura, 2021	+	+	+	+	+	+	+
Pankam, 2017	+	+	+	+	+	+	+
Phanuphak, 2013	+	+	+	+	+	+	+
Pichon, 2019	?	+	+	+	?	+	+
Sahasrabuddhe, 2013	+	+	+	+	+	+	+
Salit, 2010	+	+	+	+	+	+	+
Sendagorta, 2015	+	+	+	+	+	+	+
Serrano-Villar, 2017	+	+	+	+	+	+	+
Walts, 2006	+	+	+	+	+	+	+
Wentzensen, 2012	+	+	+	+	+	+	+

 High	 Unclear	 Low
--	---	---

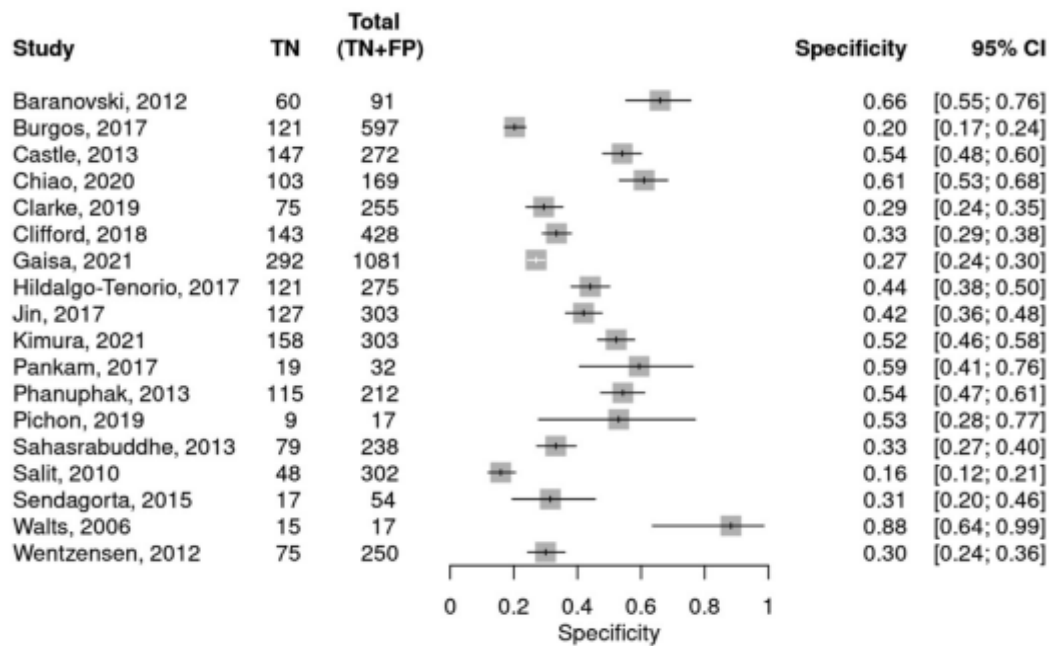
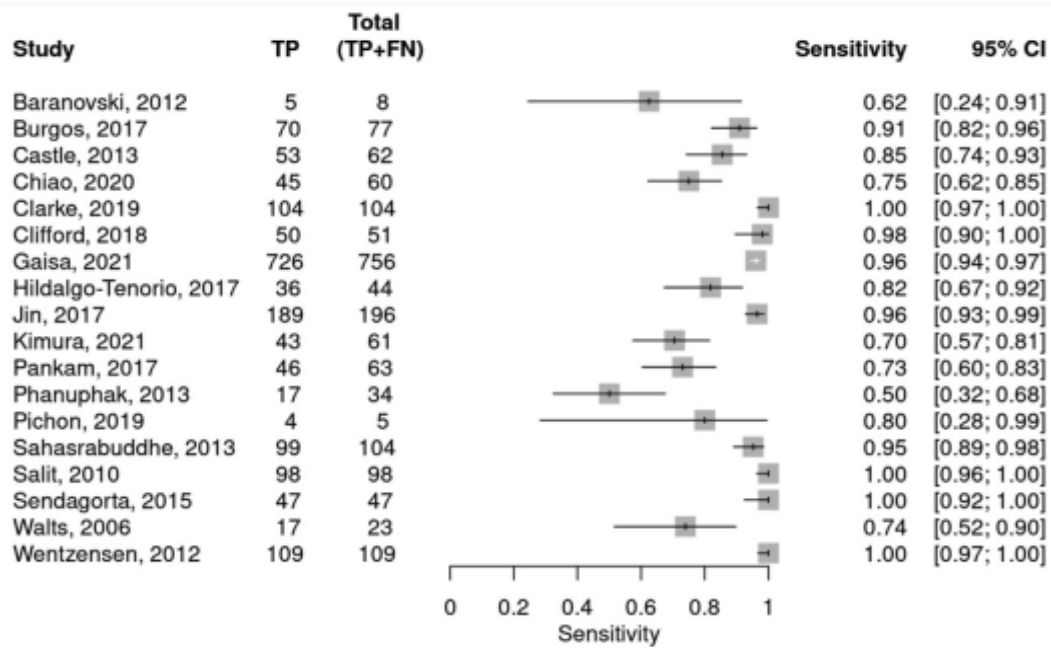
Fonte: Do Autor, 2024.

Para a seleção de pacientes, um estudo foi considerado inadequado porque era uma coorte de citologia de Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado e teve 8% de exclusões causadas por paucicelularidade, introduzindo um risco pontual de "preocupação incerta" de viés. Para o índice e teste de referência, a maioria dos estudos não mencionou o mascaramento dos patologistas e foi classificada como "incerto". No entanto, como todos os outros critérios estavam bem, foi considerado "baixo risco" de viés. Além disso, todos os estudos incluídos usaram um teste histopatológico como referência, e os testes de índice foram claramente citados. Portanto, a "preocupação" com esses itens foi baixa. Para fluxo e *timing*, em quatro dos vinte e um estudos primários, a verificação do exame histopatológico foi parcial, ou seja, pessoas com anuscopia normal não foram biopsiadas, como mostrado na Tabela 1, e foram classificadas como tendo um "risco incerto de viés" e classificadas como "preocupação incerta" de viés (BURGOS et al., 2017; CASTLE et al., 2013; CLARKE et al., 2019; CLIFFORD et al., 2018). Em estudos de coorte, consideramos os resultados iniciais, ou seja, os testes de índice e de referência coletados em um intervalo considerado adequado - até 2 meses entre as amostras de citologia e histopatologia. Todos os estudos foram classificados como "intervalo adequado".

