

Daniela Etlinger Colonelli

Avaliação do desempenho da citologia em meio líquido *versus* citologia convencional no Sistema Único de Saúde

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração

Pesquisas Laboratoriais em Saúde Pública

Orientador

Prof. Dr. Celso di Loreto

**SÃO PAULO
2014**

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pelo Centro de Documentação – Coordenadoria de Controle de Doenças/SES-SP

©reprodução autorizada pelo autor, desde que citada a fonte

Colonelli, Daniela Etlinger

Avaliação do desempenho da citologia em meio líquido versus citologia convencional no Sistema Único de Saúde / Daniela Etlinger Colonelli - São Paulo, 2014.

Dissertação (mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo.

Área de concentração: Pesquisas Laboratoriais em Saúde Pública

Orientador: Celso di Loreto

1. Citodiagnóstico 2. Programas de rastreamento 3. Esfregaço vaginal 4. Neoplasias do colo do útero 5. Saúde pública

SES/CCD/CD-271/14

Dedico aos meus pais,

Luiz Fernando Etlinger (em memória) e Sonia Pacheco Etlinger,

pelo incentivo, amor, dedicação e pelas sementes

plantadas dos frutos que hoje eu colho.

Muito obrigada, AMO vocês!

Agradecimentos

Ao meu orientador, Dr. Celso di Loreto, pelo auxílio e apoio no árduo processo de aprendizado.

À Tereza Hanai e todos os profissionais envolvidos, da DRS XII de Registro, pelo trabalho desenvolvido junto às Unidades de Saúde que contribuíram para o estudo.

À Sonia Maria Miranda Pereira, diretora do Núcleo de Anatomia Patológica do Instituto Adolfo Lutz, pela flexibilidade de horário e incentivo durante o período de desenvolvimento do trabalho.

Aos pesquisadores Camila Cardoso de Oliveira e Daniel Granato do Instituto Adolfo Lutz pela análise estatística.

Aos amigos, Sandra Lorente, Natália Coelho Couto de Azevedo Fernandes, Juliana Mariotti Guerra e Rodrigo Albergaria Réssio pela amizade, força e fé de que dias melhores virão.

Aos técnicos do Núcleo de Anatomia Patológica do Instituto Adolfo Lutz, Fabíola, Julia e Emerson, pelas horas de dedicação, esforço e profissionalismo, que tornou possível a realização do trabalho.

À Sandra Alves de Moares, da biblioteca do Instituto Adolfo Lutz, pela elaboração da ficha catalográfica.

Aos pesquisadores do Laboratório de Citologia Oncótica do Instituto Adolfo Lutz, Yuriko, Luzia e Neuza, aos biólogos, Camilo e Rosemeire, e aos patologistas, Silvia e Monique, pela contribuição para o meu crescimento profissional.

Aos meus irmãos, Luiz Fernando Etlinger Junior e Gabriel Etlinger, pela amizade e carinho.

Ao meu marido, Cesar Augusto Colonelli, e meus enteados, Audry e Diego, pela paciência e compreensão pelos momentos em que o trabalho me priva da convivência familiar. Ao nosso presente de Deus, nosso filhote, Cesar, que em junho estará conosco, completando a família. Amo vocês!

A todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização e execução do estudo.

Este trabalho foi financiado pelo PPSUS (Programa de Políticas Públicas para o SUS) da FAPESP (Fundação de Apoio à Pesquisa), sob o nº 2009-53133-2.

Resumo

O câncer de colo uterino ainda é um problema de saúde pública, principalmente nos países menos desenvolvidos. O teste de Papanicolaou é preconizado como método de rastreamento populacional; porém, limitações da citologia convencional (CC), levam à baixa sensibilidade, altos índices de amostras insatisfatórias e interferentes pré-analíticas. A partir da década de 90, a técnica de citologia em meio líquido (CML), passou a ser utilizada em alguns países, apresentando como principais vantagens: redução dos interferentes pré-analíticos, possibilidade de confecção de novas lâminas e realização de testes moleculares a partir de uma única coleta. No Brasil, poucos estudos avaliam seu desempenho no Sistema Único de Saúde (SUS) em população não controlada. O objetivo do estudo foi comparar o desempenho da CML em relação à CC, aplicado ao SUS. Trata-se de um estudo comparativo entre dados de diagnóstico de CC obtidos a partir do banco de dados do SISCOLO nos anos de 2009 (15.127) e 2010 (16.373), e amostras prospectivas de CML (BD SurePath™) colhidas em 2011 (9.764). Todas as amostras foram analisadas no Laboratório de Citologia Oncótica do Instituto Adolfo Lutz (LCO-IAL) e seguiram as normas de controle de qualidade interno. O projeto teve financiamento PPSUS-FAPESP (nº 2009-53133-2) e foi aprovado pelo comitê de ética do Instituto Adolfo Lutz. Para avaliar a diferença estatística foi aplicado o teste-z com 5% de significância. Das amostras (31.500) obtidas pela técnica de CC, 88,70% foram diagnosticadas como negativo para malignidade, 7,80% suspeitas ou positivas e 3,50% insatisfatória. Das amostras de CML, 88,18% foram negativas, 11,57% suspeitas ou positivas e 0,25% insatisfatórias. Os casos diagnosticados como suspeitos ou positivos pela técnica de CC e CML distribuíram-se em: 4,52% e 6,98% ASC-US ($p < 0,001$), 0,49% e 0,48% ASC-H, 0,54% e 0,26% AGC ($p < 0,001$), 1,82% e 3,48% LSIL ($p < 0,001$), 0,36% e 0,33% HSIL, 0,06% e 0,04% lesões invasivas. O tempo médio para o processamento técnico de uma amostra pela técnica de CC foi de 8 minutos e 4 minutos para a CML, considerando o tempo gasto com a etapa “over night” de banho álcool para retirada da película de fixador. O tempo gasto

para a leitura da lâmina pela técnica de CML foi 23,7% menor em relação à técnica CC, fato que pode ser atribuído à melhor distribuição das células na lâmina, padronização da coloração e ausência de artefatos técnicos. A CML mostrou vantagens em relação à CC, fato que resultou na implantação da técnica na rotina das mulheres atendidas na Região do Vale do Ribeira, tornando o LCO-IAL um dos pioneiros a disponibilizar a tecnologia às usuárias do SUS. Novos estudos serão elaborados a fim de correlacionar os dados morfológicos com o *status* viral para HPV, com o intuito de testar a utilidade de técnicas de biologia molecular associadas à morfologia nas pacientes atendidas no SUS, para melhor estratificá-las e direcionar com maior precisão as condutas terapêuticas.

Palavras chave: Citodiagnóstico, programas de rastreamento, esfregaço vaginal, neoplasias do colo do útero, saúde pública.

Abstract

Cancer of the cervix is still a public health problem, mainly in less developed countries. The Pap test is recommended as a method of population screening, however limitations of conventional cytology (CC), brings to low sensitivity, high rates of unsatisfactory samples and pre-analytical interferences. Since the 90s, the technique of liquid-based cytology (LBC) has been used in some countries, having as main advantages: reduction of pre-analytical interferences, possibility of making new slides and additional molecular tests to from a single collection. In Brazil, few studies have evaluated its performance in the Sistema Único de Saúde (SUS) in non-controlled population. The aim of the study was to compare the performance of LBC in relation to CC, applied to SUS. This is a comparative study between diagnostic data obtained from the CC database SISCOLO in the years 2009 (15.127) and 2010 (16.373), and prospective samples of LBC (BD SurePath™) collected in 2011 (9,764). All samples were analyzed at the Laboratory of Cytology of the Instituto Adolfo Lutz (IAL-LCO) and followed the rules for internal quality control. The project was funded by PPSUS-FAPESP (No. 2009-53133-2) and was approved by the ethics committee of the Instituto Adolfo Lutz. To assess the statistical significance test-z was applied with 5% significance. The samples (31,500) obtained by the technique of CC, 88.70% were diagnosed as negative for malignancy, suspicious or positive 7.80% and 3.50% unsatisfactory. Among the LBC samples, 88.18% were negative; 11.57% suspicious or positive and 0.25% unsatisfactory. The cases diagnosed as suspicious or positive by the techniques of CC and LBC were distributed as: 4.52% and 6.98% ASC-US ($p < 0.001$), 0.49% and 0.48% ASC-H, 0.54% and 0.26% AGC ($p < 0.001$), 1.82% and 3.48% LSIL ($p < 0.001$) and 0.36% and 0.33% HSIL, 0.06% and 0.04% invasive lesions. The average time for the technical processing of a sample by the technique of CC was 8 minutes and 4 minutes for the LBC, considering the time spent on stage "over night" alcohol bath to remove the fixative film. The time spent to slide screening by the technique of LBC was 23.7% lower compared to the CC technique, which can be attributed to better

distribution of the cells on the slide, standardization of staining and absence of technical artifacts. Overall the LBC showed advantages over CC, which has resulted in the implementation of the technique in the routine of women care in the Vale do Ribeira Region, making the LCO-IAL one of the pioneers to make the technology available to SUS users. Further studies will be elaborated in order to correlate the morphological data with HPV status, in order to test the usefulness of molecular biology techniques associated with morphology in patients treated at SUS, with the aim of stratify them and drive more accurately the therapeutic approaches.

Key words: cytodiagnosis, mass screening, vaginal smears, uterine cervical neoplasms, public health.

Lista de abreviaturas e siglas

ASC-US	Atipias de células escamosas possivelmente não neoplásica
ASC-H	Atipias de células escamosas não excluir lesão de alto grau
AGC-US	Atipias de células glandulares possivelmente não neoplásica
AGC-H	Atipias de células glandulares não excluir lesão de alto grau
CML	Citologia em meio líquido
CC	Citologia convencional
DNA	Ácido desoxirribonucleico
FDA	Food and drug administration
HPV	Papilomavírus humano
HSIL	Lesão intraepitelial de alto grau
HSIL micro	Lesão intra-epitelial de alto grau, não podendo excluir microinvasão
INCA	Instituto Nacional do Câncer
JEC	Junção escamo-colunar
LBC	Liquid Based Cytology
LCO-IAL	Laboratório de Citologia Oncótica do Instituto Adolfo Lutz
LSIL	Lesão intraepitelial de baixo grau
MS	Ministério da Saúde
PPSUS	Políticas Públicas para o SUS
SISCOLO	Sistema de Informação do Câncer de Colo do Útero
SUS	Sistema Único de Saúde
UICC	International Union Against Cancer
UNICAMP	Universidade de Campinas
WHO	World Health Organization

Lista de tabelas e figuras

Figura 1. Estimativa do INCA, para 2012, dos tipos mais freqüentes de câncer (exceto pele não melanoma), que atingem a população feminina, no Brasil.....	18
Figura 2. Representação da anatomia do sistema reprodutor feminino, com destaque para região do colo uterino. À esquerda, corte histológico do colo uterino, demonstrando o epitélio colunar simples (1), a região da junção escamo-colunar (2) e o epitélio escamoso escamoso estratificado não queratinizado (3).....	19
Figura 3. Representação esquemática da infecção pelo HPV e evolução das lesões pré-neoplásicas	21
Figura 4. A - Dr. George N. Papanicolaou (1941). B - Atlas do Dr. George N. Papanicolaou.....	23
Figura 5. Instrumentos de coleta para diagnóstico precoce do câncer de colo uterino.....	24
Quadro 1. Evolução das terminologias diagnósticas utilizadas desde 1941, para classificar os exames citopatológicos do colo uterino.....	29
Figura 6. Representação esquemática da coleta do esfregaço cérvico-vaginal para realização do exame de Papanicolaou pela técnica convencional.....	31
Figura 7. Representação esquemática da coleta de amostra cérvico-vaginal pela técnica de citologia em meio líquido.....	35
Figura 8. Algoritmo proposto pelo "The ALTS group" para rastreamento populacional de mulheres com diagnóstico de ASC-US, associando citologia e captura híbrida 2 para HPV de alto risco.....	37
Figura 9. Divisão política dos Municípios do Vale do Ribeira atendidos pelo LCO-IAL.....	40
Figura 10. Fluxograma do controle de qualidade interno dos exames citopatológicos realizados no LCO-IAL.....	43

Figura 11. A - Amostra cérvico-vaginal satisfatória para avaliação; as outras imagens correspondem a amostras insatisfatórias para avaliação devido à: B - intensa sobreposição células; C - material acelular (< 10% do esfregaço contendo células escamosas); D - dessecação (falha na fixação da amostra); E - numerosos piócitos; F - amostra hemorrágica.....	45
Tabela 1. Distribuição dos diagnósticos dos exames citopatológicos cérvico-vaginais pela técnica de CC e pela técnica de CML, realizados no LCO-IAL, entre 2009 e 2011.....	48
Gráfico 1. Distribuição dos diagnósticos dos exames citopatológicos cérvico-vaginais, realizados no LCO-IAL, no período de 2009 a 2011...	49
Tabela 2. Distribuição dos diagnósticos dos exames citopatológicos cérvico-vaginais positivos para alterações epiteliais, pela técnica de CC em 2009 e 2010 e pela técnica de CML em 2011, realizados no LCO-IAL.....	50
Tabela 3. Comparação entre as frequências absoluta e relativa observadas nos diagnósticos dos exames citopatológicos cérvico-vaginais pela técnica de CC, no LCO-IAL, em 2009 e 2010.....	51
Tabela 4. Comparação entre as frequências absoluta e relativa observada nos diagnósticos citopatológicos cérvico-vaginais obtidos pela técnica de CC em 2009 e 2010 e pela técnica de CML em 2011, no LCO-IAL.....	52
Gráfico 2. Distribuição das causas de amostras cérvico-vaginais (n=566) classificadas como insatisfatória pela técnica de CC em 2009, no LCO-IAL.....	53
Gráfico 3. Distribuição das causas de amostras cérvico-vaginais (n=536) classificadas como insatisfatória pela técnica de CC em 2010, no LCO-IAL.....	54
Gráfico 4. Distribuição das causas de amostras cérvico-vaginais (n=24) classificadas como insatisfatória pela técnica de CML em 2011, no LCO-IAL.....	55

Tabela 5. Tempo médio gasto com os procedimentos técnicos para amostras de CC e CML, expresso em minutos.....	56
Tabela 6. Tempo gasto com a leitura das amostras pela técnica de CC e pela técnica de CML.....	57
Figura 12.Comparação entre os preparados de citologia em meio líquido e citologia convencional.....	58

Índice

Agradecimentos	
Resumo/Abstract	
Lista de abreviaturas e siglas	
Lista de tabelas e figuras	
1. Introdução.....	17
1.1. Carcinogênese cervical.....	19
1.2. Rastreamento do câncer do colo uterino no mundo.....	22
1.3. Rastreamento do câncer do colo uterino no Brasil.....	25
1.4. Nomenclatura das alterações citológicas.....	27
1.5. Técnica de citologia convencional.....	30
1.6. Técnica de citologia em meio líquido.....	33
1.7. Justificativa do estudo.....	37
2. Objetivos.....	39
2.1. Objetivo geral.....	39
2.2. Objetivos específicos.....	39
3. Material e Métodos.....	40
4. Resultados.....	48
5. Discussão.....	59
6. Conclusões.....	68
7. Perspectivas futuras.....	69
8. Referências bibliográficas.....	70
Anexo I – Protocolo das etapas de coloração de Papanicolaou modificada, utilizada no LCO-IAL	
Anexo II – Protocolo para confecção de amostras cérvico-vaginais pela técnica de citologia em meio líquido (BD Sure Path™Pap Test)	
Anexo III – Termo de consentimento livre e esclarecido	
Anexo IV – Termo de esclarecimento das condições do estudo à paciente	
Anexo V – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Adolfo Lutz	

Anexo VII – Lista de critérios de risco de casos que devem ser revisados por três observadores.

Anexo VII – Lista de critérios de risco de casos que devem ser revisados por três observadores.

1. Introdução

O câncer é considerado uma das mais alarmantes e conhecidas doenças da humanidade, atingindo pessoas de todas as nacionalidades, idades, raças e classes sociais. Alguns tumores têm sua história natural bem estabelecida, sendo possível planejar estratégias de detecção precoce e prevenção, que aumentam as chances de cura e a sobrevivência dos pacientes.

As estratégias de controle do câncer são direcionadas a ações que visam identificar indivíduos sintomáticos em estágios iniciais da doença ou ações de rastreamento e diagnóstico inicial em indivíduos assintomáticos, *diagnóstico e detecção precoce* (World Health Organization [WHO], 2002). Ações de prevenção primária podem reduzir a incidência e a mortalidade do câncer em diferentes proporções para alguns tipos de câncer mais comuns (International Union Against Cancer [UICC], 2004).

Por exemplo, a incidência de câncer de pulmão pode ser reduzida em até 90% somente com ações de prevenção primária, como o controle do tabagismo. Os cânceres de mama e colo do útero, por sua vez, são exemplos do impacto positivo da detecção precoce na morbi-mortalidade, conforme verificado em países que organizam programas efetivos de rastreamento populacional (UICC, 2004). Excluindo o câncer de pele não melanoma, o câncer de colo do útero é o tumor que apresenta maior probabilidade de prevenção (Thuler *et al.*, 2012).

A International Union Against Cancer (UICC) estimou para 2012, a ocorrência de 12,7 milhões de novos casos de câncer, sendo 500 mil destes, no Brasil. As localizações mais comuns de cânceres em homens são: próstata, pulmão e estômago. Nas mulheres, os cânceres mais incidentes são: mama, colo do útero, cólon e reto, como demonstrado na Figura 1 (Instituto Nacional do Câncer [INCA], 2012).

Para a população feminina, o câncer cervical ainda é um sério problema de saúde pública. Dados mundiais o apontam como o terceiro tipo de câncer mais comum, com cerca de 529 mil casos novos no ano de 2008, correspondendo a 13% dos cânceres que as acometem (Ferlay *et al.*, 2010).

	Localização primária	casos novos	percentual
Mulheres 	Mama Feminina	52.680	27,9%
	Colo do Útero	17.540	9,3%
	Cólon e Reto	15.960	8,4%
	Glândula Tireoide	10.590	5,6%
	Traqueia, Brônquio e Pulmão	10.110	5,3%
	Estômago	7.420	3,9%
	Ovário	6.190	3,3%
	Corpo do Útero	4.520	2,4%
	Sistema Nervoso Central	4.450	2,4%
	Linfoma não Hodgkin	4.450	2,4%

Fonte: INCA, 2012.

Figura 1. Estimativa do INCA, para 2012, dos tipos mais frequentes de câncer (exceto pele não melanoma), que atingem a população feminina, no Brasil.

