

ROSANA FRANCO

**FATORES ASSOCIADOS A RESULTADOS
FALSO-NEGATIVOS DE EXAMES
CITOPATOLÓGICOS DO COLO UTERINO**

Dissertação de Mestrado

**ORIENTADOR: Prof. Dr. LUIZ CARLOS ZEFERINO
CO-ORIENTADOR: Prof^ª. Dr^ª. RITA GORETI AMARAL**

**Unicamp
2006**

ROSANA FRANCO

**FATORES ASSOCIADOS A RESULTADOS
FALSO-NEGATIVOS DE EXAMES
CITOPATOLÓGICOS DO COLO UTERINO**

Dissertação de Mestrado apresentada à
Pós-Graduação da Faculdade de Ciências
Médicas da Universidade Estadual de
Campinas para obtenção do Título de
Mestre em Tocoginecologia, área de
Ciências Biomédicas

ORIENTADOR: Prof. Dr. LUIZ CARLOS ZEFERINO
CO-ORIENTADOR: Prof^ª. Dr^ª. RITA GORETI AMARAL

**Unicamp
2006**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
Unicamp**

Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira – CRB-8ª / 6044

F848f Franco, Rosana
Fatores associados a resultados falso-negativos de exames citopatológicos do colo uterino / Rosana Franco. Campinas, SP: [s.n.], 2006.

Orientadores: Luiz Carlos Zeferino, Rita Goreti Amaral
Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Citopatologia. 2. Reações falso-negativas. 3. Controle de qualidade. I. Zeferino, Luiz Carlos. II. Amaral, Rita Goreti. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aluno: ROSANA FRANCO

Orientador: Prof. Dr. LUIZ CARLOS ZEFERINO

Co-Orientador: Prof^a. Dr^a. RITA GORETI AMARAL

Membros:

1.

2.

3.

**Curso de Pós-Graduação em Tocoginecologia da Faculdade
de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas**

Data: 13/12/2006

Dedico este trabalho...

*Ao meu filho Theo,
que apesar de tão pequenino procurou
entender os momentos em que estive ausente,
e por toda sua manifestação de amor
que me fortaleceu nesse caminho...*

*Ao meu amor e também grande amigo Rodrigo,
por permanecer ao meu lado me incentivando
e me mostrando que eu era capaz de continuar...*

*À minha mãe, minha aliada, que em
muitos momentos foi também mãe do Theo,
permitindo que dessa forma eu pudesse
dedicar-me inteiramente a este estudo...*

Agradecimentos

A Deus - Força Maior que me move e me faz acreditar, a cada dia, que existe um motivo, verdadeiramente especial, para tudo o que faço. Força Essa que não me desampara e que me envolve nos momentos em que me sinto só...

Ao Prof. Dr. Luiz Carlos Zeferino, pela orientação, confiança e pela oportunidade de crescimento. Espelho-me em seus ensinamentos... Muito obrigada!

À Profa.Dra. Rita Goreti Amaral, pela enorme contribuição dada a este estudo e pela maravilhosa e verdadeira amizade que nasceu a partir dele;

À Dra. Maria Cristina do Amaral Westin, pelo enorme carinho com que me recebeu e pela inestimável colaboração não apenas neste estudo, mas em minha vida;

À minha amiga Eliana Montemor, por toda a contribuição dada a este estudo, pela valiosa amizade e por me acolher em seu enorme coração;

Ao médico citopatologista e amigo Dr. Douglas Munhos, pela participação mais que especial neste estudo;

Aos profissionais do laboratório de Citopatologia da Unicamp Érica, Ana Cristina, Ângela, Deise, Daniela, Andréa, Cíntia, “tia Marli”, Silvana, Rosiane, Rosana, Beth, Bernadete, Ruth, Estér, Maria Helena, José Carlos, José Maria, João, Rivaldo, Luiz Borges, Fassina e Nilton, pelo carinho, pela amizade e pela ajuda na realização deste estudo. Sem vocês, com certeza ele não seria possível;

À minha grande e querida amiga Fabiana Caselato, pelas inúmeras vezes que me ajudou até mesmo quando não imaginava que o estava fazendo. Você é um exemplo de alegria e otimismo;

À Adriana Ballys, pelo exemplo de postura profissional, pelo carinho que me dedicou e por toda vibração positiva que sempre me enviou. Quando eu crescer, quero ser igual a você!