4.2 ACURÁCIA DO TESTE DE DNA HR HPV

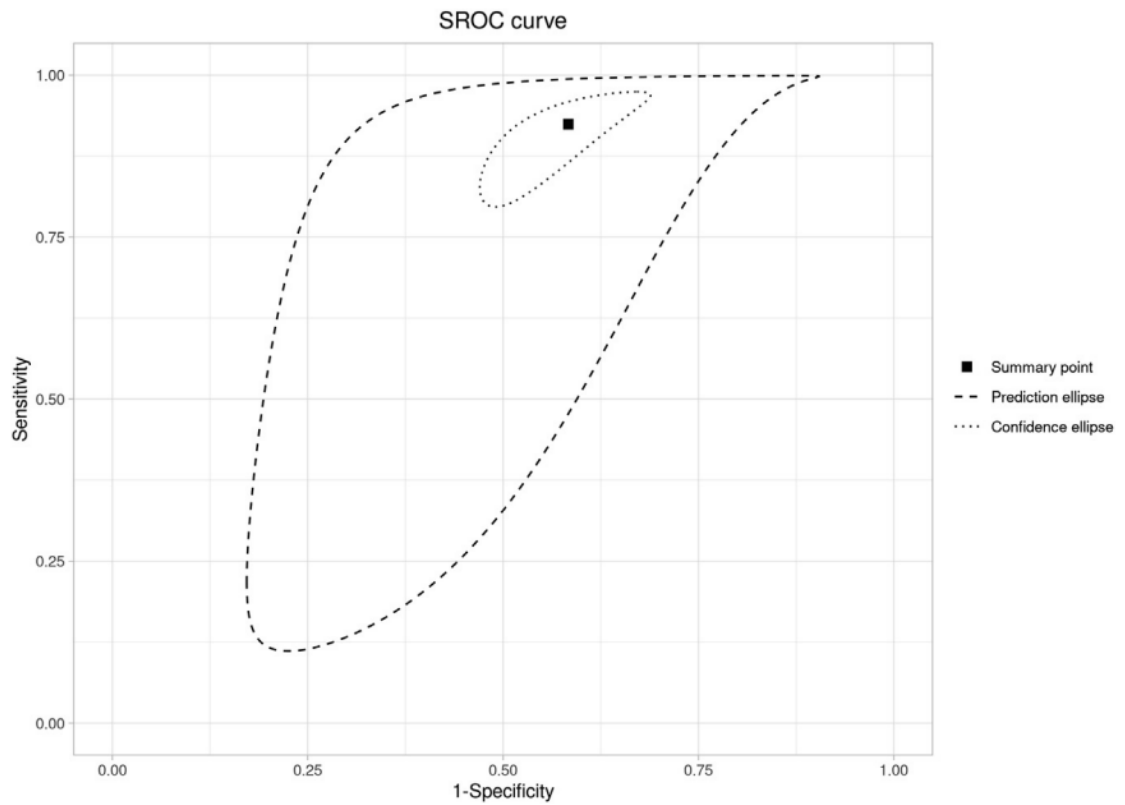
A acurácia do teste de DNA HR HPV é previamente apresentada na Tabela 2 (BARANOSKI et al., 2012; BURGOS et al., 2017; CASTLE et al., 2013; CHIAO et al., 2020; CLARKE et al., 2019; CLIFFORD et al., 2018; ETIENNEY et al., 2012; GAISA et al., 2021; HIDALGO-TENORIO et al., 2017; JIN et al., 2017; KIMURA et al., 2021; PANKAM et al., 2017; PHANUPHAK et al., 2013; PICHON et al., 2019; SAHASRABUDDHE et al., 2013; SALIT et al., 2010; SENDAGORTA et al., 2015; WALTERS; LECHAGO; BOSE, 2006; WENTZENSEN et al., 2012). O gráfico de floresta da análise principal (teste de DNA HR HPV, "todos juntos" pacientes) é mostrado na Figura 5 e a curva SROC na Figura 6. Nesta revisão sistemática, foram identificados cinco testes principais, sendo os mais frequentes: 5 estudos COBAS 4800® (Roche - PCR-RT); cinco, Linear Array HPV Genotyping® (Roche) - PCR e hibridização; três, CLART® 1 ou 2 (Genomica - PCR); e três, Hybrid Capture® 2 (QIAGEN - hibridização líquida). Quando se tratava de uma técnica de genotipagem, todos os genótipos de HR eram considerados juntos.

Figura 5 - Gráfico de floresta da análise - teste: HR DNA HPV, amostra: pacientes “todos juntos”, resultado: NIA1- vs. NIA2+.



Fonte: Do Autor, 2024

Figura 6 - Curva SROC da análise - teste: HR DNA HPV, amostra: pacientes “todos juntos”, resultado: NIA1- vs. NIA2+.



Legenda: Nota de rodapé: HSROC: curva receptor-operador de resumo hierárquico; AUC: área sob a curva; SE (AUC): Erro Padrão (AUC); SE (Q*): Erro Padrão (Q*). **Fonte:** Do Autor, 2024

4.3 ACURÁCIA DO TESTE RNAm HPV

Anteriormente, na tabela 2, estão presentes as informações sobre a acurácia dos testes de RNAm HPV (CASTLE et al., 2013; CHIAO et al., 2020; CLARKE et al., 2019; JIN et al., 2017; PHANUPHAK et al., 2013; SENDAGORTA et al., 2015; WENTZENSEN et al., 2012). Diferentes técnicas estão disponíveis, baseadas na identificação da transcrição do mRNA do HPV, principalmente dos oncogenes E6 e E7. Nesta revisão sistemática, foram identificados quatro testes: três estudos aplicaram o PreTect HPVProofer® (NorChip AS), um ensaio multiplex em tempo real que utiliza amplificação baseada em sequência de ácido nucleico (NASBA), um sistema de amplificação sensível baseado em transcrição (TAS) para a replicação específica *in vitro* do RNAm; e dois NucliSens EasyQ HPV® (BioMérieux), que se baseiam no ensaio original PreTect Proofer com a adição da plataforma de hardware NucliSENS e do software para medições e análise de dados de NASBA, ambos identificando os mesmos cinco tipos de HPV mais frequentemente reconhecidos (JEANTET et al., 2009). Apenas um estudo utilizou o OncoTect® (IncellDxTM, Inc.), que combina duas técnicas, chamadas hibridização *in situ* e citometria de fluxo (PHANUPHAK et al., 2013), e um estudo utilizou o Aptima® (Hologic Gen-Probe, San Diego, CA, EUA), um ensaio de amplificação-alvo que utiliza amplificação mediada por transcrição (TMA) para a detecção qualitativa do mRNA policistrônico viral E6/E7 de 14 tipos de HPV de alto risco (HAEDICKE; IFTNER, 2016).