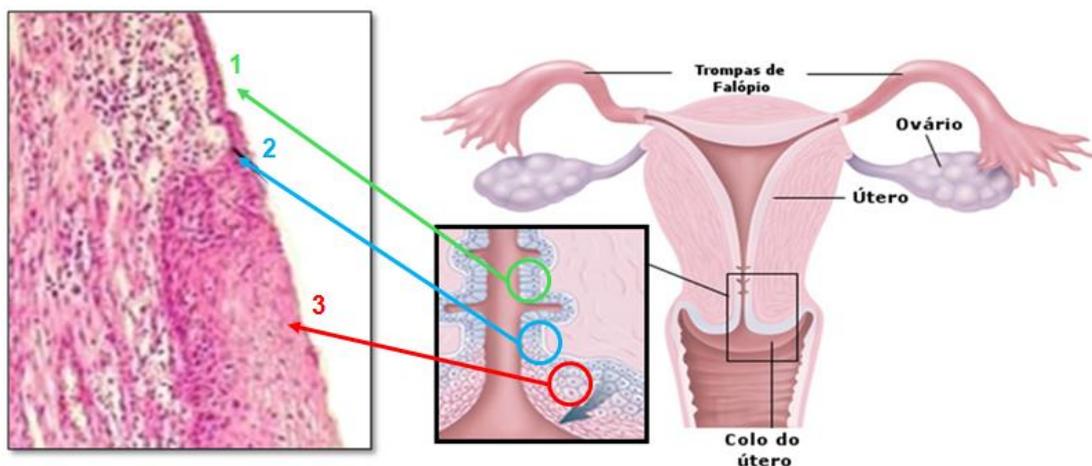
Sua incidência é cerca de duas vezes maior em países menos desenvolvidos quando comparada aos países mais desenvolvidos. Em geral, a razão mortalidade/incidência é 52%, responsável pelo óbito de 275 mil mulheres em 2008, sendo que 88% desses óbitos ocorreram nos países em desenvolvimento (Jemal *et al.*, 2011).

A estimativa do INCA para o Brasil, em 2012, foi a ocorrência de 17.540 novos casos, resultando em óbito de aproximadamente 5.000 mulheres. Sua incidência é bastante variável nas regiões do país, na região norte, por exemplo, é a primeira causa de morte entre as mulheres, atingindo

cerca de 24/100 mil mulheres; já na região sul ocupa a quarta posição, com incidência de 14/100 mil mulheres (INCA, 2012).

1.1. Carcinogênese cervical

O colo uterino é composto pela ectocérvice, revestida por epitélio escamoso estratificado não queratinizado; e pela endocérvice revestida por epitélio colunar simples. A região de encontro entre os dois epitélios, anatomicamente localizada no orifício externo do colo uterino, é denominada de junção escamo-colunar (JEC). A anatomia do sistema reprodutor feminino e a histologia do colo uterino estão representadas na Figura 2.



Fonte: Acervo do Instituto Adolfo Lutz, 2013.

Figura 2. Representação da anatomia do sistema reprodutor feminino, com destaque para a região do colo uterino. À esquerda, corte histológico do colo uterino, demonstrando o epitélio colunar simples (1), a região da junção escamo-colunar (2) e o epitélio escamoso estratificado não queratinizado (3).

A localização da JEC varia de acordo com a idade e atividade hormonal, e quando sua localização encontra-se exteriorizada, é possível observar áreas de metaplasia escamosa, onde ocorre a substituição do epitélio colunar simples por epitélio escamoso estratificado não queratinizado (Longatto-Filho *et al.*, 1991).

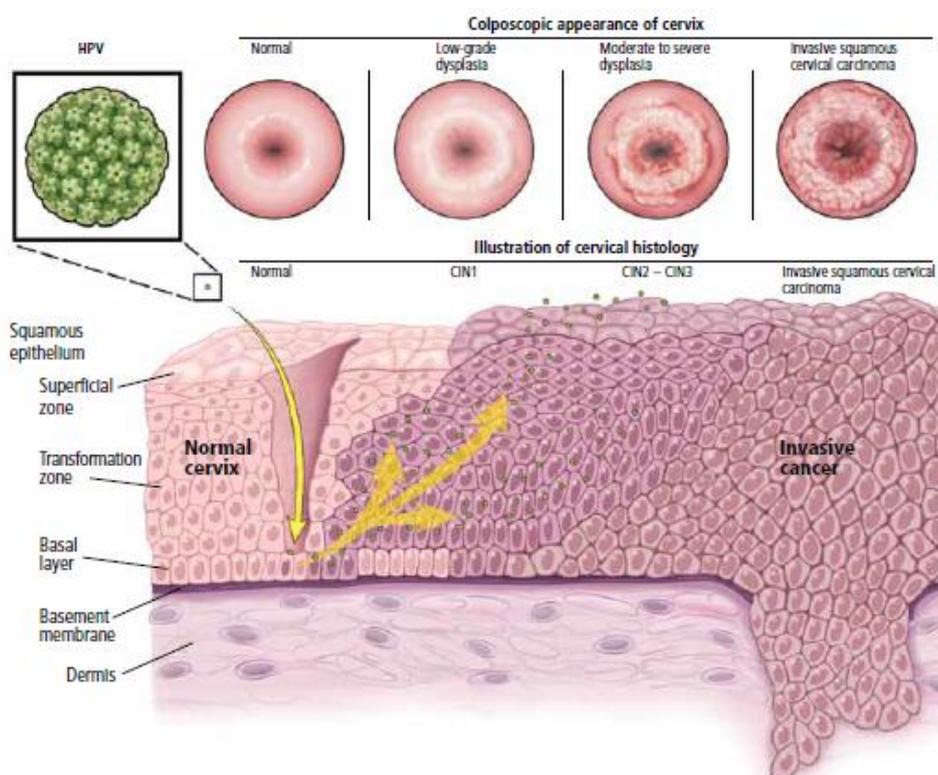
A representação da JEC é de suma importância para garantir a qualidade do diagnóstico citopatológico, visto que é a região onde o papilomavírus humano (HPV) infecta as células do colo uterino, levando à transformação maligna, em determinadas condições. Shirata *et al.* (1998) demonstraram que a detecção de neoplasia intra-epitelial cervical foi cerca de dez vezes maior no grupo em que as células da JEC estavam adequadamente representadas.

O câncer de colo uterino é uma doença de evolução lenta, sendo a infecção pelo HPV o principal fator de risco para o desenvolvimento das lesões precursoras e câncer. Os primeiros estudos que demonstraram a associação do HPV com o câncer de colo uterino são da década de 70, quando Harald zur Hausen afirmou que células cancerosas que continham o vírus oncogênico apresentavam o DNA (ácido desoxirribonucleico) viral em seu genoma (zur Hausen *et al.*, 2000), identificado em até 99,7% das amostras de câncer cervical, sendo os tipos 16 e 18 associados à 70% dos cânceres (Walboomers *et al.*, 1999; Bosch *et al.*, 2002; Wong *et al.*, 2008; Abreu *et al.*, 2012).

O HPV pode causar infecção produtiva, auto-limitada, que desaparece após a eliminação do vírus, pelo sistema imune do hospedeiro. As infecções persistentes estão relacionadas ao surgimento de neoplasia invasiva (Jin *et al.*, 2011). Estudos comprovam que 50 a 80% das mulheres sexualmente ativas são infectadas por um ou mais tipos de HPV em algum momento de suas vidas, sendo que apenas 10% dessas desenvolvem algum tipo de lesão pré-neoplásica e 1,3% evolui para o carcinoma invasivo. Isso se deve talvez pela influência de outros co-carcinógenos na infecção por HPV determinando se a infecção permanecerá na forma sub-clínica (latente), irá progredir para o câncer ou alcançar a cura (INCA, 2011). O número de parceiros sexuais, idade precoce da primeira relação sexual, comportamento sexual de risco, paridade, tabagismo, co-infecções e imunossupressão são facilitadores da infecção persistente e da transformação maligna das células

da cérvix uterina (Franco *et al.*, 2001; Bosch *et al.*, 2002; Muñoz *et al.*, 2002; Haverkos *et al.*, 2003; Rosa *et al.*, 2009).

Após a infecção pelo HPV oncogênico, o vírus pode se integrar ao genoma do hospedeiro promovendo transformações que levam a multiplicação celular descontrolada. Este processo geralmente é lento, e ao longo dos anos promove alterações morfológicas tanto nas células do ponto de vista individual (lesões), quanto do ponto de vista arquitetural (tecidos), em que elas ocupam progressivamente toda a espessura do epitélio, e lentamente adquirem a capacidade de invadir o estroma. Nesta fase as chances de cura reduzem drasticamente, conforme ocorre a invasão do tecido (estádio mais avançado) (Jin *et al.*, 2011). A Figura 3 mostra a representação esquemática da infecção pelo HPV como as lesões pré-neoplásicas podem levar ao desenvolvimento de câncer invasor.



Fonte: Jin *et al.*, 2011.

Figura 3. Representação esquemática da infecção pelo HPV e evolução das lesões pré-neoplásicas.

O mecanismo molecular do HPV no desenvolvimento de lesões cervicais tem fornecido biomarcadores para diagnóstico e prognóstico, utilizados no acompanhamento clínico de mulheres. O desafio do rastreamento é detectar lesões com alta chance de progressão, antes da invasão e a utilização de marcadores moleculares tem aumentado o valor preditivo positivo dos métodos de rastreamento (Abreu *et al.*, 2012).

Células infectadas pelo HPV mostram alterações na expressão gênica e a detecção destas alterações tem papel importante no rastreamento e acompanhamento das pacientes. Carga viral de DNA HPV, quantificação e expressão das proteínas E6 e E7 são marcadores promissores que podem prever a progressão das lesões para câncer cervical, aumentando assim, a sensibilidade do rastreamento citológico (Abreu *et al.*, 2012).

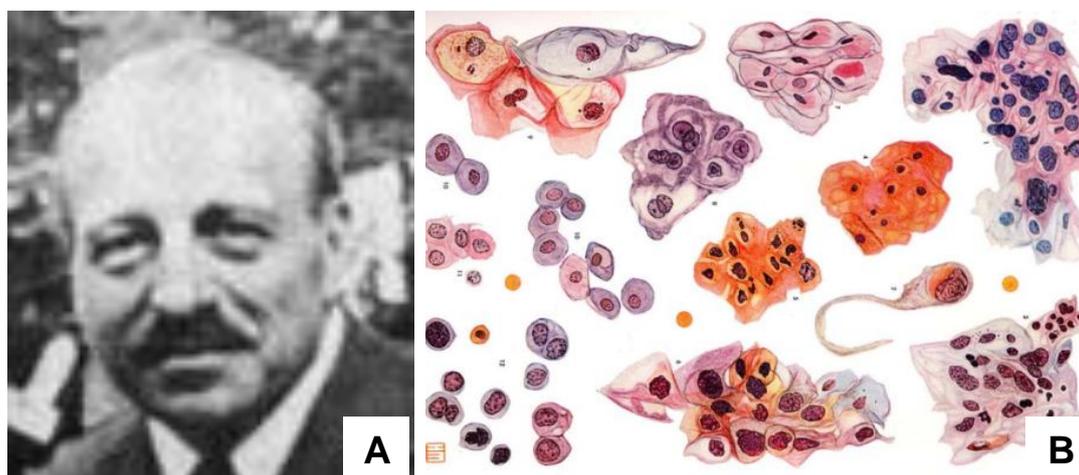
1.2. Rastreamento do câncer de colo uterino no mundo

A citologia cérvico-vaginal tem início em um tempo onde o câncer cervical levava à morte de milhares de mulheres e as lesões pré-invasivas eram de difícil detecção, pois nesta fase são clinicamente assintomáticas. Quando o rastreamento passou a ser amplamente utilizado, estudos demonstraram queda significativa na mortalidade (Tambouret *et al.*, 2013).

A observação de células cancerígenas em esfregaços cérvico-vaginais foi relatada pela primeira vez em 1928, quando o médico grego, Dr. George N. Papanicolaou (Figura 4A) apresentou resultados da avaliação de células vaginais durante o ciclo reprodutivo, relatando também que células malignas podiam ser identificadas citologicamente (Papanicolaou, 1928). Em 1939, Papanicolaou e Herbert Traut identificaram células de neoplasia maligna do colo uterino e endométrio, sem que as pacientes apresentassem suspeita clínica (Papanicolaou & Traut, 1941). Na década de 40, Papanicolaou, Graham e Meigs instalaram o primeiro laboratório de citologia

ginecológica e a partir de 1942, o teste passou a ser utilizado na prática ginecológica na América do Norte (Meigs, 1947).

Em 1947, Papanicolaou descreveu as alterações observadas nas células escamosas do colo uterino (Figura 4B). Nos relatos do Dr. G. N. Papanicolaou é possível perceber que ele definia claramente as alterações conhecidas atualmente, (atipia colicitótica, por exemplo, característicos do efeito citopático do HPV) associando-as à lesões pré-malignas, mesmo desconhecendo a história natural da doença, nem sua relação com a infecção pelo HPV (Papanicolaou *et al.*, 1952).



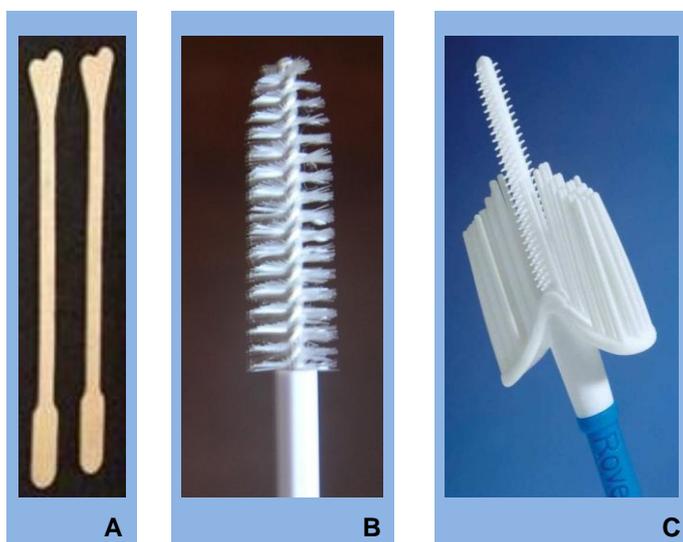
Fonte: Atlas of exfoliative cytology, 1952.

Figura 4. A - Dr. George N. Papanicolaou (1941). B - Atlas do Dr. George N. Papanicolaou, onde ele caracterizava as alterações observadas nos esfregaços de mulheres alterações no colo uterino e as associava com o câncer.

A proposta de Meigs (1947) para a coleta das células para diagnóstico era por aspirado de secreção vaginal. Anos depois, Ayre desenvolveu uma espátula cervical para a coleta direta do colo uterino. Com o entendimento da carcinogênese cervical e a importância da representação celular para o diagnóstico, foi desenvolvida a escova cervical para coleta

(Figura 5), com a qual é possível obter adequada representação dos epitélios escamoso, glandular e/ou metaplásico (Tambouret *et al.*, 2013).

Em 1955, foram publicados dados de uma campanha que rastreou 108.000 mulheres, sendo detectados 773 casos de câncer de colo uterino, mostrando que o rastreamento populacional era uma estratégia viável para a detecção precoce das alterações e que, para se alcançar a queda na incidência dos casos, era necessário acompanhamento adequado às mulheres que apresentaram alterações (Erickson *et al.*, 1955).



Fonte: Acervo do Instituto Adolfo Lutz, 2013.

Figura 5. Instrumentos de coleta de células para diagnóstico precoce do câncer de colo uterino. A - Espátula de Ayre, primeiro instrumento desenvolvido exclusivamente para a obtenção de células do colo uterino; B – Escova de cerdas plásticas, desenvolvida com o intuito de otimizar a representação celular do canal endocervical e a junção escamo-colunar; C – Escova para coleta em meio líquido (Rovers Cervex-Brush Combi®), desenhada a partir do formato da espátula de Ayre com o prolongamento semelhante à escova endocervical, que aumenta a eficácia da coleta.

O rastreamento populacional pelo exame citopatológico proporcionou importante redução na mortalidade ao detectar as lesões precursoras do câncer invasor e possibilitar o tratamento precoce, sobretudo onde a sua aplicação foi organizada. O Reino Unido, por exemplo, entre 1986 e 1999, obteve redução dos índices de carcinomas invasores de colo uterino de 16/100.000 para 8,9/100.000 (Quinn *et al.*, 1999).

Apesar das críticas e limitações, o teste de Papanicolaou, como estratégia de rastreamento, tem contribuído para o controle do câncer do colo uterino nos últimos sessenta anos (Cantor *et al.*, 2005).

1.3. Rastreamento do câncer de colo uterino no Brasil

No Brasil, a primeira iniciativa em relação ao controle de câncer de colo uterino ocorreu em 1956, sendo criado o Centro de Pesquisas Luíza Gomes de Lemos, no Rio de Janeiro, com a finalidade de atender os casos de câncer de mama e trato genital feminino (INCA, 2011).

Na década de 70, foi desenvolvido o Programa Nacional de Controle do Câncer, destinado a todos os tipos de cânceres, porém, com destaque ao rastreamento do câncer de colo uterino. Em 1984 foi implantado o Programa de Atenção Integral à Saúde da Mulher, que previa oferecer às mulheres atividades de prevenção deste tipo de câncer, sendo que sua principal contribuição foi introduzir e estimular a coleta de material para exame citopatológico como rotina ginecológica (INCA, 2011).

A partir de 1988, com a criação do Sistema Único de Saúde (SUS), o Ministério da Saúde (MS) assumiu a coordenação nacional da política de saúde, sendo o Instituto Nacional do Câncer (INCA) o órgão responsável pela formulação da política nacional do câncer (INCA, 2011). Neste mesmo ano, foi realizada uma reunião de consenso onde foi definido que, no Brasil, o exame colpocitológico deveria ser realizado uma vez por ano e, após 2

exames anuais consecutivos negativos a cada 3 anos em mulheres de 25 a 60 anos (INCA, 2002). Desde sua implantação, o SUS tem enfrentado inúmeros desafios para oferecer acesso a cuidados de saúde e garantir que estes cuidados sejam resolutivos e de qualidade.

Em 1996 foi implantado o projeto-piloto “Viva Mulher”, direcionado às mulheres entre 35 e 49 anos de idade, com o objetivo de padronizar protocolos de coleta do material cérvico-vaginal, condutas de tratamento e acompanhamento das mulheres com alteração citológica. A partir dos resultados obtidos, as ações foram expandidas a todo o país, sendo instituído o Programa Nacional de Combate ao Câncer de Colo do Útero na Portaria GM/MS nº 3.040/98 (São Paulo, 1998; INCA, 2002).

Em 1999, para melhor gerenciamento das informações foi criado o Sistema de Informação do Câncer de Colo do Útero (SISCOLO), o qual é um banco de dados para registro de todos os exames citopatológicos de colo uterino realizados na Rede Pública de Saúde (Brasil, 1999).

Em 2002, com a qualificação e fortalecimento da rede de atenção primária e ampliação de centros de referência, foi possível intensificar as ações, com o rastreamento das mulheres que nunca haviam realizado exame preventivo anterior ou que haviam realizado o último preventivo há três anos (INCA, 2011).

Em 2005, foi lançada a Política Nacional de Atenção Oncológica, estabelecendo o controle dos cânceres de mama e colo uterino como componente fundamental para estados e municípios, sendo reafirmado em 2006, através do pacto pela saúde, que incluiu indicadores municipais para monitoramento das ações de prevenção e controle (INCA, 2011).

Em 2010, o INCA elaborou novas diretrizes para a prevenção e tratamento do câncer do colo uterino no Brasil, cuja adoção foi precedida por debates, sendo a utilização da citologia em meio líquido no SUS um dos temas abordados (INCA, 2011).

Apesar dos esforços para ampliar e fortalecer a detecção precoce do câncer de colo uterino, resultados de estudos brasileiros mostraram que, nos últimos três anos, a cobertura do exame citológico do colo do útero foi de 68,7% em mulheres acima dos 24 anos de idade, sendo que 20,8% destas, nunca haviam realizado exame preventivo anterior (IBGE, 2005).