À Márcia Ávila, pela ajuda indispensável em vários momentos deste percurso. Obrigada pelo carinho. Sua compreensão foi muito importante em momentos em que eu precisei de um ombro amigo;

À Margarete Donadon pela alegria, disposição e alto astral que sempre me contagiou, fazendo com que meus dias fossem sempre melhores! Muito obrigada pelo mais simples gesto e pela sua imensa capacidade de doação;

À estatística Sirlei Siani Morais, não apenas pela grande ajuda na análise dos dados, mas pela enorme capacidade com que o fez;

Aos profissionais da ASTEC do CAISM, especialmente ao William e à Rosário, pela dedicação e por todo o trabalho que realizaram;

Ao Dr. Atílio Andreguetto e à Nê, por permitirem que eu trilhasse este caminho. Muito obrigada por toda a compreensão;

Aos meus amigos do Vital Brazil, em especial à Cláudia, Silmara, Angélica e Patrícia, pela amizade tão verdadeira que fez com que não existissem barreiras para que ela acontecesse;

A “tia Silene”, nosso anjinho da guarda, que cuida não apenas do meu filho como se também fosse seu, mas cuida e torce por mim, com tamanha dedicação que chega a me emocionar. Que Deus continue a te iluminar e que essa luz reflita em todos ao seu redor! Muito obrigada, minha amiga...

Sumário

Símbolos, Siglas e Abreviaturas	viii
Resumo	ix
Summary	xii
1. Introdução	15
2. Objetivos	21
2.1. Objetivo geral	21
2.2. Objetivos específicos	21
2.2.1. Estudo 1	21
2.2.2. Estudo 2	22
3. Publicações	23
3.1. Artigo 1	24
3.2. Artigo 2	41
4. Conclusões	56
5. Referências Bibliográficas	58
6. Bibliografia de Normatizações	65
7. Anexos	66
7.1. Anexo 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	66
7.2. Anexo 2 – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa	68
7.3. Anexo 3 – Carta comunicado de aceite do artigo	70

Símbolos, Siglas e Abreviaturas

AGC	<i>Atypical glandular cells</i>
ASC-H	<i>Atypical squamous cells cannot exclude HSIL</i>
ASC-US	<i>Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance</i>
CAISM	Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher
CDC	<i>Centers for Disease Control</i>
FN	Falso-negativo
HSIL	<i>High grade squamous intraepithelial lesion</i>
IC 95%	Intervalo de confiança a 95%
LSIL	<i>Low grade squamous intraepithelial lesion</i>
OR	<i>Odds Ratio</i>
p	Valor-p
SUS	Sistema Único de Saúde
Unicamp	Universidade Estadual de Campinas
VP	Verdadeiro-positivo

Resumo

Introdução: O espectro dos fatores que levam à liberação de resultado falso-negativo do exame citopatológico é amplo e superá-los continua sendo um desafio. A avaliação do desempenho dos profissionais responsáveis pelo exame citopatológico deve ser monitorada como forma de garantir a qualidade dos exames liberados.

Objetivos: Analisar se, no escrutínio de rotina, fatores relacionados com a adequabilidade da amostra, padrão celular e critérios citomorfológicos estão associados a resultados falso-negativos dos exames citopatológicos e analisar o desempenho dos citotécnicos no escrutínio de rotina do exame citopatológico, através da revisão rápida dos esfregaços negativos. **Métodos:** Este estudo foi realizado no Laboratório de Citopatologia do CAISM/Unicamp. Os esfregaços incluídos no estudo eram de mulheres usuárias do Sistema Único de Saúde de Campinas e região, que se submeteram ao exame citopatológico (Papanicolaou) para o rastreamento do câncer do colo uterino. Para responder aos objetivos, o estudo foi desenvolvido com dois desenhos metodológicos. A primeira etapa foi um estudo caso-controle, em que o grupo de casos incluiu 100 esfregaços citopatológicos com um resultado falso-negativo (FN) que foi detectado pela sistemática de controle interno da qualidade com revisão rápida. Para cada