4.4 ACURÁCIA DO TESTE DE COLORAÇÃO p16

A p16 ou p16INK4a é uma proteína que retarda a divisão celular, agindo assim como um supressor tumoral e que pode ser superexpressa em células cervicais ou anais. Seis estudos aplicaram o ensaio CIntec PLUS® (Roche Diagnostics), (CLARKE et al., 2019; CLIFFORD et al., 2018; JIN et al., 2017; PICHON et al., 2019; SERRANO-VILLAR et al., 2017; WENTZENSEN et al., 2012) um teste imunocitoquímico de dupla coloração que detecta as proteínas p16 e Ki-67, e quatro estudos aplicaram coloração imunohistoquímica de p16 de outros fabricantes, sendo que um deles estava associado ao Ki-67. A acurácia do teste de coloração p16 é apresentada na Tabela 2 (CLARKE et al., 2019; CLIFFORD et al., 2018; JIN

et al., 2017; PHANUPHAK et al., 2013; PICHON et al., 2019; SERRANO-VILLAR et al., 2017; WALTZ; LECHAGO; BOSE, 2006; WENTZENSEN et al., 2012).

4.4.1 Acurácia do teste DNA HPV16

Oito estudos apresentaram testes de HPV para o HPV16 separadamente, sem predominância de técnicas (BERTISCH et al., 2013; BURGOS et al., 2017; CASTLE et al., 2013; CLIFFORD et al., 2018; KIMURA et al., 2021; PHANUPHAK et al., 2013; WENTZENSEN et al., 2012). Três deles apresentaram a acurácia do DNA HPV16 associada ao DNA HPV18 (BURGOS et al., 2017; KIMURA et al., 2021; PHANUPHAK et al., 2013) previamente demonstrados na Tabela 2.

4.5 ANÁLISE DE SENSIBILIDADE

Foi realizada análise de sensibilidade para validar a credibilidade dos resultados e investigar as fontes de heterogeneidade. A heterogeneidade dos estudos e seu impacto na análise agrupada foram feitos excluindo estudos individuais e observando o impacto nos resultados ou separando em subgrupos, de acordo com:

1. Verificação completa ou parcial: Discriminando pela verificação completa do teste de referência ou verificação parcial, identificamos que todos os pacientes foram biopsiados em 12 estudos, enquanto em 4 estudos não foram (Tabela 1) (BURGOS et al., 2017; CASTLE et al., 2013; CLARKE et al., 2019; CLIFFORD et al., 2018). No grupo de amostra completamente biopsiada, o desempenho foi semelhante aos resultados "todos juntos": a sensibilidade agrupada do DNA HR HPV foi de 94,6% (IC 95% 94,6–94,6) e a especificidade agrupada foi de 39,7% (IC 95% 39,5–39,8). O DOR foi de 11,537 (IC 95% 11,42–11,65).

2. Diferentes testes no mesmo "grupo de testes": As análises foram realizadas discriminando por teste para DNA HR HPV, mas não foi identificada diferença significativa (dados não mostrados, disponíveis com os autores). Para RNAm HPV, comparando com e sem Chiao, 2020, que usou Aptima®, a sensibilidade foi de 77,3% (IC 95% 73,2–80,9) para 77,5% (IC 95% 73,0–81,4) e a especificidade de 61,9% (IC 95% 56,6–66,9) para 61,1% (IC 95% 55,1–66,6), respectivamente. Como anteriormente citado, esta marca usa uma técnica diferente. Para p16, foi realizada uma subanálise apenas de estudos que utilizaram o ensaio CINtec PLUS® e

mostrou uma sensibilidade discretamente maior de 76,5% (IC 95% 51,9%–90,8%) e especificidade mais baixa de 58,4% (IC 95% 47,7%–68,4%), DOR 4,57 (IC 95% 1,28–7,86) (CLARKE et al., 2019; CLIFFORD et al., 2018; JIN et al., 2017; PICHON et al., 2019; SERRANO-VILLAR et al., 2017; WENTZENSEN et al., 2012).

3. Risco incerto de viés: Subanálises excluindo estudos avaliados como tendo risco incerto de viés não mostraram diferença (dados não mostrados, disponíveis com os autores).

4. Estudos estimados como outliers com base no gráfico de floresta representado na Figura 5, selecionados por inspeção.

Realizamos análises de sensibilidade removendo estudos estimados como outliers com base no gráfico de floresta representado na Figura 3. Os outliers foram selecionados por inspeção dos gráficos de floresta. Considerando a população "como um todo", após a exclusão de cada estudo outlier, a sensibilidade e a especificidade foram, respectivamente:

- Para testes de DNA HR HPV: antes das exclusões, 92,4% (IC 95% 84,2–96,5) e 41,7% (IC 95% 33,9–44,9); Phanuphak 2013 excluído, 93,3% (IC 95% 86,2–96,8) e 41,1% (IC 95% 32,9–49,8); Salit, 2010 excluído, 90,0% (IC 95% 82,4–95,5) e 43,6% (IC 95% 36,1–51,4); Baranovski, 2012 excluído, 93,3% (IC 95% 85,5–97,0) e 40,2% (IC 95% 32,6–48,3).

- Para testes de RNAm HPV: antes das exclusões, 77,3% (IC 95% 73,2–80,9) e 61,9% (IC 95% 56,6–66,9); Phanuphak 2013 excluído, 78,3% (IC 95% 73,7–82,3) e 62,7% (IC 95% 56,8–68,3); Chiao, 2020 excluído, 77,5% (IC 95% 73,0–81,4) e 61,1% (IC 95% 55,1–66,6).

- Para testes de p16: antes das exclusões, 49,7% (IC 95% 31,3–68,1) e 74,3% (IC 95% 58,6–85,5); Phanuphak 2013 excluído, 54,3% (IC 95% 34,9–72,4) e 73,2% (IC 95% 54,4–86,2); Kimura, 2021 excluído, 58,0% (IC 95% 45,3–70,1) e 68,1% (IC 95% 55,8–78,3).

As estimativas da acurácia do teste diagnóstico foram alteradas significativamente apenas no estudo Kimura, 2021, para testes de p16, aumentando a sensibilidade, provavelmente porque eles usaram biópsia aleatória no método quando não havia lesão na HRA. Para DNA HR HPV, não houve diferença significativa (sensibilidade 93,2% e especificidade 41,2%) e RNAm não foi aplicado neste estudo.