Anderson & May (1995) relataram que 35% de todas as mulheres americanas não haviam sido rastreadas para câncer cervical nos últimos três anos. Ao avaliar subgrupos populacionais, estes percentuais foram ainda maiores, 40% das mulheres viviam em áreas rurais, 43% viviam na pobreza e 47% tinham de 50 a 64 anos.

A Organização Mundial da Saúde estima que, com cobertura de aproximadamente 80% de uma população-alvo, e a garantia de diagnóstico e tratamento adequados dos casos alterados, é possível reduzir, em média, de 60 a 90% a incidência de câncer do colo do útero no Brasil (WHO, 2002).

Os dados evidenciam a necessidade de um rastreamento de alta qualidade e a organização do sistema com maior cobertura populacional, na tentativa de reduzir os diagnósticos falso-positivos (diagnóstico positivo em mulheres saudáveis) e falso-negativos (diagnóstico negativo em mulheres com a doença), e ampliar a cobertura àquelas mulheres que não seguem o protocolo preconizado de rastreamento cervical.

1.4. Nomenclatura das alterações citológicas

A partir do estudo de Papanicolaou & Trauth (1941), que demonstrou a presença de células atípicas em esfregaços citológicos cérvico-vaginais, o exame citológico passou a ser adotado mundialmente como método de rastreamento para o câncer de colo uterino.

A classificação para o diagnóstico citológico sofreu modificações ao longo dos anos. A primeira foi proposta por Papanicolaou e Traut (1941),

porém não se generalizou como prática diagnóstica devido à baixa correlação entre os resultados citológicos e histológicos (Papanicolaou & Traut, 1941; Trauth, 1943; Papanicolaou, 1952).

Em 1953, James Reagan propôs a utilização dos termos displasia (leve, moderada e severa) e carcinoma *in situ*, para descrever as atipias celulares restritas ao epitélio escamoso do colo uterino, empregado em exames citológicos e histológicos, com base na espessura do epitélio que apresentava células anormais (Reagan *et al.*, 1953).

Ralph Richard (1967) questionou as classificações anteriores e propôs a denominação de neoplasia intra-epitelial cervical (NIC) de grau I, II e III, considerando um fenômeno único, contínuo e progressivo, caracterizadas por diversos graus de atipias celulares que compreende parte ou toda a espessura do epitélio cervical.

Em 1988, um grupo de especialistas propôs o “The Bethesda System” (TBS), a fim de incorporar os conhecimentos adquiridos sobre o papel do HPV na carcinogênese e sua correlação clínica (National Cancer Institute, 1989; Solomon & Nayar, 2005). Com o TBS foram introduzidos termos citológicos que compreendem lesões intraepiteliais escamosas de baixo grau (LSIL) e lesões intra-epiteliais escamosas de alto grau (HSIL). (Souza *et al.*, 2004).

A revisão do TBS (1991) enfatizou os casos em que os esfregaços são compostos por alterações mais intensas do que as verificadas em alterações inflamatórias, sem, entretanto, preencher os critérios para a sua classificação como displásicas ou neoplásicas (Border *et al.*, 1992; Solomon & Nayar, 2005). Porém, esta nova categoria trouxe dificuldades em relação à correlação cito-histológica e o seguimento das pacientes que apresentavam tal diagnóstico.

As células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASCUS) são definidas pela presença de anormalidades mais acentuadas que aquelas atribuídas às alterações reativas, mas que qualitativamente ou

quantitativamente são insuficientes para definir um diagnóstico de lesão intra-epitelial ou invasora (Solomon *et al.*, 2002).

Estudos mostraram que enquanto a maioria dos ASCUS refletia apenas um processo inflamatório, cerca de 5 a 10% dos casos estavam associados a lesões intra-epiteliais de alto grau (HSIL) (Cox *et al.*, 1995; Wright *et al.*, 1995; Kinney *et al.*, 1998). A inviabilidade de realizar colposcopia em todos os casos classificados como ASCUS levou os pesquisadores a buscar alternativas para estratificar e melhor diagnosticar estes casos (Manos *et al.*, 1999).

Quadro 1. Evolução das terminologias diagnósticas utilizadas desde 1941, para classificar os exames citopatológico do colo uterino.

Papanicolaou (1941)	Reagan (1953)	Richard (1967)	Bethesda (TBS) (1988)	Bethesda (TBS) (2001)
Classe I	Negativo para neoplasia			
Classe II				
Classe III				ASC-US Atipia escamosa de significado indeterminado não neoplásica
	Displasia leve	NIC I	LSIL Lesão intraepitelial de baixo grau	
				ASC-H Atipia escamosa de significado indeterminado sem excluir alto grau
Classe IV Provavelmente maligno	Displasia moderada	NIC II	HSIL Lesão intraepitelial de alto grau	
	Displasia severa	NIC III		
Classe V Neoplasia maligna	Carcinoma invasor			

Em 2001, a nova revisão do TBS subdividiu as atípias de células escamosas em células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US) e células escamosas atípicas onde não é possível excluir lesão intra-epitelial de alto grau (ASC-H) (Solomon *et al.*, 2002). A avaliação de adequabilidade da amostra foi introduzida na nova revisão, por ser considerada como um dos componentes de qualidade para o diagnóstico citopatológico.

No Brasil, com o Programa Nacional de Controle do Câncer do Colo do Útero e Mama, em 1998, foi implantada a Nomenclatura Brasileira para Laudos de Citopatologia (NBLC), utilizada pelos laboratórios prestadores de serviço ao SUS, desenvolvida a partir da TBS (Brasil, 2006).

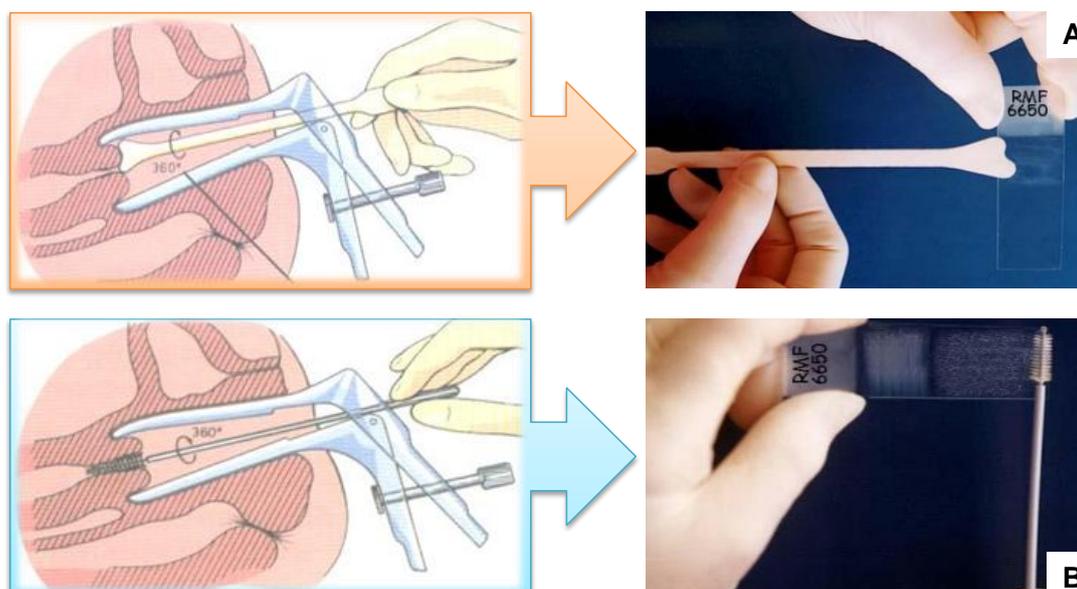
Com a atualização da TBS em 2001 e considerando a necessidade de incorporar novas tecnologias e conhecimentos clínicos, morfológicos e moleculares, o MS/INCA revisou a nomenclatura do diagnóstico citopatológico em conjunto com as respectivas condutas clínicas preconizadas para o SUS, consolidada na Portaria nº 2.073/GM de 26/10/2005 (Brasil, 2006).

1.5. Técnica de citologia convencional

A estratégia adotada mundialmente para o rastreamento do câncer do colo uterino é a realização periódica do exame citopatológico (WHO, 2013); porém, sua eficácia é bastante variável e está sujeita a fatores pré-analíticos, como a técnica e o instrumento utilizados na coleta (tipo de espátula e escova); a qualidade da fixação e coloração dos esfregaços; e fatores analíticos, destacando a necessidade de treinamento adequado e educação continuada dos profissionais que realizam a leitura das lâminas (Center for Disease Control [CDC], 1992; Wilbur *et al.*, 1997).

Na década de 40 a recomendação para a coleta de material era da região de fundo de saco vaginal e colo uterino, com a espátula de Ayre (di Loreto *et al.*, 1993). Com as descobertas sobre o HPV, seu papel na carcinogênese cervical e mecanismo de infecção a partir da JEC, adotou-se a utilização da escova cervical, para obtenção de representação celular adequada para detectar lesões pré-neoplásicas (Longatto-Filho *et al.*, 1991).

Atualmente, na citologia convencional (CC), o material cérvico-vaginal é colhido com espátula de Ayre e escova endocervical, imediatamente distribuído em lâmina de vidro e fixado (Figura 6). Estima-se que cerca de 20% do material colhido seja transferido para a lâmina, sendo o restante descartado junto com a escova, podendo, eventualmente, não refletir a condição real do colo uterino (Velasko *et al.*, 2001).



Fonte: Acervo do Instituto Adolfo Lutz, 2013.

Figura 6. Representação esquemática da coleta do esfregaço cérvico-vaginal para realização do exame de Papanicolaou pela técnica convencional. A - coleta com espátula de Ayre e B – coleta com a escova endocervical.

Por ser de avaliação subjetiva, a eficácia do exame depende diretamente do treinamento e perfil profissional que avalia as amostras; e, em grande parte, da coleta, preparo e cuidados de fixação do material (Vooijs *et al.*, 1996). Além disso, as células ressecam rapidamente ao ar, distorcendo a morfologia e afinidade tintorial, dificultando a interpretação microscópica. Desta forma, estima-se que cerca de 30% dos esfregaços podem apresentar algum tipo de limitação, atingindo até 10% de casos insatisfatórios (Hutchinson *et al.*, 1994; Nagy *et al.*, 1996).

De acordo com di Loreto *et al.* (1993), uma amostra pode ser considerada adequada para avaliação diagnóstica quando: apresentar número adequado de células com boa preservação, distribuição e fixação; houver representação celular da zona de transformação (escamoso, colunar e/ou metaplásico) e ausência de fatores que obscureçam a visualização das características morfológicas das células.

Estudo de Fagundes *et al.* (2001) demonstrou que de 66.212 amostras convencionais, 4,39% apresentaram-se insatisfatórias, sendo 55,4% devido a problemas de fixação. Yamamoto *et al.* (2009) relataram que 2,8% dos exames colpocitológicos realizados no Laboratório de Citologia Oncótica do Instituto Adolfo Lutz (LCO-IAL) foram classificados como insatisfatórios.

As condições de coleta e fixação do material na lâmina, transporte, processamento e análise da lâmina são fatores relacionados ao processo de detecção de atipias (Amaral *et al.*, 2006; Franco *et al.*, 2006; Feitosa *et al.*, 2007). O sucesso do rastreamento do câncer do colo uterino depende da qualidade do exame citológico, do preparo das amostras, da cobertura populacional dos programas de rastreamento, do intervalo entre os procedimentos, do encaminhamento das mulheres com diagnóstico anormal para exame colposcópico, tratamento adequado e acompanhamento eficiente (Cuzick, 1999).

Dados epidemiológicos demonstram que as regiões onde existe um programa de prevenção de câncer contínuo e bem realizado há uma significativa queda da incidência de carcinoma de colo uterino (Kurman *et al.*, 1994; European Commission Europe Against Cancer Programmes, 2000).

Gay *et al.* (1985), avaliaram 339 pacientes com neoplasia maligna de colo uterino e encontraram 66 (19,4%) casos falso-negativo pela citologia, identificados como: 62% erros de amostragem, 16% erros de escrutínio e 22% erros de interpretação, demonstrando que a falha na representação celular adequada e bem preservada é primordial para o sucesso do rastreamento.

Entretanto, embora o método de Papanicolaou convencional apresente alta especificidade, em torno de 98%, ele possui baixa sensibilidade, cerca de 51%, conforme descrito em estudos de meta-análise (Fahey *et al.*, 1995; Cohn e Herzog, 2001; Bernstein *et al.*, 2001). A preocupação com a qualidade das amostras e a baixa sensibilidade do método convencional motivou a busca por inovações, como a técnica de citologia em meio líquido (CML).

1.6. Técnica de citologia em meio líquido

Mundialmente, o teste de Papanicolaou passou a ser utilizado como método de rastreamento populacional, aumentando a demanda de exames, porém, nem sempre na mesma proporção em que se formavam profissionais qualificados para realizar diagnóstico, fato que refletiu no aumento da carga de trabalho dos profissionais e na consequente elevação das taxas de diagnósticos falso-negativos.

A partir da década de 90, a citologia em meio líquido (CML) foi desenvolvida, a princípio, para atender às demandas de rastreamento computadorizado com o intuito de minimizar as causas de resultados falso-negativo relacionadas ao escrutínio da amostra.

Para viabilizar a leitura das lâminas por computador, os esfregaços deveriam apresentar menor número de artefatos e sobreposição celular (Sprenger *et al.*, 1996; Mattosinho de Castro Ferraz *et al.*, 2004; Longatto-Filho *et al.*, 2005; Alves *et al.*, 2006). O *Food and Drug Administration* (FDA) aprovou o uso da CML a partir de 1996 e em 2003, o primeiro leitor automatizado para rastreamento cervical.

Pela técnica de CML, as células removidas do colo uterino são colocadas juntamente com a escova endocervical em frasco contendo líquido preservativo, o qual é encaminhado ao laboratório sob a forma de suspensão celular. A técnica resulta em amostras com fixação adequada, preservação da morfologia celular e confecção de esfregaços em monocamada para avaliação citológica, além da preservação de moléculas proteicas e ácidos nucleicos que poderão ser utilizados posteriormente em testes biomoleculares (Ferenczy e Franco, 2001; Bernstein *et al.*, 2001; Gupta *et al.*, 2001; Velasco *et al.*, 2001; Nonogaki *et al.*, 2004).

A Figura 7 demonstra a forma de coleta e transporte da citologia colhida em meio líquido. O frasco com a ponta da escova de coleta é encaminhado ao laboratório, onde será realizado o processamento da amostra e a confecção das lâminas.



Fonte: BD Diagnostic, 2009.

Figura 7. Representação esquemática da coleta de amostra cervico-vaginal pela técnica de citologia em meio líquido.

Além disso, praticamente a totalidade de células coletadas é transferida diretamente ao líquido preservativo, reduzindo a possibilidade de perda de material. As células coletadas são homogeneizadas por agitação durante o preparo da lâmina oferecendo amostra mais representativa quando comparada à técnica de CC. A distribuição homogênea das células, as características citomorfológicas mais nítidas e menor área de análise permitem considerável diminuição no tempo de análise microscópica (Arbyn e Abarca, 2003).

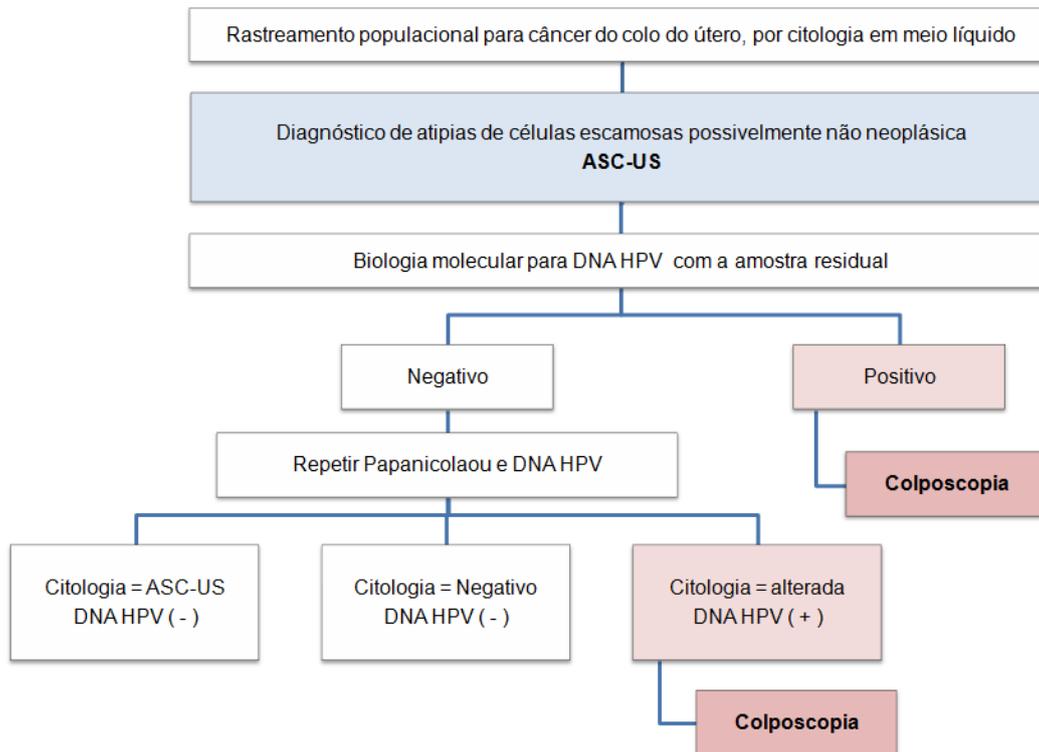
O método diminui o número de hemácias, de exsudato inflamatório e de muco, fatores que costumam limitar a qualidade da amostra. Permite ainda a utilização do material residual para o preparo de lâminas adicionais e/ou colorações especiais a partir do mesmo material, sem necessidade de se convocar a paciente para nova coleta.

Estudo de Pinto *et al.* (2007) demonstrou que a diluição ou repetição de amostras de CML pode melhorar o diagnóstico citológico, além de diminuir fatores limitantes que obscurecem a amostra. Maksem *et al.* (2005) mostraram que este procedimento pode, no caso de amostras inicialmente caracterizadas como insatisfatórias ou como ASC, conseguir amostras satisfatórias ou esclarecer dúvidas quanto às atipias.

Ao considerarmos que o objetivo do rastreio citopatológico é identificar as lesões precursoras e o câncer de colo de útero, interessa saber qual a probabilidade de encontrar tais doenças quando uma mulher apresenta o diagnóstico citopatológico de atipia. O teste de CH 2 para DNA-HPV em conjunto com a citologia melhora a eficácia do rastreio, encontrando-se sensibilidade de Papanicolaou combinado com teste de DNA-HPV de 93,3% e valor preditivo negativo de 98,8% (Clavel *et al.*, 1999).

A literatura estima que aproximadamente 70% das ASC e LSIL irá regredir espontaneamente, sem terapia. Porém, com a CC não é possível determinar quais pacientes irão ou não progredir para lesão de alto grau. Em alguns países, a tipagem do HPV de alto risco tem sido indicada como triagem para determinar quais pacientes devem ser encaminhadas à colposcopia e biópsia, e quais podem ser acompanhadas pela repetição do exame citopatológico após 6 meses (Linder, 1998).

O estudo mais importante sobre células escamosas atípicas foi o ASCUS-LSIL triage study (ALTS). Trata-se de um ensaio clínico randomizado que demonstrou que a repetição da citologia, encaminhamento para colposcopia ou detecção de HPV oncogênico pela CH2 eram estratégias seguras e aceitáveis quando o diagnóstico citológico inicial era ASC-US (The ALTS Group, 2003). A Figura 8 ilustra a proposta do grupo para o rastreamento populacional com associação entre a citologia e a biologia molecular.



Fonte: ALST Group, 2003.

Figura 8. Algoritmo proposto pelo "The ALTS group" para rastreamento populacional de mulheres com diagnóstico de ASC-US, associando citologia e captura híbrida 2 para HPV de alto risco.

1.7. Justificativa do estudo

Há mais de 20 anos, o Laboratório de Citologia Oncótica do Instituto Adolfo Lutz (LCO-IAL) realiza os exames citopatológicos das mulheres provenientes da região do Vale do Ribeira, totalizando, em média, 35.000 exames anuais. Todas as amostras são colhidas pela CC e apesar dos investimentos em treinamento do pessoal para melhoria da qualidade da coleta das amostras, ainda observamos elevados percentuais de exames insatisfatórios no decorrer desse tempo. Há também alto índice de atipias de significado indeterminado, sobretudo devido à má preservação das amostras. Ainda que os esfregaços estejam considerados satisfatórios, estes artefatos prejudicam a avaliação e o diagnóstico.

A técnica de CML aparece como uma possibilidade para a redução das limitações técnicas. Embora a técnica de CML seja amplamente utilizada em diversos países, representando cerca de 80% dos exames colpocitológicos nos EUA (Saint *et al*, 2005), no Brasil atualmente ela é empregada somente em clínicas particulares, sendo que poucos estudos relatam sua aplicação no SUS, todos realizados com casuística restrita.

O estudo justifica-se pela necessidade de obter dados em relação ao desempenho da CML para a detecção precoce das lesões precursoras do câncer do colo uterino no âmbito do SUS, com ênfase no potencial de melhoria da qualidade das amostras, visto que a literatura apresenta poucos dados aplicados à realidade brasileira. Estas regiões mais carentes de recursos, onde a dificuldade em se obter homogeneidade na qualidade das amostras provenientes de diversas Unidades de Saúde é maior, o uso desta nova técnica possa ser benéfico.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Avaliar o desempenho da técnica de citologia em meio líquido em comparação com a técnica de citologia convencional para exame citopatológico das Unidades de Saúde do Sistema Único de Saúde.

2.2. Objetivos específicos

Comparar os percentuais de exames com diagnósticos de atipia de significado indeterminado, lesão de baixo grau, lesão de alto grau e neoplasias invasivas, entre as técnicas.

Comparar os percentuais de exames citopatológico com diagnósticos inconclusivos devido à amostra insatisfatória, entre as técnicas.

Avaliar o tempo gasto nos procedimentos técnicos e análise microscópica, em ambas as técnicas.

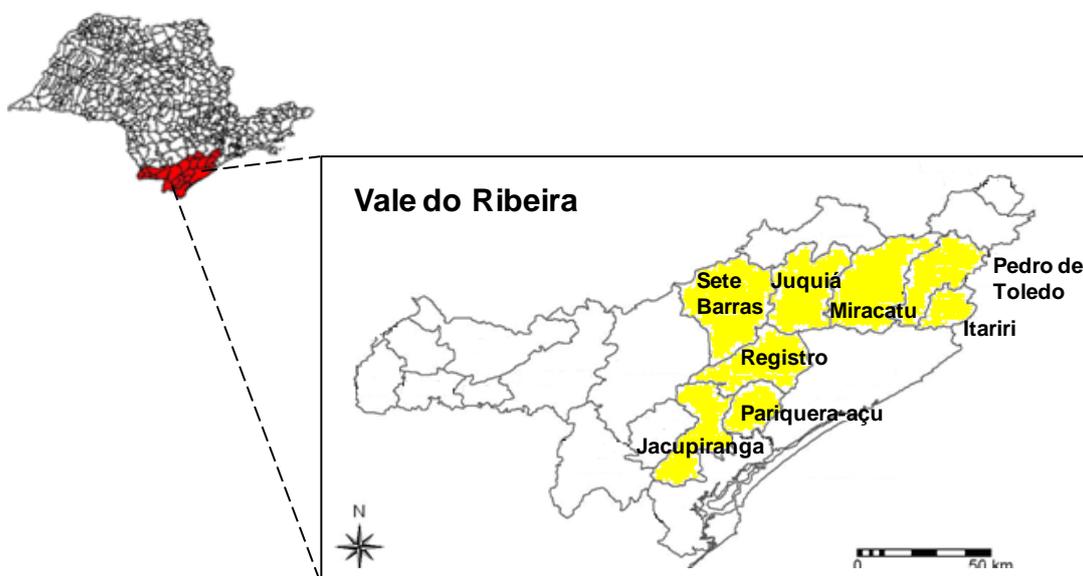
3. Material e Métodos

Desenho do estudo

Trata-se de um estudo comparativo, onde foram avaliados critérios técnicos e percentuais de diagnósticos citológicos alterados e amostras insatisfatórias, entre amostras retrospectivas de CC e prospectivas de CML.

Municípios de coleta

As amostras foram provenientes de 76 Unidades de Saúde que atendem ao SUS, dos municípios de Pedro de Toledo, Itariri, Miracatu, Registro, Jacupiranga, Sete Barras, Juquiá e Pariquera-Açu, pertencentes à DRS XII, região do Vale do Ribeira, no Estado de São Paulo, entre os anos de 2009 a 2011.



Fonte: IBGE, 2012.

Figura 9. Divisão política dos municípios do Vale do Ribeira atendidos pelo LCO-IAL.

Técnica de citologia convencional

Para compor o banco de dados histórico, foram incluídos os diagnósticos citopatológicos das CC analisadas no LCO-IAL, nos anos de 2009 e 2010. O levantamento histórico foi obtido a partir do banco de dados do SISCOLO, totalizando 31.500 diagnósticos citopatológicos pela técnica convencional realizados no LCO-IAL, nos anos de 2009 (15.127) e 2010 (16.373).

As amostras de CC foram obtidas de acordo com o protocolo de coleta determinado pelo LCO-IAL, segundo recomendações do Ministério da Saúde. Os profissionais das Unidades de Saúde receberam treinamento prévio para coleta, preservação e transporte das amostras. Todas as amostras foram colhidas com espátula de Ayre e escova endocervical, distribuídas em lâmina de vidro com extremidade fosca, identificadas com as iniciais da paciente e número de prontuário e fixadas com polietilenoglicol.

As amostras foram recebidas e triadas no LCO-IAL, segundo as normas de controle de qualidade interno. Antes de serem submetidas à bateria de coloração de Papanicolaou no laboratório, permaneceram “*overnight*” em banho de álcool absoluto para a retirada total da película de polietilenoglicol. Os resíduos de fixador dificultam e alteram a afinidade tintorial dos corantes pelas estruturas presentes na lâmina.

As amostras foram coradas pela técnica de coloração de Papanicolaou modificada, adotada pelo LCO-IAL. Foram montadas com lamínula e meio de montagem apropriado, etiquetadas e distribuídas aos profissionais responsáveis pela leitura das lâminas (Anexo I - Protocolo das etapas da técnica de coloração de Papanicolaou modificada, utilizada no LCO-IAL.). Todos os exames foram realizados de acordo com o fluxo do controle de qualidade interno do LCO-IAL.

Técnica de citologia em meio líquido

As amostras cérvico-vaginais analisadas no LCO-IAL em 2011 foram obtidas pela técnica de CML, totalizando 9.764 amostras. Todos os profissionais envolvidos na coleta do material foram previamente treinados para a nova metodologia.

A coleta de material para CML foi realizada com escova cervical (Cervex® Rovens Diagnóstico Devices Boonton, NJ) para obtenção das células escamosas e glandulares de acordo com as instruções do fabricante. Imediatamente após a coleta, a escova foi inserida no frasco contendo fluido preservador a base de etanol (TriPath) do Kit previamente identificado, e sua ponta destacada.

As amostras foram mantidas à temperatura ambiente e transportadas ao laboratório de acordo com a rotina. As amostras foram recebidas e triadas no LCO-IAL, segundo as normas de controle de qualidade interno.

Para o processamento e confecção das lâminas, as amostras foram homogeneizadas, colocadas no PrepMate, que transferiu 4 mL da amostra para um tubo com 4 mL de gradiente de densidade. As amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 2.000 rpm. O gradiente de densidade foi utilizado a fim de promover a remoção de interferentes provenientes da coleta do material, tais como muco, piócitos e/ou hemácias.

Após, aspirou-se o sobrenadante e adicionou-se 1 mL de solução tampão ao *pallet* celular para preservação das células. A confecção do esfregaço em lâminas foi automatizada, incluindo a etapa da coloração pelo Método de Papanicolaou, realizada conforme recomendação do fabricante (Anexo II - Protocolo para confecção de amostras cérvico-vaginais pela técnica de citologia em meio líquido BD Sure Path™ Pap Test).

Posteriormente, a montagem e identificação das lâminas foram realizadas manualmente, de modo similar ao da rotina dos exames convencionais. Após realização do exame, o material residual foi armazenado em geladeira entre 2º e 8º C por 6 meses, para o caso de necessidade de exame adicional.

Escrutínio das lâminas

Todas as amostras foram revisadas por pesquisadores, biólogos e citopatologistas do LCO-IAL. As lâminas seguiram o fluxo de controle de qualidade interno do laboratório, representado na Figura 10.

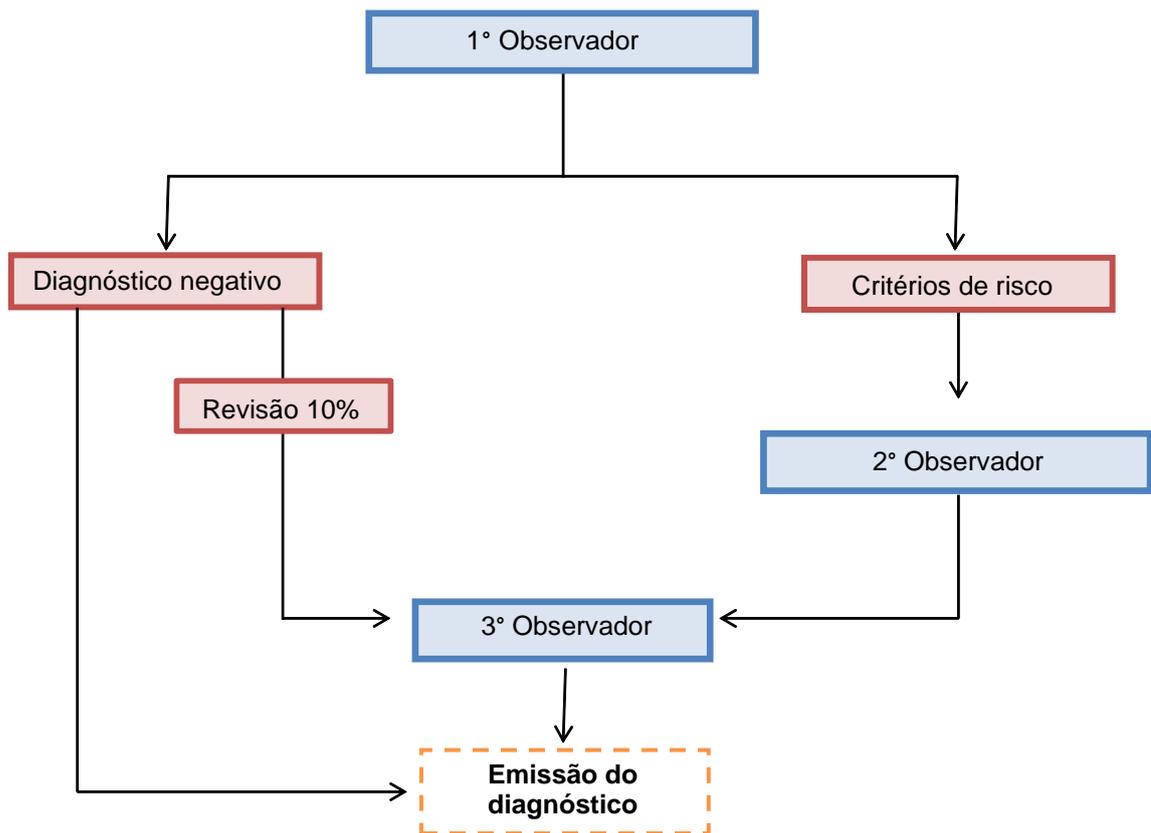


Figura 10. Fluxograma do controle de qualidade interno dos exames citopatológicos realizados no LCO-IAL.

Todos os casos foram triados pelo 1º observador, que separou as amostras como negativos ou amostras selecionadas para revisão segundo os critérios de risco clínico ou morfológico. Os casos negativos foram liberados para digitação dos laudos, com exceção de 10% dos exames que foram selecionados aleatoriamente para revisão.

Os casos que atenderam critérios de risco clínico ou morfológico foram examinados pelo 2º observador e 3º observador, que emitiu o diagnóstico final (Alves *et al*, 1991). Todos os profissionais envolvidos no escrutínio das lâminas obtiveram certificação de treinamento para CML. Os casos interessantes foram fotografados e utilizados para discussões em reuniões quinzenais, com intuito de educação continuada.

Nomenclatura

Os diagnósticos foram atribuídos utilizando a nomenclatura brasileira para laudos cervicais (Brasil, 2006), adaptada do Sistema de Bethesda de 2001, classificando-as em:

Amostra insatisfatória devido a:

- Material acelular ou hipocelular;
- Presença de sangue em mais de 75% do esfregaço;
- Presença de piócitos em mais de 75% do esfregaço;
- Artefatos de dessecação em mais de 75% do esfregaço;
- Intensa sobreposição celular em mais de 75% do esfregaço;
- Contaminantes externos em mais de 75% do esfregaço;

A figura 11 mostra os critérios morfológicos considerados para classificar uma amostra cérvico-vaginal como insatisfatória para avaliação.

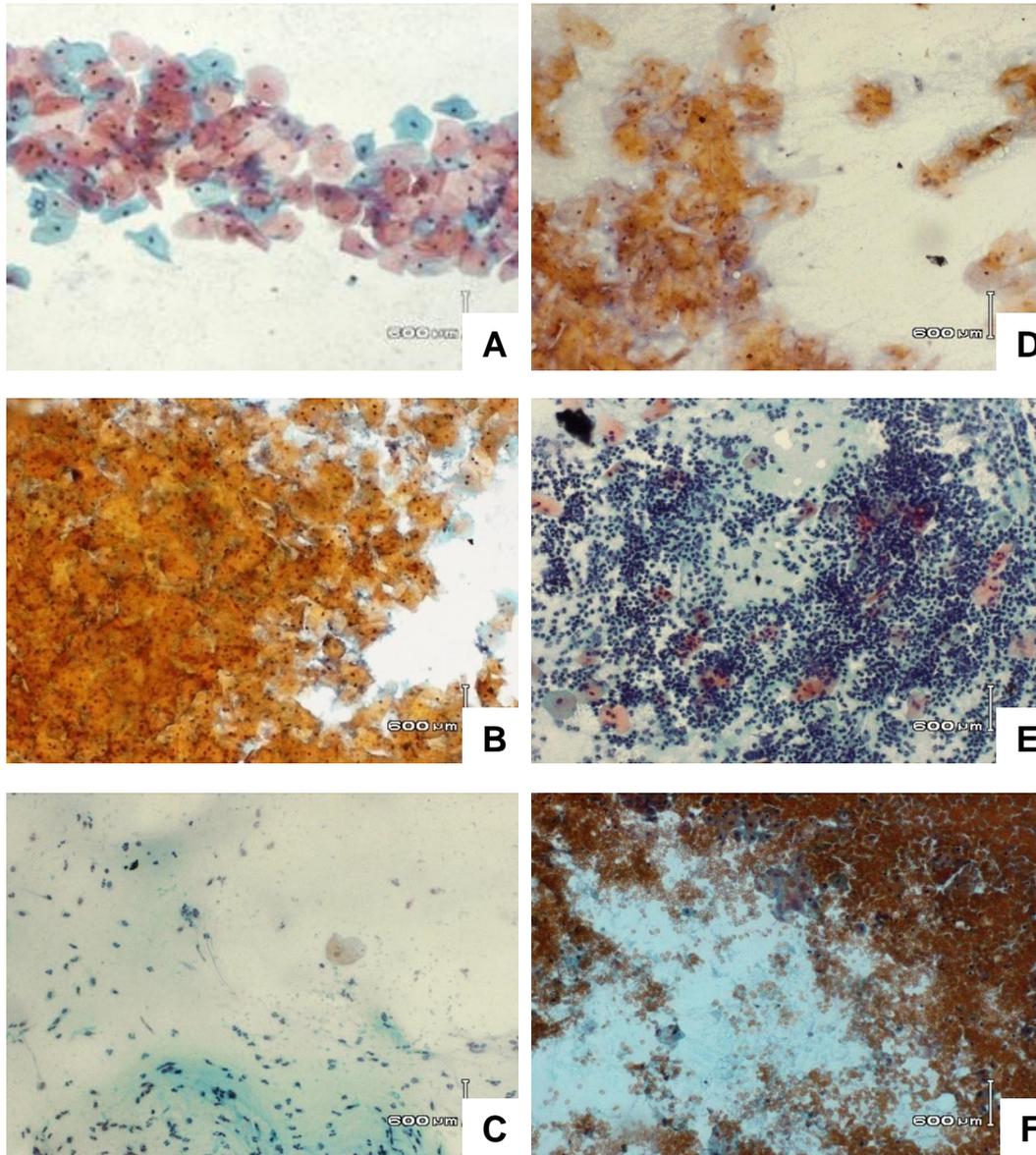


Figura 11 A- Amostra cérvico-vaginal satisfatória para avaliação; As outras imagens correspondem a amostras insatisfatórias para avaliação devido à:
 B- Intensa sobreposição celular; C- Material acelular (<10% do esfregaço contendo células escamosas); D- Dessecamento (falha na fixação da amostra); E- Numerosos piócitos; F- Amostra hemorrágica.

Amostra satisfatória classificada como:

- Dentro dos limites da normalidade;
- Inflamação;
- Células atípicas de significado indeterminado:
 - o Escamoso: possivelmente não neoplásica (ASC-US), ou não se pode afastar lesão de alto grau (ASC-H);
 - o Glandular: possivelmente não neoplásica (AGC-US), ou não se pode afastar lesão de alto grau (AGC-H);
 - o De origem indefinida: possivelmente não neoplásica (AOC-US), ou não se pode afastar lesão de alto grau (AOC-H);
- Lesão intra-epitelial de baixo grau (LSIL);
- Lesão intra-epitelial de alto grau (HSIL);
- Lesão intra-epitelial de alto grau, não podendo excluir micro-invasão (HSIL micro);
- Carcinoma epidermóide invasor (CA);
- Adenocarcinoma *in situ* (Adeno *in situ*);
- Adenocarcinoma invasor;
- Outras neoplasias malignas.

Tempo de processamento das amostras

Para a avaliação de processamento das amostras foi considerado o tempo gasto com: recepção e triagem, confecção das lâminas (no caso da CML, pois na CC as lâminas chegam prontas ao laboratório), coloração, montagem e identificação das amostras.

O cálculo foi estimado com base no total de 48 amostras, pois é a capacidade máxima de produção do aparelho da técnica de CML.

Tempo de escrutínio das amostras

Para cálculo do tempo de leitura das amostras foi considerado o tempo gasto para a leitura de 48 amostras de CC e 48 amostras de CML, por um mesmo profissional, em condições iguais para os dois conjuntos de amostras.