4.6 ANÁLISES QUANTITATIVAS DE HETEROGENEIDADE

As diferentes medidas de heterogeneidade mostraram alta variabilidade. As variâncias da sensibilidade e especificidade variaram de 0,011 (testes de RNAm HPV) a 2,708 (testes de DNA HR HPV) e de 0,473 (testes de DNA HR HPV) a 0,901 (testes de DNA HPV16), respectivamente. O I2 bivariado variou de 0,700 a 0,920, e a área da elipse de predição de 95% variou de 6,0% (testes de RNAm HPV) a 62,9% (testes de DNA HR HPV).

4.7 INVESTIGAÇÃO DE VIÉS DE PUBLICAÇÃO

O teste de Deeks para assimetria do gráfico de funil foi avaliado e mostrou que não houve viés de publicação, com valores de p variando de 0,1501 (testes de RNAm HPV) a 0,7755 (testes de DNA HR HPV) (Tabela 3).

Tabela 3- Teste de Deeks para assimetria no gráfico de funil

Amostra: Em conjunto NIA1- vs. NIA2+	Resultado do teste	Graus de liberdade	Valor p	Variância heterogeneidade residual multiplicativa (τ^2)
DNA HR HPV	0,29	16	0,7755	392,4716
RNAm HPV	-1,70	5	0,1501	34,1501
DNA HPV16	0,64	5	0,5532	258,3836
p16	-1,48	3	0,2349	145,6900

Fonte: Do Autor, 2024

5 DISCUSSÃO

A presente revisão sistemática determinou a acurácia dos biomarcadores DNA HR HPV (sensibilidade: 92,4% e especificidade: 41,7%), RNAm HPV (sensibilidade: 77,3% e especificidade: 61,9%) e p16 (sensibilidade: 68,8% e especificidade: 64,1%) para o rastreamento de câncer anal. Foram incluídos na análise 21 estudos primários, totalizando 7445 pacientes.

O câncer anal apresenta semelhanças com o câncer de colo uterino, no aspecto histológico e na associação com o HPV. A etiologia comum entre carcinogênese anal e cervical levou a proposta do rastreamento do câncer anal em populações de alto risco usando estratégias adaptadas da prevenção do câncer do colo do útero. O aumento da incidência de NIA2+ e câncer de canal anal traz a necessidade de triagem para detecção precoce e intervenção terapêutica (DARRAGH; WINKLER, 2010).

A crescente incidência do câncer anal em alguns grupos apoia o estudo de programas de triagem em populações de alto risco, especialmente em homens HIV positivo que fazem sexo com homens. Testes atuais de diagnóstico utilizam a citologia anal e anoscopia de alta resolução com biópsia. Barreiras significativas para estabelecer programas de triagem de câncer anal incluem o pequeno número de profissionais de saúde realizando anoscopia de alta resolução (SMYCZEK et al., 2013).

A progressão da neoplasia intraepitelial anal 2+ varia substancialmente de acordo com fatores do hospedeiro, sendo o status imunológico um dos principais determinantes. Indivíduos imunocomprometidos, como aqueles vivendo com HIV, apresentam uma maior probabilidade de progressão para câncer anal devido à capacidade reduzida do sistema imunológico em controlar a infecção pelo HPV (PALEFSKY et al., 2022). O comprometimento do sistema imunológico nesses pacientes facilita a persistência do HPV de alto risco e a evolução das lesões pré-cancerosas. Além do status imunológico, outros fatores, como a coinfeção com outras doenças sexualmente transmissíveis, hábitos de vida, e a carga viral do HPV, também influenciam significativamente o risco de progressão (PALEFSKY et al., 2022).

Descobertas recentes do ensaio ANCHOR (*Anal Cancer/HSIL Outcomes Research*) demonstram que a detecção e o tratamento de pré-cânceres anais podem reduzir o risco de câncer anal em indivíduos HIV positivo (PALEFSKY et al., 2022).

O rastreio e o tratamento eficazes de lesões cervicais diminuem drasticamente a mortalidade por câncer do colo do útero (ARBYN et al., 2020), mas, para alcançá-lo, a

incidência de câncer na população rastreada deve ser suficientemente alta e o teste de rastreamento precisa ser suficientemente preciso (WENTZENSEN et al., 2017). A eficácia de um teste de rastreamento depende da sua precisão, medindo-se pela sensibilidade e especificidade, e da sua aceitação entre os pacientes, que influencia diretamente a adesão ao programa de rastreamento. Um teste eficaz deve ser capaz de identificar a doença em estágios iniciais, minimizando tanto os falsos negativos quanto os falsos positivos, e ser bem tolerado pelos indivíduos, garantindo uma participação ampla e consistente nos programas de rastreamento.

Biomarcadores como p16INK4 e a detecção do DNA do HPV de alto risco vem sendo elencados como potenciais para a identificação precoce de lesões anais pré-cancerosas e cancerosas. Esses biomarcadores já demonstraram alta eficácia no rastreamento de neoplasia intraepitelial cervical de alto grau, e a sua aplicação no contexto anal mostra-se promissora, potencialmente permitindo uma abordagem integrada e mais eficaz para a prevenção do câncer anal (DARRAGH et al., 2012; HEARD et al., 2015; MACHALEK et al., 2012).

O teste RNAm HPV se baseia na identificação do RNAm viral, oferecendo uma ferramenta diagnóstica mais precisa, devido à sua capacidade de diferenciar entre infecções latentes e aquelas que apresentam um risco real de progressão neoplásica (CUSCHIERI; WENTZENSEN, 2008).

No presente estudo os testes RNAm HPV apresentaram melhor desempenho com AUC de 0,78, sensibilidade de 77,3% e especificidade de 61,9%. Quando analisado apenas HSH HIV positivo o desempenho melhorou com AUC de 0,80 e sensibilidade de 79,0% e com uma especificidade de 59,0%.

A detecção do biomarcador DNA HR HPV já demonstrou ser eficaz no rastreamento de neoplasia intraepitelial cervical (NIC). Uma revisão Cochrane publicada em 2017 comparou a precisão do teste de HPV e citologia cervical para detecção de NIC2+ e NIC3+ em mulheres que participavam de rastreio de cancer do colo do útero e que não estavam acompanhadas de anormalidades citológicas anteriores (KOLIOPOULOS et al., 2017). Para a detecção de NIC2+, a sensibilidade dos testes baseados em DNA do HPV foi maior do que de métodos citológicos (sensibilidade relativa combinada, 1,35; IC 95%, 1,23–1,48) e para a detecção de NIC3+, a sensibilidade relativa agrupada foi de 1,37 (IC 95%, 1,20–1,55). A aplicação do teste DNA HR HPV transportando para o contexto anal, por sua superior sensibilidade, mostra-se promissora.