Aspectos éticos

Na etapa prospectiva do estudo, todas as pacientes foram informadas sobre a pesquisa e assinaram termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo III – Termo de consentimento livre e esclarecido e IV – Termo de esclarecimento das condições do estudo à paciente).

O projeto foi aprovado pelo CEPIAL (Anexo V – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Adolfo Lutz /CEPIAL n° 044 D / 2010). O projeto foi financiado pelo Programa de Pesquisa para o SUS: PPSUS-FAPESP (n° 2009-53133-2).

Análise e estatística

Para avaliar diferenças entre as proporções de cada variável utilizou-se teste de comparação entre duas proporções, com 5% de significância (Altman, 1991). Foi testada a diferença entre as categorias comparando a técnica convencional nos anos de 2009 e 2010 com a técnica em meio líquido, além de avaliar se houve diferença estatisticamente significativa entre as categorias nos períodos de 2009 e 2010. O p-valor abaixo de 0,05 indica diferenças estatisticamente significativas entre as proporções. A análise estatística foi realizada utilizando software STATISTICA-versão 10 (Statsoft TULSA, OK, EUA)

4. Resultados

Foram avaliados 41.264 diagnósticos de citologia cérvico-vaginal, sendo 31.500 pela técnica de citologia convencional (CC) e 9.764 pela técnica de citologia em meio líquido (CML).

Em 2009, foram avaliadas 15.127 amostras de CC, sendo que destas, 13.388 (88,50%) foram diagnosticadas como negativo para malignidade, 1.173 (7,75%) classificadas com alguma atipia epitelial, portanto, considerado positivo (ASC-US, LSIL, ASC-H, HSIL, HSIL micro, Carcinoma, AGC-US, AGC-H e Adeno *in situ*); e 566 (3,74%) amostras foram classificadas como insatisfatória para análise citológica.

Em 2010, foram 16.373 amostras de CC, sendo 14.554 (88,89%) negativas, 1.283 (7,84%) positivas e 536 (3,27%) insatisfatórias.

Em 2011, foram 9.764 amostras pela técnica de CML, onde 8.610 (88,18%) foram negativas, 1.130 (11,57%) positivas e 24 (0,25%) insatisfatórias. A Tabela 1 mostra a distribuição dos diagnósticos dos exames citopatológicos realizados no LCO-IAL no período entre 2009 e 2011.

Tabela 1. Distribuição dos diagnósticos dos exames citopatológicos cérvico-vaginais pela técnica de CC e pela técnica de CML, realizados no LCO-IAL, entre 2009 e 2011.

Diagnóstico	2009 (CC)		2010 (CC)		2011 (CML)	
	N	Frequência	N	Frequência	N	Frequência
Negativos	13.388	88,50	14.554	88,89	8.610	88,18
Positivos*	1.173	7,75	1.283	7,84	1.130	11,57
Insatisfatórios	566	3,74	536	3,27	24	0,25
TOTAL	15.127	100	16.373	100	9.764	100

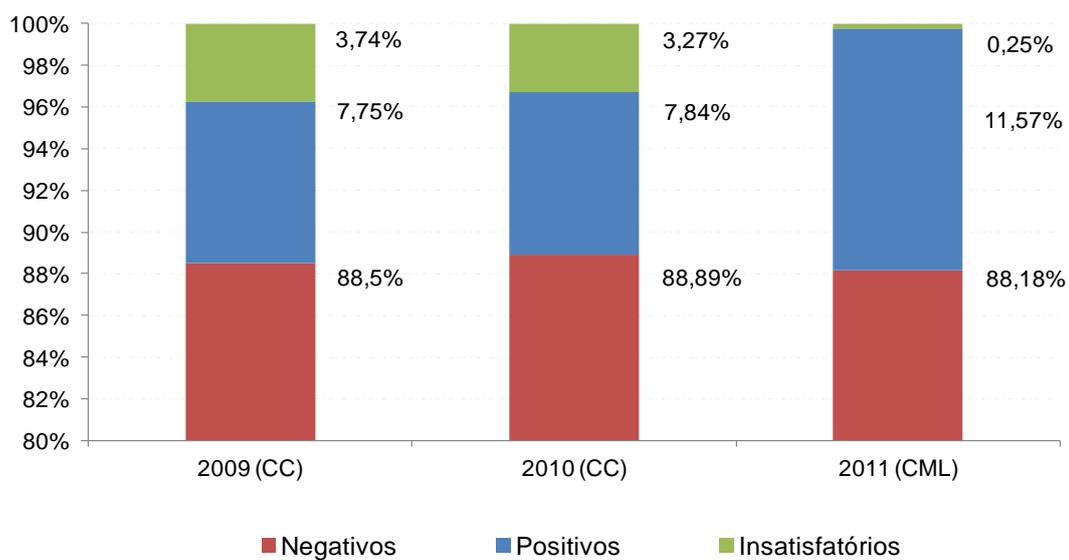
CC – citologia convencional

CML – citologia em meio líquido

* Foram considerados positivos os casos com diagnóstico de ASC-US, LSIL, ASC-H, HSIL, HSIL micro, Carcinoma, AGC-US, AGC-H e Adeno *in situ*)

O Gráfico 1 ilustra a distribuição dos diagnósticos citológicos negativos, positivos e insatisfatórios pela técnica de CC e pela técnica de CML realizados no LCO-IAL no período de 2009 a 2011.

Gráfico 1. Distribuição dos diagnósticos dos exames citopatológicos cérvico-vaginais, realizados no LCO-IAL, no período de 2009 à 2011.



Pela técnica de CC, foram classificados como positivo para atipias epiteliais 2.456 (7,8%) amostras, sendo 1.173 (7,75%) em 2009 e 1.283 (7,84%) em 2010. Pela técnica de CML, 1.130 (11,57%) amostras foram classificadas como positiva para atipia epitelial. A frequência dos diagnósticos citológicos positivos por ambas as técnicas encontra-se na Tabela 2.

Tabela 2. Distribuição dos diagnósticos dos exames citopatológicos cérvico-vaginais positivos para alterações epiteliais, pela técnica de CC em 2009 e 2010 e pela técnica de CML em 2011, realizados no LCO-IAL.

Diagnósticos	2009 (CC)		2010 (CC)		2011 (CML)	
	N	Frequência	N	Frequência	N	Frequência
ASC-US	677	57,72	747	58,22	682	60,35
LSIL	257	21,91	317	24,71	340	30,09
ASC-H	90	7,67	65	5,07	47	4,16
HSIL	55	4,69	57	4,44	32	2,83
HSIL micro	4	0,34	5	0,39	-	-
Carcinoma	3	0,26	7	0,55	3	0,27
AGC-US	78	6,65	81	6,31	23	2,04
AGC-H	8	0,68	4	0,31	2	0,18
Adeno <i>in situ</i>	1	0,09	-	-	1	0,09
TOTAL	1.173	100	1.283	100	1.130	100

A Tabela 3 mostra a comparação das frequências absolutas e relativas dos diagnósticos dos exames citopatológicos cérvico-vaginais pela técnica de CC. Nota-se que, apesar da diferença entre as proporções de diagnóstico insatisfatório ser pequena, há diferença estatisticamente significativa ($p=0,02$) entre ambas nos anos 2009 e 2010 com relação aos esfregaços convencionais, assim como para o diagnóstico ASC-H ($p=0,02$). Para as variáveis de diagnóstico negativo ($p=0,26$), ASC-US ($p=0,73$), AGC-US e AGC-H ($p=0,47$) e LSIL ($p=0,11$), HSIL ($p=0,88$), e para o grupo contendo as variáveis HSIL microinvasor, carcinoma e adenoCa *in situ* ($p=0,73$), não foram detectadas diferenças estatísticas entre as proporções nos anos analisados.

Tabela 3. Comparação das frequências absoluta e relativa observadas nos diagnósticos dos exames citopatológicos cérvico-vaginais pela técnica de CC, no LCO-IAL, entre 2009 e 2010.

Diagnóstico	2009		2010		<i>p</i> -valor
	N	Frequência	N	Frequência	
Insatisfatório	566	3,74	536	3,27	0,02*
Negativo	13.388	88,50	14.554	88,89	0,26
ASC-US	677	4,48	747	4,56	0,73
ASC-H	90	0,59	65	0,40	0,02*
AGC-US + AGC-H	86	0,57	85	0,52	0,47
LSIL	257	1,70	317	1,94	0,11
HSIL	55	0,36	57	0,35	0,88
HSIL micro + Carcinoma + Adeno <i>in situ</i>	8	0,05	12	0,07	0,73
TOTAL	15.127	100	16.373	100	-

* *p*-valor estatisticamente significativo

Na Tabela 4, onde constam os dados de comparação entre a técnica de CC e a técnica de CML, nos períodos 2009/2010 e 2011, observa-se diferença estatisticamente significativa entre as proporções dos anos 2009 e 2011 para o diagnóstico insatisfatório ($p < 0,001$), ASC-US ($p < 0,001$), AGC-US e AGC-H ($p < 0,001$) e para LSIL ($p < 0,001$). No entanto, para os diagnósticos negativo ($p=0,16$), ASC-H ($p=0,90$), HSIL ($p=0,66$) e para o grupo contendo as variáveis HSIL microinvasor, carcinoma e adenoCa *in situ* ($p=0,46$) não foi detectada diferença estatística entre as proporções nos anos analisados.

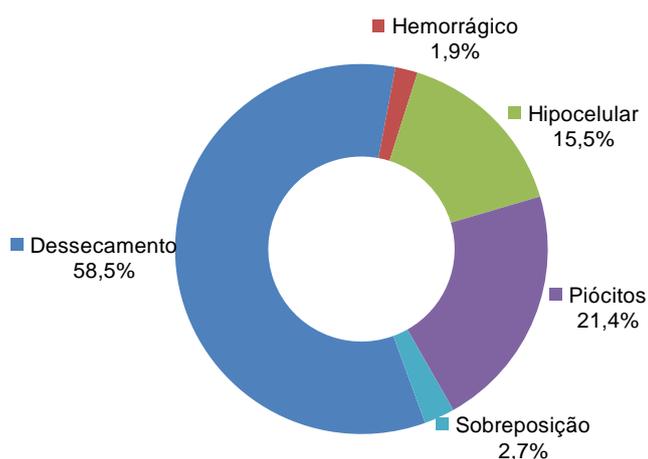
Tabela 4. Comparação das frequências absoluta e relativa observadas nos diagnósticos citopatológicos cérvico-vaginais obtidos pela técnica de CC em 2009 e 2010 e pela técnica de CML em 2011, no LCO-IAL.

Diagnóstico	2009 e 2010 (CC)		2011 (CML)		<i>p</i> -valor
	N	Frequência	N	Frequência	
Insatisfatório	1.102	3,50	24	0,25	< 0,001*
Negativo	27.942	88,70	8.610	88,18	0,16
ASC-US	1.424	4,52	682	6,98	< 0,001*
ASC-H	155	0,49	47	0,48	0,90
AGC-US + AGC-H	171	0,54	25	0,26	< 0,001*
LSIL	574	1,82	340	3,48	< 0,001*
HSIL	112	0,36	32	0,33	0,66
HSIL micro + Carcinoma + Adeno <i>in situ</i>	20	0,06	4	0,04	0,46
TOTAL	31.500	100	9.764	100	-

* *p*-valor estatisticamente significativo

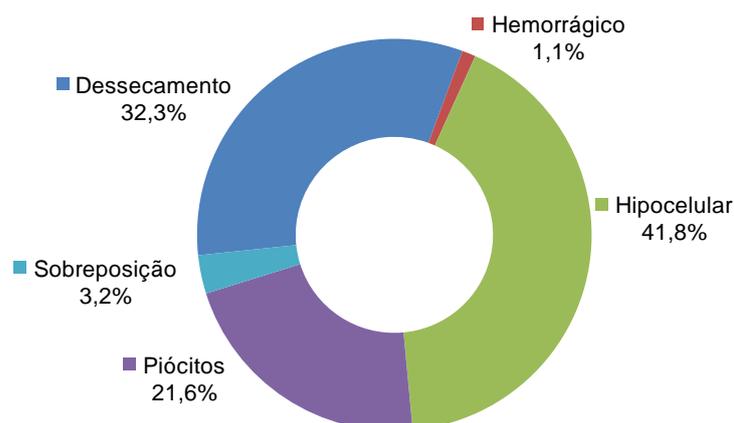
O gráfico 2 mostra a distribuição das causas de amostras cérvico-vaginais classificadas como insatisfatório pela técnica de CC, em 2009. Das 566 amostras insatisfatórias, 331 (58,5%) foram prejudicadas por dessecamento, 11 (1,9%) por presença de sangue, 121 (21,4%) por presença de piócitos, 88 (15,5%) por amostra hipocelular e 15 (2,7%) por sobreposição celular.

Gráfico 2. Distribuição das causas de amostras cérvico-vaginais (n=566) classificadas como insatisfatória pela técnica de CC em 2009, no LCO-IAL.



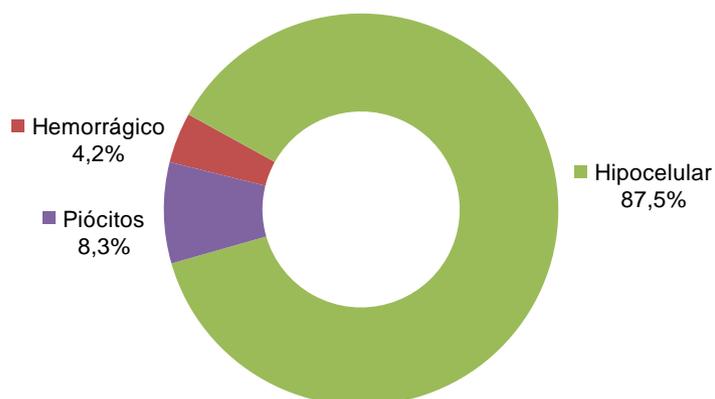
O gráfico 3 mostra a distribuição das causas de amostras cérvico-vaginais classificadas como insatisfatório pela técnica de CC em 2010. Do total de 536 amostras insatisfatórias, 173 (32,3%) foram prejudicadas por dessecamento, 6 (1,1%) por presença de sangue, 116 (21,6%) por presença de piócitos, 224 (41,8%) por amostra hipocelular e 17 (3,2%) por sobreposição celular.

Gráfico 3. Distribuição das causas de amostras cérvico-vaginais (n=536) classificadas como insatisfatória pela técnica de CC em 2010, no LCO-IAL.



O gráfico 4 mostra a distribuição das causas de amostras cérvico-vaginais classificadas como insatisfatório pela técnica de CML em 2011. Das amostras insatisfatórias, 1 (4,2%) foi devido à presença de sangue, 2 (8,3%) por presença de piócitos e 21 (87,5%) por amostra hipocelular.

Gráfico 4. Distribuição das causas de amostras cérvico-vaginais (n=24) classificadas como insatisfatória pela técnica de CML em 2011, no LCO-IAL.



A Tabela 5 mostra o tempo médio, em minutos, gasto em cada etapa técnica da CC e da CML para a confecção de 48 amostras. As etapas de triagem (45 minutos) e montagem (20 minutos) foram iguais para ambas as técnicas. Para a etapa de confecção e coloração das amostras, foram estimados 15 minutos para a CC e 107 minutos para a CML. O banho “*over night*” foi considerado como 300 minutos, sendo uma etapa necessária apenas para a técnica de CC. O tempo médio necessário para a triagem, confecção, coloração e montagem de uma amostra pela técnica de CC foi de 8 minutos, já para a técnica de CML foi de 4 minutos, representando economia de 50% do tempo para a execução dos procedimentos técnicos de cada técnica.

Tabela 5. Tempo médio gasto com os procedimentos técnicos para amostras de CC e CML, expresso em minutos.

Procedimento técnico	Citologia convencional	Citologia em meio líquido
Triagem	45'	45'
Confecção e coloração	15'	107'
Banho “ <i>over night</i> ”	300'	-
Montagem	20'	20'
TOTAL	8'	4'

A Tabela 6 mostra o tempo de escrutínio para cada uma das 48 amostras selecionadas para o estudo. O tempo médio despedido para o escrutínio dos esfregaços pela técnica de CC foi de 5 minutos e 04 segundos e 3 minutos e 52 segundos para cada esfregaço pela técnica de CML.

Tabela 6. Tempo gasto para o escrutínio das amostras pela técnica de CC e pela técnica de CML.

Nº	Citologia convencional	Citologia em meio líquido	Nº	Citologia convencional	Citologia em meio líquido
1	4:57	3:16	25	2:10	4:35
2	4:23	3:35	26	5:44	4:32
3	6:40	5:08	27	4:17	5:20
4	2:48	4:43	28	5:59	3:20
5	3:20	4:01	29	3:44	3:29
6	7:01	4:04	30	4:38	4:15
7	1:53	4:53	31	5:14	5:15
8	6:27	3:50	32	6:09	2:31
9	4:21	3:11	33	5:01	3:45
10	4:27	4:04	34	5:57	4:21
11	6:48	5:09	35	3:05	3:13
12	3:20	1:52	36	4:30	3:40
13	4:07	5:40	37	3:54	1:56
14	3:22	3:03	38	4:42	4:15
15	7:21	2:23	39	7:54	4:10
16	4:37	3:53	40	3:19	2:57
17	6:11	1:57	41	3:52	3:50
18	6:34	3:09	42	4:20	3:12
19	3:10	5:07	43	5:02	3:31
20	5:07	5:00	44	6:50	4:13
21	5:00	3:29	45	7:33	3:26
22	9:25	3:33	46	7:30	5:39
23	9:14	3:52	47	4:30	4:56
24	2:47	2:36	48	4:17	4:19
Média total				5:04	3:52

Na Figura 12 foram exibidos aspectos comparativos entre as técnicas de CC e CML. Na parte superior da figura nota-se a homogeneidade das áreas de leitura entre as lâminas de CML quando comparadas às lâminas de CC.

Na parte inferior da figura, detalhe para o aspecto da microscopia ótica nos aumentos de 100X e 400X. Notar a diferença entre a coloração das amostras confeccionadas pela técnica de CC e CML. Pela técnica de CML, a distinção entre os tipos celulares (100x) e melhor definição nuclear e detalhamento da cromatina (400x) é bastante evidente, devido, principalmente, à fixação imediata do material cérvico-vaginal.

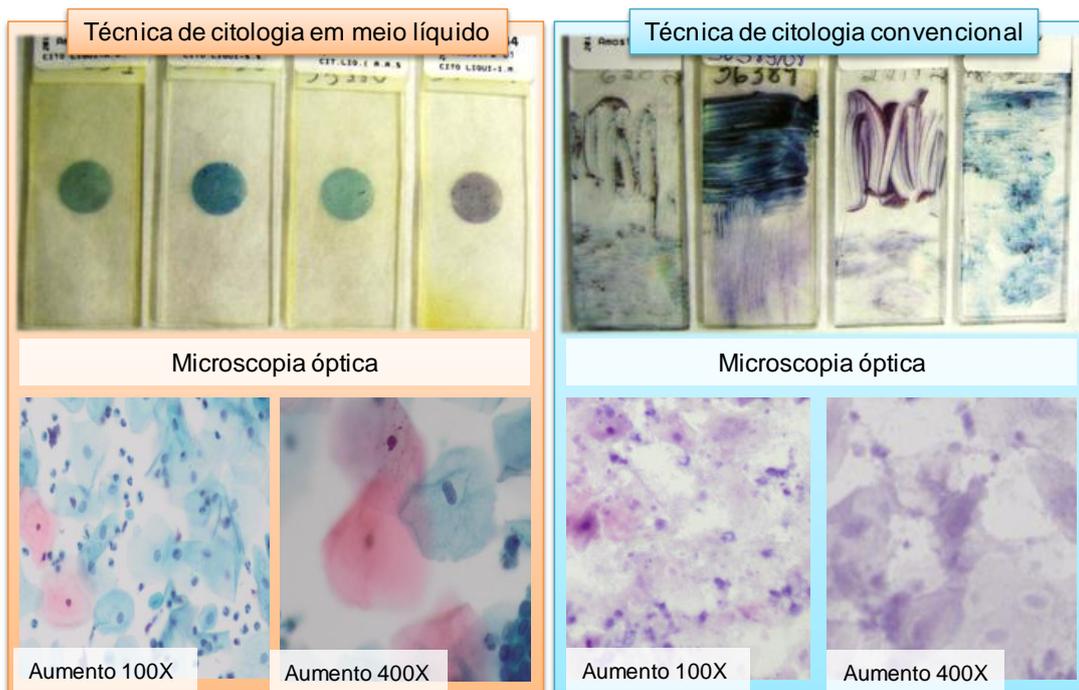


Figura 12. Comparação entre os preparados de citologia em meio líquido e citologia convencional.

5. Discussão

Vários estudos relatam as vantagens da CML em relação à CC, dentre elas maior detecção de lesões e redução dos índices de amostras insatisfatórias ou limitadas por problema técnico (Tench, 2000; Marino *et al.*, 2001; Biscotti *et al.*, 2002; Bentz, 2005; Longatto-Filho *et al.*, 2005; Siebers *et al.*, 2008;), apresentando sensibilidade de 30% a 87% e especificidade de 86% a 100% (Belinson *et al.*, 2001; Kulasingam *et al.*, 2002).

Ainda que várias publicações apontem para as vantagens da CML, o assunto gera controvérsias. Estudos comparativos entre as técnicas de CC e em CML, tanto os realizados com coleta simultânea (*split sample*) ou com coleta de uma ou outra técnica em diferentes pacientes (*vial to vial*), apresentam limitações. Uma única coleta de material para as duas técnicas, a partir da mesma paciente gera conflito no sentido de haver prejuízo para uma das técnicas. Em populações epidemiologicamente equiparáveis não se pode afirmar semelhança e uniformidade do material no momento das coletas, entre outros fatores. Além disso, estudos randomizados, com comprovação histológica para todos os casos são raros (Stabile *et al.*, 2012).

Estudo de meta-análise com revisão de 56 publicações de CML, concluiu que, de acordo com os critérios determinados, apenas cinco publicações foram consideradas de alta qualidade. Ao analisar os resultados destes cinco estudos, o grupo não observou diferenças significativas entre a sensibilidade ou o percentual de amostras insatisfatórias entre os dois métodos (Davey *et al.*, 2005). Os autores ressaltaram o fato de muitos estudos apresentam problemas de metodologia, seguimento e exame histológico independente do citológico para os casos positivos, sugerindo que estudos adicionais de larga escala ainda são necessários, uma vez que a maior parte dos estudos foi considerada de baixa qualidade. Já o estudo de Arbyn *et al.* (2008) comparou o desempenho da CC em relação a CML entre 1997 e 2007 e demonstrou diferença significativa no percentual de insatisfatórios, sendo menor com a CML.

Alguns estudos realizados na década de 90 que compararam resultados de uma mesma amostra colhida pelas duas técnicas mostraram concordância de 92% (Hutchison *et al.*, 1992) e 95,3% (Tezuka *et al.*, 1996), salientando que a coleta do material é uma etapa imprescindível para a qualidade do exame e a redução de diagnósticos falso-negativo.

Em 2002, foi realizado um projeto piloto na Inglaterra com 100 mil exames citopatológicos em meio líquido que constatou queda no percentual de amostras insatisfatórias de 9% para 1 a 2%, sendo que os casos de atipia de significado indeterminado também caíram de 5,4 para 4,6% (Mcgoogan, 2004). Esse estudo levou o National Institute of Clinical Excellence a propor ao MS do Reino Unido a substituição da CC pela CML.

A preservação e fixação imediata de todas as células obtidas durante a coleta do material pela técnica de CML são apontadas com as principais vantagens do método. Todas as células são transferidas para um frasco com líquido preservativo, o qual é encaminhado ao laboratório para processamento, possibilitando a realização de novas lâminas e testes moleculares com o material residual, sem necessidade de nova coleta (Bernstein, 2001; Ferenczy, 2001; Mattosinho de Castro Ferraz, 2004). Mesmo aprovada desde 1996 pelo FDA, encontramos poucos estudos com casuística acima de 2.000 casos realizados avaliando o desempenho da CML aplicada à realidade do Sistema Público de Saúde Brasileiro (Alves *et al.*, 2006; Girianelli *et al.*, 2007; Fregnani *et al.*, 2013).

Schiffman e Solomon (2010) relatam que a CML é preferida pelos laboratórios por ser mais fácil e rápida para análise ao microscópio, levando a um aumento da produtividade e permitir a utilização do material residual para a realização de teste para HPV nos resultados duvidosos sem a necessidade de nova coleta. O uso do teste de captura híbrida (CH2) para estratificar as pacientes com diagnóstico de ASC pode diminuir as incertezas com relação às pacientes deste grupo e evitar o atraso na conduta para as pacientes com lesões ou a realização de colposcopias desnecessárias para

as pacientes com alterações benignas que apresentam dois exames consecutivos com ASC-US.

Nosso estudo demonstrou maior percentual de atipias de significado indeterminado em células escamosas pela CML, impulsionado, principalmente, pela categoria diagnóstica de ASC-US, que passou de 4,52% pela CC para 6,98% pela CML, uma vez que as ASC-H não mostraram diferença significativa na comparação entre as duas técnicas. A Tabela 1 mostra o percentual de casos positivos (incluindo as atipias), demonstrando maior detecção de casos positivos pela CML, porém o percentual de HSII + foi semelhante nas duas técnicas, o que nos faz supor que a CML é mais sensível, ou seja, é muito provável que ela tenha valor preditivo negativo maior.

Sabendo-se que o exame convencional tem sensibilidade baixa (cerca de 50%), é provável que dentre os casos classificados como negativos pela CML o percentual de mulheres que sejam portadoras de lesões seja mais baixo que no grupo que recebeu um resultado negativo pela técnica convencional. Por outro lado, se o percentual de HSIL+ não foi diferente do ponto de vista estatístico entre as duas técnicas, pode-se supor que o grupo das atipias (ASC-US e ASC-H) na CML, o qual foi estatisticamente maior que na técnica convencional, alberga uma parte destes casos de HSIL+ não detectados apenas pela morfologia. Ainda que a CML tenha maximizado os recursos morfológicos há uma limitação reconhecida por diversos autores de estudos comparativos entre as duas técnicas que é a maior dificuldade para o diagnóstico das HSIL na CML.

Estudos relataram prevalência de HSIL e câncer cervical em cerca de 10% das mulheres com citologia de ASC-US (Kulasingam *et al*, 2006). Estudos realizados em mulheres atendidas pelo SUS, na cidade do Rio de Janeiro (Cytryn *et al*, 2009), mostraram prevalência de 1,85% de NIC II e III quando lhes foi atribuído esse diagnóstico citopatológico. Segundo o ACOG, o diagnóstico de ASC-US representa a alteração mais comum nos Estados

Unidos, respondendo por 4,4% de todos os laudos citopatológicos. Entre as mulheres com este diagnóstico, é observada prevalência de NIC II e III em 6,4% a 11,9% dos casos e de 0,1% a 0,2% de câncer (American College of Obstetricians and Gynecologists [ACOG], 2008).

Poucos estudos apresentam correlação dos casos de ASC-US com as biópsias, mas o percentual destes casos que apresentam lesões de alto grau ao seguimento é baixo. No estudo de Ronco *et al.* (2007) não houve diferença entre o valor preditivo para lesão de alto grau entre os dois métodos, ainda que o meio líquido tenha percentual significativamente maior de ASC-US.

A maioria dos trabalhos publicados refere aumento significativo do percentual de ASC-US com o meio líquido (Colgan *et al.*, 2004; Davey *et al.*, 2005; Arbyn *et al.*, 2008; Beerman *et al.*, 2009). Muito embora este achado não tenha sido explicado por nenhum dos autores acima, tal fato pode ser explicado pela necessidade de adaptação e treinamento para a leitura de CML, refletindo uma “curva de aprendizado”, relatada na literatura (Settakorn *et al.*, 2008).

O diagnóstico citológico de ASC-US é considerado um problema para médicos ginecologistas por tratar-se de alterações celulares que não se enquadram nos critérios morfológicos de processo inflamatório e não são caracterizadas como alterações celulares neoplásicas (NCI, 1989). A falta de reprodutibilidade diagnóstica pode prejudicar o bom desempenho laboratorial. Atualmente, recomendam-se taxas de ASC-US inferiores a 5% em populações de baixo risco e uma taxa 2 a 3 vezes menor de LSIL (Stanley *et al.*, 1999). Apesar do aumento dos percentuais de ASC-US e LSIL, os valores encontrados no estudo estão dentro das recomendações da literatura.

Uma das hipóteses para o aumento na detecção das ASC-US e LSIL pode ser devido à metodologia de coleta das amostras pela CML, visto que estas lesões são menos extensas que as HSIL e lesões invasivas e talvez,

na CC, a baixa celularidade prejudique a representação adequada das células, que podem acabar perdidas na escova endocervical, ou os artefatos (sobreposição celular, dessecação) de confecção do esfregaço acabe camuflando as poucas células existentes.

Nosso estudo demonstrou maior freqüência de lesões precursoras com a CML, proporcionado pelas LSIL, sendo que as HSIL não mostraram diferença significativa entre os dois métodos. Embora estes resultados tenham seu valor limitado, pela ausência de correlação cito-histológica, há concordância com vários estudos controlados da literatura.

Estudo prévio realizado pelo LCO-IAL e pesquisadores do Hospital Pérola Byington mostrou um aumento significativo das lesões tanto de baixo como alto grau com a CML. Os resultados são semelhantes aos obtidos no estudo randomizado controlado de Ronco *et al.* (2007) que mostraram aumento significativo apenas das LSIL com o emprego do meio líquido, sendo o trabalho considerado de alta qualidade técnica.

Em estudo realizado em Ontário, Colgan *et al.* (2004) observaram resultados semelhantes aos nossos ao compararem 352.680 citologias em meio líquido (Surepath™) com 378.990 citologias convencionais da base histórica dos anos anteriores. Houve um aumento significativo dos casos de LSIL com o meio líquido (2,13% versus 1,5%), mas os casos de HSIL não mostraram diferença significativa. Os autores não tiveram acesso às biópsias.

Lee *et al.* (1997) encontraram amostragem satisfatória em relação à representatividade celular em 78,3% das CML e em 70,6% das CC ao avaliarem 6.747 pacientes com os dois métodos. Demonstraram ainda aumento no número de casos com diagnóstico de lesão intra-epitelial de baixo grau (LSIL).

Estudo de Cheung *et al.* (2003) comparou 191.582 citologias convencionais entre os anos de 1998 e 2000, com 190.667 citologia em

meio líquido colhidas no período de 2000 a 2002. A detecção de lesão intra-epitelial de alto grau (HSIL), carcinoma escamoso e adenocarcinoma sofreu alteração entre a CC (0,25%, 0,001% e 0,006%, respectivamente) e a CML (0,24%, 0,005% e 0,003%, respectivamente), demonstrando maior frequência de detecção pela CC. Já para as atípias de significado indeterminado (ASCUS) e as lesões intra-epiteliais de baixo grau (LSIL), a CML apresentou maior percentual de detecção (3,74% contra 3,19% para ASCUS e 1,67% contra 1,01% para LSIL).

A correlação com os resultados de exames histopatológicos é muito importante para a pesquisa, pois conferem caráter de estudo controlado ao trabalho. A obtenção dos dados relativos aos exames histológicos tem sido trabalhosa, já que na rotina do LCO-IAL, como ocorre frequentemente no SUS, as biópsias são enviadas para um laboratório diferente daquele que realiza o exame citológico. Diante da importância da análise conjunta das amostras cito e histológica, o envio do material citológico para um laboratório e das biópsias para outro apenas por conveniência burocrática, dificulta as atividades de ensino e pesquisa e pode ser prejudicial às pacientes, nos casos em que o exame conjunto se faz necessário. Acrescente-se a isto o prejuízo ao controle interno de qualidade do laboratório de citologia.

Mesmo sem acesso às biópsias dos casos positivos e suspeitos de HSIL, o estudo foi importante para o conhecimento do desempenho do meio líquido nos exames citopatológicos no SUS.

Com relação aos casos classificados como insatisfatórios, o estudo demonstrou diminuição significativa no percentual de amostras insatisfatórias, de 3,5% em média, para 0,25% percentual semelhante ao observado por outros autores. Os gráficos 2, 3 e 4 demonstram as causas de limitações das amostras, e fica evidente que a boa fixação do material e ausência dos artefatos de sobreposição e excesso de piócitos nas amostras, causados pela falta de treinamento adequado ou baixa habilidade do profissional que realiza a confecção da amostra pela técnica de CC foi um

fator praticamente ausente nos casos em que foi utilizada a técnica de CML. Atribuímos isso ao fato da utilização da automação para a confecção das amostras, o que resulta em amostras homogêneas e livres de limitações.

Pinto *et al.* (2006) concluíram que artefatos de má fixação parecem ser um fator importante no obscurecimento da origem celular em esfregaços citológicos. Amostras colhidas em meio líquido, normalmente, não apresentam esse tipo de artefato.

Um estudo de meta-análise mostrou em 1.120.418 citologias cervicais provenientes de 14 estudos um percentual de 0,3% com o SurePath™ e 1,3% com o ThinPrep® (Fontaine *et al.*, 2012). Uma hipótese para o melhor desempenho da técnica SurePath™ talvez possa ser atribuída ao processo de preparo das amostras, visto que as lâminas são confeccionadas a partir da sedimentação do material; já na técnica ThinPrep®, a amostra é confeccionada por aspiração do material.

Outros estudos mostraram a mesma tendência, sendo que, em alguns casos, a diferença entre os percentuais foi mais marcante, como ocorreu no estudo realizado pelo LCO-IAL em conjunto com pesquisadores do Hospital Pérola Byington onde o meio líquido teve 1,3% de amostras insatisfatórias e o convencional 10,4% (Utagawa *et al.*, 2004).

Em outro estudo, Harrison *et al.* (2007) da Universidade de Birmingham, observaram percentual de 1,3% usando a técnica SurePath™ entre outubro de 2005 e setembro de 2006. Este resultado foi comparado com o observado nesta mesma população em 2000/2001 com a técnica convencional, que foi de 11,8%. Os autores reconheceram que a comparação com os resultados obtidos nas mesmas Unidades de Saúde em anos anteriores é um dos pontos criticáveis do estudo, mas que os dados obtidos deixam claro o benefício do meio líquido com relação à diminuição dos casos insatisfatórios.

Ainda em relação ao desempenho técnico, foi demonstrado economia no tempo gasto de 5:04 minutos para 3:52 minutos (em média) para a leitura do exame citológico das amostras. Esta diferença, em torno de 23%, é significativa, aspecto enfatizado também por outros pesquisadores. Em editorial, Mark Schiffman e Diane Salomon (2010) afirmaram que o meio líquido é preferido pela maioria dos laboratórios, pois seu escrutínio é mais rápido, aumentando a produtividade, além de permitir o teste de HPV para triagem nos casos equívocos e percentual menor de exames insatisfatórios.

A tabela 6 mostra o tempo médio gasto para a confecção de 48 amostras pelas duas técnicas, evidenciando que, pela técnica de CML o tempo foi 50% menor para a realização da mesma quantidade de amostras. O tempo do banho “over night” em álcool para a retirada da película de fixador nas lâminas confeccionadas pela técnica de CC foi o fator impactante nesta avaliação de tempo. Vale lembrar que esta etapa é fundamental para possibilitar a correta coloração e análise das amostras.

Estudo de Ferenczy *et al.* (1996) demonstrou que o tempo de coleta da CML foi cerca de 1 minuto mais rápida em relação à CC. O tempo despendido com a interpretação das lâminas também foi menor com a técnica de CML. Porém, como desvantagem, observa-se maior tempo gasto no processamento das amostras, acarretando em aumento do custo do exame (Anschau e Gonçalves, 2006).

Talvez a observação mais importante a ser feita ao concluirmos o trabalho é que, ainda que a CML tenha maximizado os recursos morfológicos, e com isto possibilitado uma economia de tempo de leitura das lâminas, e também diminuído o transtorno das pacientes precisam retornar para colher outro exame, isto é pouco. O gasto adicional com a CML só é justificável se for aproveitado o fato de a CML conservar as moléculas e aos recursos morfológicos forem associados às técnicas moleculares. Alguns autores argumentam que o uso da captura para o screening é mais eficiente e seguro (não existe o erro humano inevitável), devendo-se realizar o exame

citológico apenas nas pacientes positivas para HPV de alto risco. Ainda que pareça mais interessante, sobretudo para países que não possuem uma rede de laboratórios bem estruturada, isto é caro e não foi testado em grandes populações.

É provável que as diretrizes brasileiras para a prevenção do câncer do colo uterino sofram mudanças para incorporar estes avanços. Apesar dos avanços tecnológicos, a maior parte das mulheres que apresentam câncer em estágio avançado do colo uterino nunca fez um exame preventivo. O maior desafio do SUS é o aumento da cobertura populacional e a implantação de um sistema organizado, o que permitiria, com o eventual emprego do co-teste uma periodicidade segura de 5 anos, com provável economia de recursos na repetição de exames desnecessários e no custo do tratamento dos casos avançados.

6. Conclusão

O uso do meio líquido mostrou desempenho significativamente melhor em relação às amostras insatisfatórias, devido à otimização dos procedimentos técnicos e eliminação das limitações referentes à interferência humana na confecção das amostras.

Houve aumento significativo na detecção das lesões precursoras com o meio líquido, proporcionado pelas LSIL, sendo que nas HSIL não houve diferença significativa entre os dois métodos.

Foi observado aumento do percentual de atipias de significado indeterminado em células escamosas, possivelmente não neoplásica (ASC-US), possivelmente reflexo da curva de aprendizado para CML.

A redução efetiva de artefatos técnicos pela metodologia da CML teve impacto positivo no tempo de leitura das amostras, reduzindo o tempo de leitura de cada amostra, além de reduzir o tempo médio de confecção e coloração de cada amostra.

7. Perspectivas futuras

A partir deste estudo, ficou estabelecida a utilização da CML na rotina das Unidades de Saúde atendidas pelo IAL, sendo o pioneiro a utilizar a metodologia no SUS.

Trabalhos como este são escassos em casuísticas robustas, principalmente quando tomamos como exemplo o SUS. Na condição de pesquisadores, é importante que estejamos sempre acompanhando a evolução tecnológica avaliando as vantagens do emprego de novas técnicas no SUS para fornecer subsídios para a implantação de melhores políticas de saúde.