Na presente análise, os testes de DNA HR HPV apresentaram resultados favoráveis, com sensibilidade de 92,4% e especificidade de 41,7%. Esse mesmo teste aplicado na população HSH HIV positivo desta revisão sistemática mostrou valores de sensibilidade de 96,8% e de especificidade de 32,1%, respectivamente.

O HPV pode causar infecção transitória ou aquela que terá progressão neoplásica. Isso é importante para entender a baixa especificidade do DNA HR HPV. Esse teste busca a presença do vírus HPV HR (que pode ser transitória e eliminada pelo sistema imunológico sem causar danos celulares significativos) e não necessariamente infecções pelo HPV que evoluirão para lesões de alto grau ou câncer. Por isso a simples detecção do DNA viral não distingue infecções temporárias daquelas que irão progredir para o câncer (SCHIFFMAN et al., 2007). Portanto, enquanto o teste de DNA HR HPV é altamente sensível e útil para o rastreamento inicial, sua especificidade limitada destaca a importância de métodos complementares para confirmar a presença de lesões clinicamente relevantes.

O p16 mostra-se uma ferramenta criteriosa no diagnóstico de lesões cervicais, pois ela se expressa de forma aumentada em células de transformação neoplásica induzida pelo HPV (especificidade em torno de 92%) (WENTZENSEN et al., 2007).

Nessa revisão sistemática o biomarcador p16 apresentou bom desempenho com uma AUC de 0,74 na análise principal, sensibilidade de 68,8% e especificidade de 64,1%. Este valor da área sob a curva indica uma discriminação moderada a boa entre casos positivos e negativos.

O teste de DNA HPV16 apresentou maior especificidade para a análise principal com menor sensibilidade, 71,7% (IC 95% 55,3%–83,8%) e 53,3% (IC 95% 35,4%–70,3%), respectivamente, o que é compreensível considerando que este é o genótipo mais prevalente na era pré-vacina, aproximadamente 80,7% para o câncer anal, e com um alto potencial oncogênico (ALEMANY et al., 2015). Ao apresentar maior especificidade, o teste de DNA específico para o HPV16 indica uma elevada capacidade de identificar corretamente os indivíduos não afetados pela infecção ou lesão cervical causada por esse subtipo viral (CLIFFORD et al., 2005). No entanto, essa elevada especificidade vem acompanhada de uma menor sensibilidade, refletindo uma menor capacidade de detectar todos os casos positivos, ou seja, pode haver uma maior taxa de resultados falsos negativos (CUZICK et al., 2006). Essa característica torna o teste de DNA para HPV16 particularmente útil em contextos em que é necessário minimizar falsos positivos, como em triagens subsequentes ou confirmações

diagnósticas, evitando procedimentos invasivos desnecessários (CLIFFORD et al., 2005). No entanto, a menor sensibilidade sugere que esse teste pode não ser ideal como ferramenta de triagem primária, pois pode deixar de identificar alguns casos de infecção por HPV que, embora menos comuns, ainda podem evoluir para lesões de alto grau e câncer cervical.

Um dos algoritmos mais promissores é o rastreamento primário com o teste de DNA HR HPV, que possui sensibilidade superior, e o uso do teste de RNAm HPV, devido à sua alta especificidade e à possibilidade de realizar o teste com a mesma amostra sem a necessidade de retorno do paciente, visto que a amostra pode ser coletada em dispositivo de citologia em meio líquido (MACEDO et al., 2019). O teste de DNA HR HPV é altamente sensível, permitindo a detecção precoce de quase todas as infecções por HPV que têm o potencial de evoluir para lesões pré-cancerosas ou câncer. Após uma triagem positiva para DNA HR HPV, o teste de RNAm HPV pode ser utilizado para confirmar a infecção clinicamente significativa, devido à sua alta especificidade (CUSCHIERI; WENTZENSEN, 2008). Além disso, a possibilidade de realizar ambos os testes com a mesma amostra evita a necessidade de um retorno do paciente, aumentando a conveniência e adesão ao rastreamento, além de otimizar os recursos de saúde. Arbyn et al., (2018) realizou uma análise da eficácia dos testes de HPV na triagem de câncer cervical, destacando a combinação de diferentes tipos de testes e destacando a sensibilidade do teste DNA HR HPV. Cuschieri, K & Wentzensen (2018) destacam a importância da utilização de biomarcadores como RNAm do HPV para aumentar a especificidade diagnóstica.

A integração de testes em protocolos de triagem (com maior sensibilidade e especificidade) melhora a acurácia na detecção e manejo precoce da lesão intraepitelial anal de alto grau (NIA 2+) e câncer anal, especialmente em grupos vulneráveis. Esta combinação melhora a precisão diagnóstica ao minimizar tanto os falsos negativos quanto os falsos positivos. Além disso, a possibilidade de realizar ambos os testes com a mesma amostra evita a necessidade de um retorno do paciente, aumentando a conveniência e adesão ao rastreamento, além de otimizar os recursos de saúde.

O uso do teste de DNA HR HPV pode ser uma ferramenta importante para o rastreamento de neoplasia intraepitelial anal 2 e 3 e câncer anal se seguido por um biomarcador com uma especificidade mais alta. Uma alta sensibilidade semelhante da citologia anal também foi encontrada em outras populações, como mulheres não infectadas pelo HIV com lesões associadas ao HPV no trato genital inferior e em homens infectados pelo HIV (CARDINAL et al., 2014). Esta estratégia combinada pode maximizar a detecção precoce de infecções

cl clinicamente relevantes, ao mesmo tempo em que minimiza a incidência de falsos positivos, otimizando assim os recursos de saúde e reduzindo o impacto psicológico e clínico em pacientes.

O teste de RNAm HPV é particularmente eficaz na identificação de infecções significativas em populações de alto risco, além disso oferece maior especificidade em relação ao teste de DNA HR HPV, pois detecta a expressão de oncogenes virais que estão diretamente envolvidos na transformação maligna das células. Isso reduz a probabilidade de resultados falso-positivos associados a infecções transitórias que não progredirão para câncer (SASLOW et al., 2020). Portanto, a integração dessas metodologias em protocolos de triagem pode proporcionar uma melhoria substancial na detecção e manejo precoce de neoplasia intraepitelial anal de alto grau e câncer anal, especialmente em grupos vulneráveis.

Foi encontrada uma heterogeneidade substancial na sensibilidade e especificidade entre os estudos, conforme esperado para Revisões Sistemáticas Diagnósticas (manual de DTA) (MACASKILL et al., 2023). Isso poderia ser atribuído as características divergentes das amostras e frequências de NIA em cada população. Considerando a medida da variabilidade total entre estudos, os testes de RNAm HPV mostraram a menor área da elipse de previsão de 95%, 6,0%, influenciada pela baixa sensibilidade do logit, 0,011. Todos os outros grupos de testes excedem 50% da área da elipse de previsão, o que representa uma alta heterogeneidade (PLANA; PÉREZ; ZAMORA, 2021).

O presente estudo destaca complexidades importantes que precisam ser consideradas ao avaliar a literatura sobre testes de rastreamento do câncer anal. Estes incluem heterogeneidade na prevalência de pré-câncer anal, dados limitados sobre populações, diferenças nos ensaios avaliados e variabilidade na qualidade dos estudos. A prevalência da doença subjacente em uma população também é um determinante importante do desempenho dos testes diagnósticos, portanto, é fundamental compreender as diferenças na prevalência relatada de pré-câncer anal.

Essa pesquisa teve como ponto forte uma revisão sistemática abrangente da literatura atual sobre estudos que avaliam o desempenho de testes diagnósticos no rastreamento do câncer anal. Isso em cenário atual onde não existem diretrizes para o rastreamento de lesões anais com uso de biomarcadores, sendo aqui sua originalidade.

Apesar das muitas lacunas na literatura atual, a presente revisão sistemática fornece evidências clínicas importantes e dados de desempenho de testes para o desenvolvimento de

diretrizes baseadas em evidências para o rastreamento e manejo de precursores do câncer anal em populações de risco. A citologia anal é usada em muitos ambientes para manejo clínico e reflete um padrão de atendimento que pode apoiar a definição de limites de ação clínica, portanto, o presente estudo é capaz de mostrar que o teste de RNAm HPV é particularmente eficaz e oferece um equilíbrio favorável entre sensibilidade e especificidade (FORMAN et al., 2012).

O sucesso dos programas de rastreamento depende de uma série de princípios fundamentais, incluindo que (1) a doença alvo deve ser uma forma comum de câncer com elevada morbidade e mortalidade associadas; (2) os procedimentos de teste devem ser seguros, aceitáveis e relativamente baratos; e (3) um tratamento eficaz deve estar disponível (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2002).

Em 2024 o Ministério da Saúde trouxe a recomendação da incorporação do uso de um biomarcador para o rastreamento do câncer de colo uterino. Em fevereiro deste ano o parecer final da Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias (CONITEC) recomendou a incorporação do teste molecular para detecção do HPV oncogênico por técnica de amplificação de ácido nucléico, segundo critérios internacionais, para o rastreamento do câncer do colo de útero em população de risco padrão no Sistema Único de Saúde (PORTARIA SECTICS/MS Nº 3, DE 7 DE MARÇO DE 2024). Demonstrando a boa acurácia, eficácia e segurança do uso dessa tecnologia, e abrindo expectativas para que estudos de novos testes de rastreamento e diagnóstico com biomarcadores possam ser realizados em benefício de pessoas em risco de outras neoplasias relacionadas ao HPV, como o câncer anal.

Como limitações nessa revisão sistemática não foi possível a análise de outros subgrupos por poucos estudos primários disponíveis com mulheres com HPV, homens que fazem sexo com homens independente do status de HIV e pessoas vivendo com HIV, sendo necessário o desenvolvimento de estudos adicionais que visem preencher essa lacuna.

6 CONCLUSÃO

Esta revisão sistemática demonstrou a acurácia dos biomarcadores de DNA HR HPV (sensibilidade: 92,4% e especificidade: 41,7%), RNAm HPV (sensibilidade: 77,3% e especificidade: 61,9%) e p16 (sensibilidade: 68,8% e especificidade: 64,1%) para o rastreamento de câncer anal. A análise por perfil de pacientes não foi possível por poucos estudos primários disponíveis com mulheres com HPV, homens que fazem sexo com homens independente do status de HIV e pessoas vivendo com HIV. A combinação da sequência de testes DNA HR HPV e RNAm HPV podem ser uma estratégia eficaz no rastreamento de câncer anal em HSH vivendo com HIV.

São necessários estudos prospectivos adicionais para estabelecer a eficácia dos testes moleculares na prevenção do câncer anal e a relação custo-benefício, levando à definição de diretrizes de rastreamento. A incorporação do uso de biomarcadores no rastreamento de câncer de colo de útero traz expectativas para que estudos de novos testes de rastreamento e diagnóstico com biomarcadores possam ser realizados em benefício de pessoas em risco de outras neoplasias relacionadas ao HPV, como o câncer anal.

REFERÊNCIAS

Albert E, Laimins L. Regulation of the Human Papillomavirus Life Cycle by DNA Damage Repair Pathways and Epigenetic Factors. *Viruses*. 2020; 12(7):744.

Aleman L, et al. Human papillomavirus DNA prevalence and type distribution in anal carcinomas worldwide. *International Journal of Cancer*. 2015; 136(1): 98–107.

Altman DG, *Practical Statistics for Medical Research*. New York: Chapman and Hall/CRC, 1990.

Arbyn M, et al. Detecting cervical precancer and reaching underscreened women by using HPV testing on self samples: updated meta-analyses. *BMJ (Clinical research ed.)*, v. 363, p. k4823, 5 dez. 2018.

Arbyn M, et al. Estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2018: a worldwide analysis. *The Lancet. Global Health*. 2020; 8(2):e191–e203.

Baranoski AS, et al. Risk Factors for Abnormal Anal Cytology over Time in HIV-infected Women. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2012; 207(2):e1-107.

Bernardi MP, et al. Molecular biology of anal squamous cell carcinoma: implications for future research and clinical intervention. *The Lancet. Oncology*. 2015;16(16):e611-621.

Berry JM, et al. Progression of anal high-grade squamous intraepithelial lesions to invasive anal cancer among HIV-infected men who have sex with men. *International Journal of Cancer*. 2014;134(5):1147–1155.

Bertisch B, et al. Risk Factors for Anal Cancer in Persons Infected With HIV: A Nested Case-

Control Study in the Swiss HIV Cohort Study. *American Journal of Epidemiology*. 2013;178(6):877–884.

Bosch FX, et al. Comprehensive control of human papillomavirus infections and related diseases. *Vaccine*. 2013;31(Suppl 7).

Bossuyt PM, et al. Towards complete and accurate reporting of studies of diagnostic accuracy: the STARD initiative. *BMJ*. 2003;326(7379):41–4.

Bruni L, et al. *Human Papillomavirus and Related Diseases in the World*. [s.l.]: ICO/IARC Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre); 2023.

Burgos J, et al. The role of oncogenic human papillomavirus determination for diagnosis of high-grade anal intraepithelial neoplasia in HIV-infected MSM. *AIDS*. 2017;31(16):2227.