Foi justamente a dúvida da validade do seu uso no SUS que convenceu a FAPESP a financiar a continuidade do nosso PPSUS. Novos estudos serão realizados, com um grupo maior de mulheres, correlacionando os dados morfológicos com o *status* viral para HPV e aprofundando os conhecimentos, no sentido de entender melhor a evolução das alterações morfológicas, sobretudo das atipias de significado indeterminado.

8 . Referências bibliográficas

Abreu ALP, Souza RP, Gimenes F, Consolaro MEL. A review of methods for detect human papillomavirus infection. *Virology Journal*. 2012; 9:262.

Altman DG. *Practical Statistics for Medical Research*. 8 ed. London: Chapman & Hall/CRC; 1991.

Alves VAF, Lima MEN, Utagawa ML, Maeda MYS. Programa de controle de qualidade em citologia ginecológica do Instituto Adolfo Lutz: estratégias e análise crítica dos resultados de sua implantação-piloto. *Rev Ass Med Brasil*. 1991; 37 (1): 36-42.

Alves VAF, Castelo A, Longatto-Filho A, Vianna MR, Namiyama G, Lorincz A, et al. Performance of the DNA-Citoliq liquid-based cytology system compared with conventional smears. *Cytopathology*. 2006; 17:86-93.

Amaral RG, Ribeiro AA, Miranda FA, Tavares S, Souza NLA, Manrique EJC et al. Fatores que podem comprometer a qualidade dos exames citopatológicos no rastreamento do câncer do colo do útero. *Rev Bras Anal Clin*. 2006; 38(1):3-6.

American College of Obstetricians and Gynecologist (ACOG). *Practice Bulletin N° 99: management of abnormal cervical cytology and histology*. *Obstet Gynecol*. 2008; 112(6): 1419-44.

Anderson LM, May DS. Has the use of cervical, breast and colorectal cancer screening increased in the United States. *Am J Public Health*. 1995; 85:840-2.

Anschau F, Gonçalves MAG. Citologia cervical em meio líquido *versus* citologia convencional. *Femina*. 2006; 34(5): 329-335.

Arbyn M, Abarca M. Is liquid based cytology an effective alternative for the conventional pap smear to detect cervical cancer precursors? A systematic review and meta-analysis. Report n° 10. Brussels, Belgium: Scientific Institute of Public Health; 2003.

Arbyn M, Bergeron C, Klinkhamer P, Martin-Hirsch P, Siebers AG, Bulten J. Liquid compared with conventional cervical cytology: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol.* 2008; 111(1): 167-77.

Beerman H, van Dorst EB, Kuenen-Boumeester V, Hogendoorn PC. Superior performance of liquid-based versus conventional cytology in a population-based cervical cancer screening program. *Gynecol Oncol.* 2009; 112: 572-576.

Belinson J, Qiao YL, Pretorius R. Shanxi province cervical cancer screening study: a cross-sectional comparative trial of multiple techniques to detect cervical neoplasia. *Gynecol Oncol.* 2001; 83: 439-44.

Bentz JS. Liquid-based cytology for cervical cancer screening. *Expert Rev Mol Diagn.* 2005; 5(6): 857-71.

Bernstein SJ, Sanchez-Ramos L, Ndubisi B. Liquid-based cervical cytology smear study and conventional papanicolaou smears: A metaanalysis of prospective studies comparing cytologic diagnosis and sample adequacy. *Am J Obstet Gynecol.* 2001; 185: 308-17.

Biscotti CV, O'Brien DL, Gero MA, Gramlich TL, Kennedy AW, Easley KA. Thin-layer test vs. conventional Pap smear: analysis of 400 split samples. *J Reprod Med.* 2002; 47(1): 9-13.

Broder S. The Bethesda System for reporting cervical/vaginal cytologic diagnoses: report of the 1991 Bethesda Workshop. *JAMA.* 1992; 267(14):1892.

Bosch FX, Lorincz A, Munoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol.* 2002; 55: 244-65.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Nomenclatura Brasileira para laudos citopatológicos e condutas preconizadas: recomendações para profissionais de saúde. 2ª edição. Rio de Janeiro: INCA, 2006.

Brasil. Portaria/SAS/MS nº 408, de 30 de julho de 1999. Define que o Sistema de informática oficial do Ministério da Saúde deverá ser utilizado para o fornecimento dos dados informatizados referentes aos procedimentos previstos no artigo 1º, é o SISCOLO, fornecido pelo Departamento de informática do SUS/DATASUS. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Ministério da Saúde, Brasília, 02 ago. 1.999. Sec.I, p.14-15.

Cantor SB, Atkinson EN, Cardenas-Turanzas M, Benedet JL, Follen M, MacAulay C. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia. *Acta Cytol.* 2005;49:405-15.

Center for Disease Control (CDC). Regulations for implementing the clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: a summary. *MMWR.* 1992.

Cheung ANY, Szeto EF, Leung BSY et al. Liquid-based cytology and conventional cervical smears. A comparison study in an Asian screening populations. *Cancer.* 2003; 99:331-5.

Clavel C, Masure M, Bory JP, Putaud I, Mangeonjean C, Lorenzato M, et al. Hybrid capture II based human papillomavirus detection, a sensitive test to detect in routine high-grade cervical lesions: a preliminary study on 1581 women. *Br J Cancer.* 1999; 80(9):1306-1311.

Cohn DE, Herzog TJ. New innovations in cervical cancer screening. *Gynecol Surg Oncol*. 2001; 44: 38-49.

Colgan TJ, McLachlin CM, Cotterchio M, Howlett R, Seidenfeld AM, Mai VM. Results of the implementation of liquid-based cytology-SurePath in the Ontario screening program. *Cancer Cytopathol*. 2004; 102(6): 362-7.

Cox JT, Lorincz AT, Schiffman MH, Sherman ME, Cullen A, Kurman RJ. Human papillomavirus testing by hybrid capture appears to be useful in triaging women with cytologic diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance. *Am J Obstet Gynecol*. 1995; 172:946-954.

Cuzick J. Screening for cancer: future potential. *Eur J Cancer*. 1999; 35(14):1925-1932.

Cytryn A, Russomano FB, Camargo MJ, Zardo LMG, Horta NMSR, Fonseca RCSP et al. Prevalence of cervical intraepithelial neoplasia grades II/III and cervical cancer in patients with cytological diagnosis of atypical squamous cells when high-grade intraepithelial lesions (ASC-H) cannot be ruled out. *Sao Paulo Med. J*. 2009; 127(5): 283-7.

Davey E, Barratt A, Irwig L, Chan SF, Macaskill P, Mannes P et al. Effect of study design and quality on unsatisfactory rates, cytology classifications, and accuracy in liquid-based versus conventional cervical cytology: a systematic review. *Am J Obstet Gynecol*. 2005; 192(2): 414-21.

di Loreto C, Utagawa ML, Longatto-Filho A, Alves VAF. Importância da amostra na qualidade do exame colpocitológico: o esfregaço ideal. *RBM-Ginecol e Obstetric*. 1993; IV(1): 18-24.

Erickson C. Exfoliative cytology in mass screening for uterine cancer: Memphis and Shelby County, Tennessee. *C A Cancer J Clin*. 1955; 5: 63-64.

European Commission Europe against câncer programmes. Brussels, Luxemburgo; 2000.

Fagundes MCS, Hardt LL, Saito S, Yamamoto LSU, Longatto Filho A, Utagawa ML. Amostra inadequada em screening de esfregaços cervicovaginais: as principais causas. Laes-Haes. 2001; 2: 95-100.

Fahey MT, Irwig L, Macaskill P. Meta-analysis of Pap test accuracy. Am J Epidemiol. 1995; 141: 680-9.

Feitosa TMP, Almeida RT. Perfil da produção do exame citopatológico para controle do câncer do colo do útero em Minas Gerais, Brasil, em 2002. Cad Saúde Pública. 2007; 23(4):907-17.

Ferenczy A, Franco E. Cervical-cancer screening beyond the year 2000. Lancet. 2001; 2: 27-32.

Ferenczy A, Robitaille J, Franco E et al. Conventional cervical cytology smears vs. Thin Prep smears. A paired comparison study on cervical cytology. Acta Cytol. 1996; 40:1136-42.

Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. Int J Cancer. 2010; 127(12): 2893-917.

Fontaine D, Narine N, Naugler C. Unsatisfactory rates vary between cervical cytology samples prepared using ThinPrep and SurePath platforms: a review and meta-analysis. BMJ Open. 2012; 2(2).e000847. Epub 2012 Apr 13.

Franco EL, Duarte-Franco E, Ferenczy A. Cervical cancer: epidemiology, prevention and the role of papillomavirus infection. CMAJ. 2001; 164: 1017-25.

Franco R, Amaral RG, Montemor EBL, Montis DM, Moraes SS, Zeferino LC. Fatores associados a resultados falso-negativos de exames citopatológicos do colo uterino. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2006; 28(8):479-85.

Fregnani JHTG, Scapulatempo C, Haikel RL, Saccheto T, Campacci N, Mauad EC *et al.* Could alarmingly high rates of negative diagnoses in remote rural áreas be minimized with liquid-based cytology? Preliminar results from the RODEO study team. *Acta Cytologica* 2013;57(1):69-74.

Gay JD, Donaldson LD, Goellner JR. False-negative results in cervical cytologic studies. *Acta Cytol.* 1985; 29:1043-6.

Girianelli VR, Santos Thuler LC. Evaluation of agreement between conventional and liquid-based cytology in cervical cancer early detection based on analysis of 2,091 smears: experiences at the Brazilian National Cancer Institute. *Diagnostic Cytopathology* 2007;35:545-549

Gupta PK, Baloch ZW, Cobbs C, Bibbo M. Processing liquid-based gynecologic specimens: comparison of the available techniques. *Acta Cytol.* 2001; 45: 995-8.

Harrison WN, Teale AMJ, Jones SP, Mohammed MA. The impact of the introduction of liquid based cytology on the variation in the proportion of inadequate samples between GP practices. *BMC Public Health.* 2007; 7(191): 1-5

Haverkos HW, Soon G, Steckley SI, Pickworth W. Cigarette smoking and cervical cancer: part I: a meta-analysis. *Biomed Pharmacother.* 2003; 57: 66-67.

Hutchinson ML, Agarwal P, Denault T *et al.* A new look at cervical cytology. Thin Prep multicenter trial study. *Acta Cytol.* 1992; 36:499-504.

Hutchinson ML, Isenstein LM, Goodman A, Hurley AA, Douglass KL, Mui KK et al. Homogeneous sampling accounts for the increased diagnostic accuracy using the ThinPrep[®] Processor. *Am J Clin Pathol*. 1994; 101: 215-9.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. PNAD 2005: Pesquisa Nacional por Amostra em Domicílios. IBGE.

Instituto Nacional do Câncer (Brasil). Programa Nacional de controle do câncer do colo do útero e mama – Viva Mulher, 2002.

Instituto Nacional de Câncer (Brasil). Diretrizes brasileiras para o rastreamento do câncer do colo do útero. Rio de Janeiro: INCA, 2011. 104p.

Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). Estimativa 2012. Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro, RJ 2011. <http://www.inca.gov.br/estimativa/2012> Acesso em 16/05/2012.

International Union Against Cancer (UICC). Evidence based cancer prevention: strategies for NGOs. Geneve: UICC. 2004; 180-193.

Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics 2011. *CA Cancer J Clin*. [Internet] 2011 mar-apr; 61(2): 69-90. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/caac.20107/pdf>. Acesso em 01/10/1012.

Jin XW, Sikon A, Yen-Lieberman B. Cervical cancer screening: less testing, smarter testing. *Cleveland Clin Journal of Medicine*. 2011; 78(11):737-747.

Kinney WK, Manos MM, Hurley LB, Ransley JE. Where's the high-grade cervical neoplasia? The importance of minimally abnormal Papanicolaou diagnoses. *Obstet Gynecol*. 1998; 91:973-976.

Kulasingam SL, Hughes JP, Kiviat NB, Mao C, Weiss NS, Kuypers JM. Evaluation of human papillomavirus testing in primary screening for cervical abnormalities: comparison of sensitivity, specificity and frequency of referral. *JAMA*. 2002; 288(14): 1749-57.

Kulasingam SL, Kim JJ, Lawrence WF, Mandelblatt JS, Myers ER, Schiffman M et al. Cost-effectiveness analysis based on the atypical squamous cells of undetermined significance/low-grade squamous intraepithelial lesion triage study. (ALTS). *JNCI Journal of the National Cancer Institute*. 2006, 98(2): 92-100.

Kurman RJ, Henson DE, Herbst AL, Noller KL, Schiffman MH. Interim guidelines for management of abnormal cervical cytology. *JAMA*. 1994; 271:1866-9.

Lee KR, Ashfaq R, Birdsong GG et al. Comparison of conventional Papanicolaou smears and a fluid-based, thin-layer system for cervical cancer screening. *Obstet Gynecol*. 1997; 90:278-84.

Linder J. Recent advances in Thin-layer cytology. *Diagn Cytopatol*. 1998; 18(1):24-32.

Longatto-Filho A, Maeda MYS, Santos DR, Andréa-Filho A, Cavaliere MJ, Shin LWS, et al. Comparação dos métodos de "cytobrush" e espátula de Ayre na concentração de células endocervicais. *Ver Paul Med*. 1991; 109(3):93-96.

Longatto-Filho A, Maeda MYS. Importância da presença de células endocervicais em esfregaços corados pelo método de Papanicolaou: uma revisão. *Laes/Haes*. 1991; Out/Nov: 24-30.

Longatto-Filho A, Pereira SMM, Di Loreto C, Utagawa ML, Makabe S, Maeda MYS et al. DCS liquid-based system is more effective than conventional smears to diagnosis of cervical lesions: study in high-risk population with biopsy-based confirmation *Gynecol Oncol.* 2005; 97: 497-500.

Maksem JA, Bedrossian CW, Kurtycz D, Sewall S, Shalkham J, Dhanwada V et al. Resolving ASCUS without recourse to HPV testing: manual reprocessing of residual automated liquid-based cytology (ALBC) material using manual liquid-based cytology (MLBC). *Diagn Cytopathol.* 2005; 33(6): 434-40.

Manos MM, Kinney WK, Hurley LB, Sherman ME, Shieh-Ngai J, Kurman RJ, et al. Identifying women with cervical neoplasia: using human papillomavirus DNA testing for equivocal Papanicolaou results. *JAMA.* 1999;281:1605-10.

Marino JF, Fremont-Smith M. Direct-to-vial experience with Autocyte prep in a small New England regional cytology practice. *J Reprod Med.* 2001; 46(4): 353-358.

Mattosinho de Castro Ferraz MG, Nicolaou MG, Stávale JN, Fochi J, Castelo A, Dores GB, et al. Cervical biopsy-based comparisons of a new liquid-based thin-layer preparation with conventional pap smear. *Diagn Cytopathol.* 2004; 30:220-6.

Meigs JV. The vaginal smear: practical applications in the diagnosis of cancer of the uterus. *J Am Med Assoc.* 1947; 133: 75-78.

Mcgoogan E. Liquid-based cytology: The new screening test for cervical cancer control. *J Fam Plan and Reprod Health Care.* 2004; 30: 23-5.

Muñoz N, Franceschi S, Bosetti C, Moreno V, Herrero R, Smith JS. Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicentric case-control study. *Lancet*. 2002; 359: 1085-92.

Nagy GK, Collins DN, Wilson TA. Sample size calculations for rescreening cytology smears. *Acta Cytol*. 1996; 40: 501-5.

National Cancer Institute Workshop. The 1988 Bethesda System for reporting cervical/vaginal cytological diagnoses. *JAMA*. 1989; 262 (7): 931-4.

Nonogaki S, Wakamatsu A, Longatto-Filho A, Pereira SMM, Utogawa ML, Alves VAF et al. Hybrid capture II and polymerase chain reaction for identifying HPV infections in samples collected in a new collection medium. *Acta Cytol*. 2004; 48(4): 514-20.

Papanicolaou GN. New cancer diagnosis. Paper presented at: proceeding of the Third Race Betterment Conference. Battle Creek, MI; 1928.

Papanicolaou GN & Traut HF. The diagnostic value of vaginal smears in carcinoma of the uterus. *Am J Obst & Gynec*. 1941;42(2):193-206.

Papanicolaou GN. *Atlas of exfoliative cytology*. Cambridge: Harvard University Press; 1952.

Pinto AP, Collaço LM, Maia LR, Shiokawa L, Tavares TG, Bezerra K, et al. Investigação do valor da categoria diagnostic de células epiteliais atípicas, de significado indeterminado, e origem indefinida da nomenclatura brasileira para laudos citopatológicos cervicais. *J Bras Patol Med Lab*. 2006; 42(2):133-141.

Pinto AP, Maia HF, di Loreto C, Krunn P, Túlio S, Collaço LM. Repeating cytological preparations on liquid-based cytology samples: A methodological advantage? *Diagn Cytopathol.* 2007; 35(10): 663-9.

Quinn M, Babb P, Jones J, Allen E. Effect of screening on incidence and mortality from cancer of the cervix in England: evaluation based on routinely collected statistics. *BMJ* 1999; 318: 904-908.

Reagan JW, Seidemann IL, Saracusa Y. The cellular morphology of carcinoma in situ and displasia or atypical hyperplasia of the uterine cervix. *Cancer.* 1953; 6(2):224-34.

Reagan JW, Hicks DJ. A study of in situ and squamous-cells cancer of the uterine cervix. *Cancer.* 1953; 6(6): 1200-14.

Richart RM. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia. *Clin Obstet Gynecol.* 1967; 10(4):748-84.

Ronco G, Cuzick J, Pierotti P, Cariaggi MP, Dalla Palma P, Naldoni C et al. Accuracy of liquid based versus conventional cytology: overall results of new technologies for cervical cancer screening: randomised controlled trial. *BMJ* 2007; 335(7): 1-7.

Rosa MI, Medeiros LR, Rosa DD, Bozetti MC, Silva FR, Silva BR. Human papillomavirus and cervical neoplasia. *Cad Saúde Pública.* 2009; 25(5): 953-964.

Saint M, Gildengorin G, Sawaya GF. Current cervical neoplasia screening practices of obstetrician/gynecologists in the US. *Am J Obstet Gynecol.* 2005 Feb; 192(2): 414-21.

São Paulo (estado). Portaria nº 3.040, de 21 de junho de 1998. Institui o Programa Nacional de Combate ao Câncer de Colo Uterino. Diário Oficial, 23 jun 1998. Sec I, p 102.

Schiffman M, Solomon D. Liquid-Based Cytology vs Conventional Cytology in Detecting Cervical Cancer-Reply, JAMA. 2010; 303(11): 1034-5.

Settakorn J, Rangdaeng S, Preechapornkul N, Nattawatana S, Pongsiralai K et al. Interobserver reproducibility with LiquiPrep™ Liquid-based cervical cytology screening in a developing country. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. 2008; 9:92-96.

Shirata NK, Pereira SMM, Cavaliere MJ, Longatto-Filho A, Utagawa ML, Shin LWS, Maeda MYS. Celularidade dos esfregaços cérvico-vaginais: importância em programas de garantia de qualidade em citopatologia. J Bras Ginecol. 1998; 108:63-66.

Siebers AG, Klinkhamer PJ, Arbyn M, Raifu AO, Massuger LF, Bulten J. Cytologic detection of cervical abnormalities using liquid-based compared with conventional cytology: a randomized controlled trial. Obstet Gynecol. 2008; 112(6): 1327-34.

Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M et al. The 2001 Bethesda System Terminology for reporting results of cervical cytology. JAMA 2002; 287(16):2114-2119.