Cardinal LH, et al. 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.

Castle PE, et al. A Comparison of Human Papillomavirus Genotype-Specific DNA and E6/E7 mRNA Detection to Identify Anal Precancer among HIV-Infected Men Who Have Sex with Men. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2013;22(1):42–9.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Human papillomavirus-associated cancers - United States, 2004-2008. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2012;61:258–61.

Chiao E, et al. Screening HIV-infected individuals for anal cancer precursor lesions: a systematic review. *Clin Infect Dis*. 2006;43(2):223–33.

Chiao E, et al. Screening strategies for the detection of anal high-grade squamous intraepithelial lesions in women living with HIV. *AIDS*. 2020;34(15):2249.

Clarke MA, et al. 5-Year Prospective Evaluation of Cytology, Human Papillomavirus Testing, and Biomarkers for Detection of Anal Precancer in Human Immunodeficiency Virus–Positive Men Who Have Sex With Men. *Clin Infect Dis*. 2019;69(4):631–8.

Clifford GM, et al. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. *Lancet*. 2005;366(9490):991–8.

Clifford GM, et al. Determinants of high-grade anal intraepithelial lesions in HIV-positive MSM. *AIDS*. 2018;32(16):2363.

Clifford GM, et al. A meta-analysis of anal cancer incidence by risk group: Toward a unified anal cancer risk scale. *Int J Cancer*. 2021;148(1):38–47.

Colón-López V, et al. Anal Cancer Risk Among People With HIV Infection in the United States. *J Clin Oncol*. 2018;36(1):68–75.

Cuschieri K, Wentzensen N. Human papillomavirus mRNA and p16 detection as biomarkers for the improved diagnosis of cervical neoplasia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2008;17(10):2536–45.

Cuzick J, et al. Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *Int J Cancer*. 2006;119(5):1095–101.

Darragh TM, et al. The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization Project for HPV-Associated Lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. *Arch*

Pathol Lab Med. 2012;136(10):1266–97.

Darragh TM, Winkler B. Anal cancer and cervical cancer screening: Key differences. *Cancer Cytopathol.* 2011;119:5–19.

Della Fera AN, et al. Persistent Human Papillomavirus Infection. *Viruses.* 2021;13(2):321.

Deshmukh AA, et al. Recent Trends in Squamous Cell Carcinoma of the Anus Incidence and Mortality in the United States, 2001-2015. *J Natl Cancer Inst.* 2020;112(8):829–38.

Donato H, Donato M. Etapas na Condução de uma Revisão Sistemática. *Acta Med Port.* 2019;32(3):227.

Doorbar J, et al. Human papillomavirus molecular biology and disease association. *Rev Med Virol.* 2015;25(S1):2–23.

Egawa N, et al. Human Papillomaviruses; Epithelial Tropisms, and the Development of Neoplasia. *Viruses.* 2015;7(7):3863–90.

Esser S, et al. German-Austrian guidelines on anal dysplasia and anal cancer in HIV-positive individuals: prevention, diagnosis, and treatment. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2015;13(12):1302–19.

Etienney I, et al. Value of cytologic Papanicolaou smears and polymerase chain reaction screening for human papillomavirus DNA in detecting anal intraepithelial neoplasia. *Cancer.* 2012;118(24):6031–8.

Forman D, et al. Global Burden of Human Papillomavirus and Related Diseases. *Vaccine.* 2012;30:F12–F23.

Frisch M, et al. Sexually Transmitted Infection as a Cause of Anal Cancer. *N Engl J Med*. 1997;337(19):1350–8.

Gaisa MM, et al. Comparing Anal Cancer Screening Algorithms Using Cytology and Human Papillomavirus DNA Testing in 3 High-Risk Populations. *J Infect Dis*. 2021;224(5):881–8.

Gatsonis C, Paliwal P. Meta-Analysis of Diagnostic and Screening Test Accuracy Evaluations: Methodologic Primer. *AJR Am J Roentgenol*. 2006;187(2):271–81.

Graham SV. Human Papillomavirus: Gene Expression, Regulation and Prospects For Novel Diagnostic Methods and Antiviral Therapies. *Future Microbiol*. 2010;5(10):1493–506.

Haedicke J, Iftner T. A review of the clinical performance of the Aptima HPV assay. *J Clin Virol*. 2016;76:S40–8.

Heard I, et al. High Prevalence of Anal Human Papillomavirus-Associated Cancer Precursors in a Contemporary Cohort of Asymptomatic HIV-Infected Women. *Clin Infect Dis*. 2015;60(10):1559–68.

Heidari S, et al. Sex and Gender Equity in Research: rationale for the SAGER guidelines and recommended use. *Res Integr Peer Rev*. 2016;1:2.

Hidalgo-Tenorio C, et al. Risk factors for infection by oncogenic human papillomaviruses in HIV-positive MSM patients in the ART era (2010–2016). *Medicine*. 2017;96(39):e8109.

Higgins J, et al. Identifying and measuring heterogeneity. In: *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions version 6.4*. [s.l.]: Cochrane; 2023. p. 1.

Hillman RJ, et al. IANS International Guidelines for Practice Standards in the Detection of Anal Cancer Precursors. *J Lower Genit Tract Dis.* 2016;20(4):283–91.

IARC. Human Papillomaviruses. 1st ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2007. vol. 1.

IARC. A review of human carcinogens. 1st ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2012. vol. 1.

Jaeschke R, Guyatt GH, Sackett DL. Users' guides to the medical literature. III. How to use an article about a diagnostic test. B. What are the results and will they help me in caring for my patients? The Evidence-Based Medicine Working Group. *JAMA.* 1994;271(9):703–7.

Jeantet D, et al. NucliSENS® EasyQ® HPV v1 test – Testing for oncogenic activity of human papillomaviruses. *J Clin Virol.* 2009;45:S29–37.

Jin F, et al. The performance of human papillomavirus biomarkers in predicting anal high-grade squamous intraepithelial lesions in gay and bisexual men. *AIDS.* 2017;31(9):1303.

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.

Kimura CMS, et al. High-risk human papillomavirus test in anal smears: can it optimize the screening for anal cancer? *AIDS.* 2021;35(5):737.

Klaes R, et al. Overexpression of p16INK4A as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. *Int J Cancer.* 2001;92(2):276–84.

Koerber SA, et al. Influence of human papillomavirus and p16INK4a on treatment outcome of

patients with anal cancer. *Radiother Oncol*. 2014;113(3):331–6.

Koliopoulos G, et al. Cytology versus HPV testing for cervical cancer screening in the general population. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017 Aug 10;8(8):CD008587.

Lehtinen M, Dillner J. Clinical trials of human papillomavirus vaccines and beyond. *Nat Rev Clin Oncol*. 2013;10(7):400–10.

Lijmer JG, et al. Empirical evidence of design-related bias in studies of diagnostic tests. *JAMA*. 1999;282(11):1061–6.

Lin C, Franceschi S, Clifford GM. Human papillomavirus types from infection to cancer in the anus, according to sex and HIV status: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2018;18(2):198–206.

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

Macaskill P, et al. Understanding meta-analysis. In: *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Diagnostic Test Accuracy*. [s.l.]: John Wiley & Sons, Ltd; 2023. p. 203–47.

Macedo ACL, et al. Accuracy of mRNA HPV Tests for Triage of Precursor Lesions and Cervical Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Oncol*. 2019;2019:6935030.

Machalek DA, et al. Anal human papillomavirus infection and associated neoplastic lesions in men who have sex with men: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol*. 2012;13(5):487–500.

Mariani L, et al. Overview of the benefits and potential issues of the nonavalent HPV vaccine. *Int J Gynecol Obstet*. 2017;136(3):258–65.

Ministério da Saúde. Testagem Molecular para Detecção de HPV e rastreamento do câncer do colo do útero. Brasília, DF: 2024. Available from: <https://colposcopia.org.br/wp-content/uploads/2024/03/testagem-molecular-para-deteccao-de-hpv-e-rastreamento-do-cancer-do-colo-do-utero.pdf>

Page MJ, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ*. 2021;372:n71.

Palefsky JM. Anal human papillomavirus infection and anal cancer in HIV-positive individuals: an emerging problem. *AIDS*. 1994;8(3):283–95.

Palefsky JM, et al. Treatment of Anal High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions to Prevent Anal Cancer. *N Engl J Med*. 2022;386(24):2273–82.

Palefsky JM. Virology of human papillomavirus infections and the link to cancer. 2024 Jul.

Palefsky JM, Brickman C. Anal squamous intraepithelial lesions: Epidemiology, clinical presentation, diagnosis, screening, prevention, and treatment. 2023 Aug 9.

Pankam T, et al. Human papillomavirus in anal biopsy tissues and liquid-based cytology samples of HIV-positive and HIV-negative Thai men who have sex with men. *Papillomavirus Res*. 2017;3:149–54.

Phanuphak N, et al. Use of Human Papillomavirus DNA, E6/E7 mRNA, and p16 Immunocytochemistry to Detect and Predict Anal High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions in HIV-Positive and HIV-Negative Men Who Have Sex with Men. *PLoS One*. 2013;8(11):e78291.

Pichon M, et al. Evaluation of p16/Ki-67 Dual Staining Compared with HPV Genotyping in Anal Cytology with Diagnosis of ASC-US for Detection of High-Grade Anal Intraepithelial Lesions. *J Cytol.* 2019;36(3):152–6.

Plana MN, Pérez T, Zamora J. New measures improved the reporting of heterogeneity in diagnostic test accuracy reviews: a metaepidemiological study. *J Clin Epidemiol.* 2021;131:101–12.

Reitsma J, et al. Chapter 9: Assessing methodological quality. In: *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Diagnostic Test Accuracy.* [s.l.]: The Cochrane Collaboration; 2009.

Repiso Jiménez JB, et al. Despistaje de la neoplasia intraepitelial anal. Biopsia de canal anal guiada por anoscopia de alta resolución. *Actas Dermosifiliogr.* 2017;108(1):65–6.

Sahasrabuddhe VV, et al. 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, et al. The role of cytology (Pap tests) and human papillomavirus testing in anal cancer screening. *AIDS.* 2010;24(9):1307.

Saslow D, et al. Human papillomavirus vaccination 2020 guideline update: American Cancer Society guideline adaptation. *CA Cancer J Clin.* 2020;70(4):274–80.

Schiffman M, et al. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet.* 2007;370(9590):890–907.

Sendagorta E, et al. 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.

Serrano-Villar S, et al. Screening for precancerous anal lesions with P16/Ki67 immunostaining in HIV-infected MSM. *PLoS One*. 2017;12(11):e0188851.

Smyczek P, Singh AE, Romanowski B. Anal intraepithelial neoplasia: review and recommendations for screening and management. *Int J STD AIDS*. 2013;24(11):843–51.

Song SJ, et al. Cervical Carcinogenesis, Early Detection and Prevention. In: *Gynecologic and Obstetric Pathology, Volume 1*. Singapore: Springer Singapore; 2019.

Spanos CP. *Digestive System Malignancies*. 1st ed. [s.l.]: Academic Press; 2022.

Stanley MA. Epithelial Cell Responses to Infection with Human Papillomavirus. *Clin Microbiol Rev*. 2012;25(2):215–22.

Stewart DB. Approach to adult patients with anorectal complaints. *UpToDate*. 2024 Apr 19.

Valvo F, et al. Cancer of the anal region. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2019;135:115–27.

Van Doorslaer K. Evolution of the Papillomaviridae. *Virology*. 2013;445(1–2):11–20.

Villiers E-M de. Cross-roads in the classification of papillomaviruses. *Virology*. 2013;445(1–2):2–10.

Von Knebel Doeberitz M, et al. Biomarkers for cervical cancer screening: the role of p16 INK4a to highlight transforming HPV infections. *Expert Rev Proteomics*. 2012;9(2):149–63.

Walts AE, Lechago J, Bose SP. 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.

Wei F, et al. Epidemiology of anal human papillomavirus infection and high-grade squamous intraepithelial lesions in 29,900 men according to HIV status, sexuality, and age: a collaborative pooled analysis of 64 studies. *Lancet HIV*. 2021;8(9):e531–e543.

Wentzensen N, et al. 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.

Wentzensen N, et al. Eurogin 2016 Roadmap: how HPV knowledge is changing screening practice. *Int J Cancer*. 2017;140(10).

Wentzensen N, Von Knebel Doeberitz M. Biomarkers in cervical cancer screening. *Dis Markers*. 2007;23(4):315–30.

Whiting P, et al. The development of QUADAS: a tool for the quality assessment of studies of diagnostic accuracy included in systematic reviews. *BMC Med Res Methodol*. 2003;3(1):25.

Willett CG, Eng C. Anatomy, pathology, epidemiology, and risk factors of anal cancer.

World Health Organization. National cancer control programmes: policies and managerial guidelines. [s.l.]: World Health Organization; 2002.

Zamora J, et al. Meta-DiSc: a software for meta-analysis of test accuracy data. *BMC Med Res Methodol*. 2006;6(1):31.