Solomon D e Nayar R. Sistema Bethesda para Citopatologia cérvico-vaginal: definições, critérios e notas explicativas. 2 edição. Rio de Janeiro: Revinter, 2005. 192p.

Souza JHK, Kalil IV, Leite JM, Geber S. Avaliação das lâminas de colpocitologia oncótica previamente diagnosticadas como ASCUS: comparação interensaio e interobservadores. Rev Bras Ginecol Obstet. 2004; 26(3):233-240.

Sprenger E, Schwarzmann P, Kirkpatrick M, Fox W, Heinzerling RH, Geyer JW et al. The false negative rate in cervical cytology: comparison of monolayer to conventional smears. Acta Cytol. 1996; 40:81-9.

Stabile SAB, Evangelista DHR, Talamonte VH, Lippi UG, Lopes RGC. Estudo comparativo dos resultados obtidos pela citologia oncótica cérvico-vaginal convencional e pela citologia em meio líquido. Einstein. 2012; 10(4):466-72.

Stanley DE, Plowden K, Sherman ME. Reclassification of negative smears as atypical squamous cells of undetermined significance in quality assurance reviews. Cancer. 1999; 87: 346-50.

Tambouret RH. The evolution of the Papanicolaou smear. Clinical Obstetrics and Gynecology. 2013; 56(1): 3-9.

Tench W. Preliminary assessment of the Autocyte prep. Direct-to-vial performance. J Reprod Med. 2000; 45(11): 912-6.

Tezuka F, Oikawa H, Shuki H, Higashiiwai H. Diagnostic efficacy and validity of the Thin Prep method in cervical cytology. Acta Cytol. 1996; 40:513-8.

The ASCUS-LSIL Triage Study (ALTS) Group. Results of a randomized trial on the management of cytology interpretations of atypical squamous cells of undetermined significance. Am J Obstet Gynecol. 2003; 188(6): 1383-92.

Thuler LCS, Bergmann A, Casado L. Perfil das pacientes com câncer do colo do útero no Brasil, 2000-2009: estudo de base secundária. *Revista Brasileira de Cancerologia*. 2012; 58(3): 351-357.

Traut HF, Papanicolaou GN. Cancer of the uterus: the vaginal smears in its diagnosis. *Cal West Med*. 1943; 59(2):121-2.

Utagawa ML, Pereira SMM, Makabe S, Maeda MYS, Marques JA, Santoro CLF et al. Pap test in a high-risk population comparison of conventional and liquid-base cytology. *DiagnCytopathol*. 2004; 31(3): 169-172.

Velasco J. Citologia líquida. *VPH Hoje*. 2001; 1: 8-9.

Vooijs GP, van Aspert-van Erp AJM, Nauwelaers F. Cytosafe^{PLUS}: a workstation for screening, supervision, reviewing, quality assurance and education in cytopathology. *Acta Cytol*. 1996; 40:90-6.

zur Hausen H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst*. 2000; 92: 690-8.

Walboomers JMM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol*. 1999; 189(1): 12-19.

Wilbur DC. False negatives in focused rescreening of Papanicolaou smears: how frequently are “abnormal” cells detected in retrospective review of smears preceding cancer or high-grade intraepithelial neoplasia? *Arch Pathol Lab Med*. 1997; 21: 273-6.

Wong, AK, Chan, RCK, Nichols, WS, Bose, S. Human Papillomavirus (HPV) in atypical squamous cervical cytology: the invader HPV test as a new screening assay. [J Clin Microbiol](#). 2008; 46(3): 869-75.

World Health Organization (WHO). National cancer control programmes: policies and managerial guidelines. 2ª edição. Geneva: World Health Organization. 2002, 216p.

World Health Organization (WHO). Programmes and projects. Cancer. Screening and early detection of cancer. Disponível em: <http://www.who.int/reproductivehealth/topics/cancers/en/> Acesso em 30/01/2013.

Wright TC, Sun XW, Koulos J. Comparison of management algorithms for the evaluation of women with low-grade cytologic abnormalities. *Obstet Gynecol.* 1995; 85:202-210.

Yamamoto LSU, Pereira SMM, Etlinger D, Aguiar LS, Sakai YI, Shirata NK et al. Frequência de diagnóstico de lesões do colo uterino por faixa etária em mulheres atendidas no Programa de rastreamento Viva Mulher no período de 2004 a 2008. *Rev Inst Adolfo Lutz.* 2009; 68(1): 126-32.

Anexos

Anexo I - Protocolo das etapas da técnica de coloração de Papanicolaou modificada, utilizada no LCO-IAL.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ REGISTRO DA QUALIDADE			
NÚMERO	TÍTULO	REVISÃO	PÁGINA
AME-NAP-007	ETAPAS DA TÉCNICA DE COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU MODIFICADA	03	1/3

TÉCNICA DE COLORAÇÃO

- Amostras citopatológicas cervicais do tipo convencional e meio líquido,
- Amostra citopatológico geral – líquidos e secreções corporais

COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU MODIFICADA - Local: Bancada

Retirar os berços (carrinhos) com lâminas das cubas contendo álcool etílico, deixado de um dia para o outro;

Lavar em água corrente: 10 minutos;

Lavar em água destilada: mergulhar 10 vezes;

Mergulhar em solução HCL 0,6% por 3 minutos;

Lavar em água corrente: 10 minutos;

Lavar em água destilada: mergulhar 10 vezes;

Retirar o excesso de água: bater o berço levemente em papel de filtro;

Corar com Hematoxilina de Harris (verificar o tempo do dia anterior no anexo A-ME-NAP-013);

Escorrer e bater o berço levemente em papel de filtro

Lavar em água corrente:10 minutos;

Lavar em água destilada: mergulhar 10 vezes;

Retirar o excesso de água: bater o carrinho levemente em papel de filtro;

Lavar em 3 cubas de álcool etílico absoluto: mergulhar 10 vezes;

Retirar o excesso de álcool: bater o carrinho levemente em papel de filtro;

Corar com Orange G (verificar o tempo do dia anterior no anexo A-ME-NAP-013);

Escorrer e bater o berço levemente em papel de filtro;

Lavar em 3 cubas de álcool etílico absoluto: mergulhar 10 vezes;

Retirar o excesso de álcool: bater o carrinho levemente em papel de filtro;

Corar com corante EA-36 (verificar o tempo do dia anterior no anexo A-ME-NAP-013);

Lavar em 4 cubas de álcool etílico absoluto: mergulhar 10 vezes;

Retirar o excesso de álcool: bater o carrinho levemente em papel de filtro;

MONTAGEM DAS LAMINAS: Local: capela de segurança química

Mergulhar as lâminas em álcool e xilol;

Mergulhar em 3 cubas de xilol seqüenciais;

Montagem: Distribuir as laminulas sobre papel de filtro, colocar Entellan® com conta – gotas ou bastão de vidro e em seguida colocar a lâmina com o esfregaço;

Retirar as bolhas e acertar a posição da laminula;

Enxugar o excesso do Entellan® das lâminas com gaze;

Colocar as lâminas em bandejas.

Anexo II - Protocolo para confecção de amostras cérvico-vaginais pela técnica de citologia em meio líquido (BD Sure Path™ Pap Test).

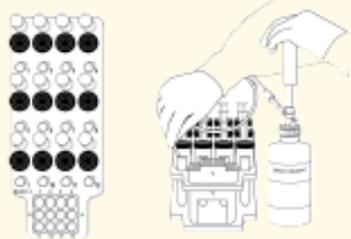


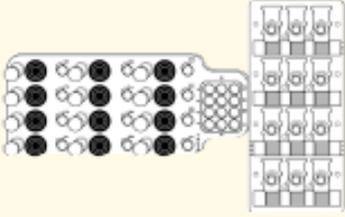
BD SurePath™ Pap Test Process Workflow

Please refer to the BD PrepStain™ slide processor Operators Manual for complete instructions.

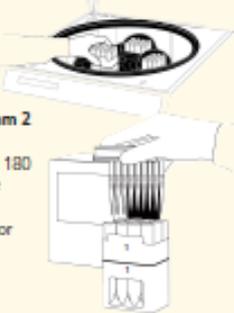
- 1
LABEL AND VORTEX VIALS

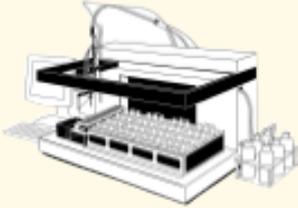
 - Label each sample component (vial, centrifuge tube and glass slide) with a unique identifier.
 - Vortex sample vials for 15 ± 5 seconds at 3000 rpm.
- 2
LOAD BD PREPMATE™ RACK

 - Load vials, centrifuge tubes and syringes on BD PrepMate™ rack.
 - Verify all vials correctly match their corresponding centrifuge tubes.
 - Dispense 4 ml of Density Reagent to each empty centrifuge tube.
- 3
LOAD BD PREPSTAIN™ SYSTEM SLIDE RACKS

 - Place labeled slides into slide racks ensuring proper orientation with its corresponding BD PrepMate™ rack.
 - Attach settling chambers.
- 4
RUN BD PREPMATE™ SYSTEM

 - Load the BD PrepMate™ rack into instrument tray.
 - Press **INC** or **DEC** to adjust the number of specimen rows as necessary.
 - Press **START**.
 - As each BD PrepMate™ rack completes, inspect the centrifuge tubes to verify that the correct amount of sample has been transferred.
- 5
CENTRIFUGE

 - Centrifuge tubes using **Program 1** (2 min, 15 sec @ 200g).
 - Aspirate** supernatant using the Tube Vacuum.
 - Centrifuge tubes using **Program 2** (10 min @ 800g).
 - Decant** tubes by rotating rack 180 degrees, **blot** tubes to remove excess fluid.
 - Vortex** centrifuge tube racks for 15 ± 5 seconds.
- 6
RUN BD PREPSTAIN™ SLIDE PROCESSOR

 - Place centrifuge tube racks and slide racks onto the BD PrepStain™ slide processor.
 - Verify correct centrifuge tubes and slide positions.
 - Check levels of all reagent bottles and verify each labeled intake tubing is placed in its corresponding reagent bottle.
 - Run the BD PrepStain™ slide processor.

Note: Figures shown are not to scale.

BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2007 BD
980-06926-00 REV A 03/07

Anexo III - Termo de consentimento livre e esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



Eu, _____, R.G. _____, declaro que fui informada sobre a pesquisa "***Avaliação da citologia em meio líquido versus convencional no Sistema Único de Saúde***" e concordo em participar deste estudo.

Resp. pela coleta: _____ Data: ____/____/____

Assinatura da paciente: _____

Anexo IV - Termo de esclarecimento das condições do estudo à paciente.

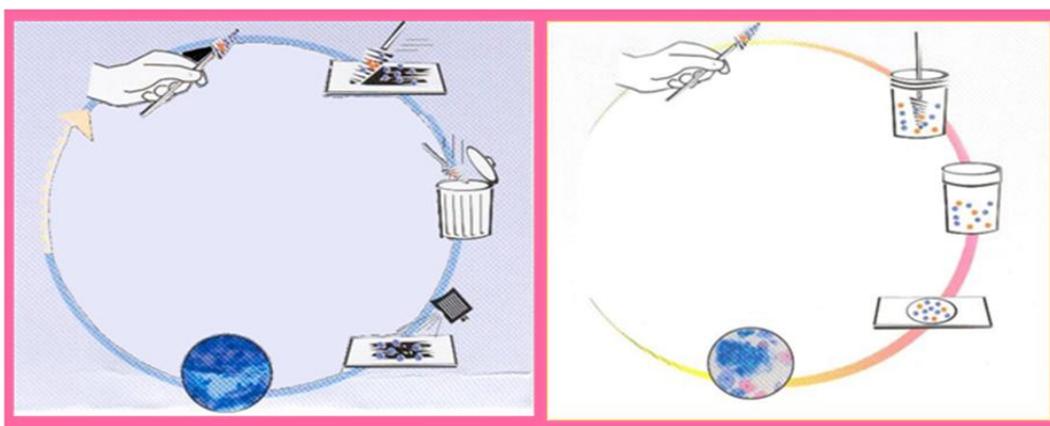


TERMO DE ESCLARECIMENTO

Por favor, leia este documento até o fim e peça explicação sobre qualquer palavra ou frase que não tenha entendido.

Você esta sendo convidada a participar da pesquisa "**Avaliação da citologia em meio líquido versus convencional no Sistema Único de Saúde (SUS)**". Este estudo é promovido pelo Instituto Adolfo Lutz – São Paulo em parceria com os Postos de Saúde desta região, que tem como objetivo avaliar a eficiência do método de base líquida no exame preventivo do colo uterino (Papanicolaou) no SUS.

Você será submetida aos procedimentos habituais para colheita de material vaginal exame de Papanicolaou, pelo profissional habilitado do Posto de saúde. A escova utilizada para colheita será colocada num frasco com líquido apropriado que será enviado ao laboratório do Instituto Adolfo Lutz. Esta é a única diferença em relação ao exame convencional no qual cabe ao profissional que colhe o material preparar a lâmina para exame microscópio, neste exame o preparo será realizado no laboratório do Instituto Adolfo Lutz. No laboratório as lâminas serão preparadas de modo mais uniforme, diminuindo o risco de precisar chamar a paciente para nova colheita por problemas técnicos. O material residual das amostras poderá ser utilizado para esclarecimento diagnóstico e treinamento do novo método para os profissionais do laboratório.



Citologia convencional

Citologia em meio líquido



TERMO DE ESCLARECIMENTO

Por favor, leia este documento até o fim e peça explicação sobre qualquer palavra ou frase que não tenha entendido.

Citologia Convencional		Citologia em meio líquido	
Vantagens	Desvantagens	Vantagens	Desvantagens
Mais barato	Alto índice de exames insatisfatórios	Melhor preservação das células	Custo elevado
	Parte do material é desprezada	Todo material é enviado ao laboratório	

Os exames seguirão os padrões estabelecidos pela rotina do Posto de Saúde em relação ao tempo de retorno.

Os diagnósticos serão feitos de acordo com os padrões da Secretaria da Saúde, sendo que os responsáveis pelo exame encontram-se à disposição para esclarecer qualquer dúvida, como é feito habitualmente.

Você estará contribuindo para o desenvolvimento dos conhecimentos em relação as técnicas de exame de prevenção câncer do colo uterino.

Caso os resultados deste estudo sejam publicados todas as informações pessoais serão confidenciais, não sendo divulgadas.

RISCOS:

A colheita é rápida, não proporcionando riscos. O incômodo é semelhante ao exame convencional.

Se não quiser participar deste estudo poderá fazê-lo sem prejuízo ao seu exame ou tratamento.

SUA PARTICIPAÇÃO É MUITO IMPORTANTE PARA A REALIZAÇÃO DO ESTUDO

Pesquisador responsável

Celso di Loreto
Tel: (11) 3068-2875

Responsável pelo CEP

Luz Marina Trujillo
Tel: (11) 3068-2859

Anexo V - Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Adolfo Lutz.



SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENADORIA DE CONTROLE DE DOENÇAS
INSTITUTO ADOLFO LUTZ
Comitê de Ética em Pesquisa - CEPIAL
Av. Dr. Arnaldo, 355 – Sala 83 - Cerqueira César - 01246-902
Fone: 3068-2859 e-mail: cepial@ial.sp.gov.br



São Paulo, 30 de agosto de 2010.

Protocolo: **068/2010**

Projeto de Pesquisa: "Avaliação da citologia em meio líquido versus convencional no Sistema Único de Saúde"

Pesquisador Responsável: Celso di Loreto

Instituição: Instituto Adolfo Lutz

O Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Adolfo Lutz – CEPIAL analisou e deliberou em reunião de agosto de 2010, de acordo com a Resolução CNS nº 196 de 10 de outubro de 1996 e suas resoluções complementares, o projeto acima apresentado na categoria **APROVADO**.

Em conformidade com o item IX.2 da Resolução CNS nº 196/96 - cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar os relatórios parciais e final ; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo, sob sua guarda, por 5 anos, os dados da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar, perante o CEP, interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados. Os relatórios parciais deverão ser encaminhados a cada seis meses a partir do início da pesquisa.

Luz Marina Trujillo
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
Instituto Adolfo Lutz – CEPIAL

1ª via - coordenador
2ª via - CEPIAL
LMT/dvmp

Anexo VI – Lista de critérios de rejeição de amostras não conformes.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ REGISTRO DA QUALIDADE			
NÚMERO A-NAP-005	TÍTULO CRITÉRIOS DE REJEIÇÃO DE AMOSTRAS NÃO-CONFORMES	REVISÃO 02	PÁGINA 1/2

1. CRITÉRIOS DE REJEIÇÃO DE AMOSTRAS – NÃO-CONFORMES

Parâmetros do Setor

- 1- Acondicionamento inadequado das lâminas;
- 2- Lâmina danificada;
- 3- Lâmina ausente;
- 4- Requisição ausente;
- 5- Identificação da lâmina, requisição e/ou listagem não coincidentes;
- 6- Preenchimento incompleto dos campos obrigatórios;
- 7- Preenchimento ilegível das requisições;
- 8- Listagem com o nome da paciente ilegível;
- 9- Listagem carbonada (as listagens carbonadas apresentam borrões e/ou sobreposição de nomes dificultando a identificação dos mesmos).

Parâmetros do SisCam (Ministério da Saúde) (item 10-15)

(Campos de preenchimento obrigatório para os relatórios citopatológicos e histopatológicos)

- 10- Unidade de Saúde e seu código;
- 11- Nome completo da mulher;
- 12- Nome completo da mãe;
- 13- Data de nascimento ou idade;
- 14- Logradouro, nº, complemento, CEP, bairro, UF;
- 15- Município;
- 16- Verso da requisição em branco;
- 17- Listagem ausente.

Anexo VII – Lista de critérios de risco de casos que devem ser revisados por três observadores.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ			
REGISTRO DA QUALIDADE			
NUMERO	TITULO	REVISAO	PAGINA
AME-NAP-003	ROTEIRO DE CRITÉRIOS DE RISCO	04	1/1

CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO

A- Considerações Clínicas, Citológicas e Biomoleculares (Requisição do exame - Anamnese)

1. **Hemorragia genital pós-menopausa;**
2. Sangramento ectocervical de contato;
3. Evidência de doenças sexualmente transmissíveis ao exame ginecológico (inclusive HIV);
4. **Diagnóstico positivo para HPV por métodos biomoleculares;**
5. Alteração macroscópica significativa ao exame especular ou a colposcopia;
6. **Radioterapia ou quimioterapia prévia;**
7. **Citologia anterior com diagnóstico de atipias de significado indeterminado de células escamosas (ASC-US), (ASC-H) ou glandulares (AGC), lesão intra-epitelial de baixo grau (LSIL) e alto grau (HSIL), carcinoma escamoso ou glandular, outras neoplasias, pós-cone e histerectomia.**

B - Considerações Citológicas – leitura

8. **Presença de células endometriais em esfregaço pós-menopausa;**
9. Efeito citopático compatível com vírus do grupo Herpes;
10. **Atipias de significado indeterminado de células escamosas (ASC-US), (ASC-H) ou glandulares (AGC);**
11. **Esfregaço citológico insatisfatório;**
12. **Lesão intra-epitelial de baixo grau (LSIL) e alto grau (HSIL), carcinoma escamoso ou glandular e outras neoplasias;**
13. **Esfregaço parcialmente hemorrágico.**