resultado FN detectado foram identificados, pelo mesmo citotécnico, dois esfregaços com um diagnóstico verdadeiro positivo (VP) e este grupo foi considerado controle, totalizando uma casuística de 300 esfregaços. As variáveis analisadas foram estabelecidas de acordo com os critérios definidos para a análise da adequabilidade da amostra, padrão celular e citomorfológicos. Os resultados foram avaliados por análise bivariada e regressão logística, com critério de seleção de variáveis *stepwise* e expressos em *Odds Ratio* (IC 95%). A segunda etapa foi um estudo corte transversal que incluiu 62.785 esfregaços classificados como negativos no escrutínio de rotina realizado por 24 citotécnicos. Todos esses esfregaços foram submetidos ao controle interno da qualidade do laboratório utilizando o método de revisão rápida. Durante essa revisão, os esfregaços suspeitos foram submetidos a uma revisão detalhada para a confirmação de alguma alteração e posteriormente revisada pelos citopatologistas para a liberação do diagnóstico final. Para análise estatística, os citotécnicos foram agrupados em tercis tendo como base as taxas de resultados falso-negativos e as taxas foram comparadas através dos testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney. **Resultados:** Primeiro estudo: O número de células atípicas, aspecto da cromatina nuclear, distribuição e apresentação de células atípicas no esfregaço apresentaram risco maior para resultados FN com OR de 9,6 (5,3 – 17,5), 4,2 (2,2 – 8,3), 4,4 (2,6 – 7,4) e 3,6 (2,2 – 6,0), respectivamente. Processo inflamatório e presença de sangue no esfregaço mostraram também risco para os resultados FN. Segundo estudo: Foram detectados 269 esfregaços falso-negativos sendo ASC-US e LSIL os diagnósticos mais prevalentes. Para o conjunto de todos os diagnósticos, a maior taxa de resultados falso-negativos

atribuída a um citotécnico foi 8,3 vezes maior do que a menor taxa de resultados falso-negativos observada. Os citotécnicos foram agrupados em tercís de acordo com a faixa de resultados falso-negativos, que foram calculadas e analisadas para o conjunto de todos os diagnósticos, ASC-US e LSIL. As comparações entre as três faixas e duas a duas, foram estatisticamente significantes para o conjunto de todos os diagnósticos, ASC-US e LSIL. Conclusões: Primeiro estudo: A maioria dos fatores associados à liberação de um resultado FN é dependente das condições e técnicas de coleta de material, pois, em grande parte, a lesão pode não estar adequadamente representada no esfregaço. Também fatores obscurecedores, como sangue e processo inflamatório, podem prejudicar a análise. Quanto às alterações citomorfológicas, cromatina fina foi a característica que apresentou maior risco para resultados FN. Segundo estudo: As taxas de resultados falso-negativos variaram significativamente entre os citotécnicos e os diagnósticos mais freqüentes dentre os exames com resultados falso-negativos foram ASC-US e LSIL.

Summary

Introduction: The spectrum of factors that lead to false-negative (FN) results in cytopathology testing is broad, and dealing with these factors continues to be a challenge. The evaluation of the performance of technologists responsible for testing should be monitored as a way of guaranteeing the quality of results.

Objectives: To analyze whether, under routine scrutiny, factors related to the adequacy of the sample, cell pattern and cytomorphological criteria are associated with false-negative results in cytology testing, and to analyze the performance of the cytotechnologists who routinely perform these tests by carrying out a 100% rapid review of negative smears. **Methods:** This study was carried out at the Cytopathology Laboratory of CAISM/UNICAMP. The smears included in the study were obtained from women who were clients of the National Health Service in Campinas and the surrounding catchment area, undergoing cytology (Papanicolaou smear) as a screening for cervical cancer. To fulfill the objectives of the study, two different methodologies were designed. First, a case-control study was carried out involving 100 smears with a false-negative (FN) result detected by the 100% rapid review system of internal quality control. For each FN result detected, two smears with a true positive (TP) diagnosis made by the same

cytotechnologist were identified, and this set of smears formed the control group, making a total sample size of 300 smears. The variables analyzed were established according to the criteria defined by the analysis of adequacy of the sample, cell pattern and cytomorphology. The results were evaluated using bivariate analysis and logistic regression with stepwise variable selection criteria expressed as odds ratios (OR) (95%). The second stage consisted of a cross-sectional study including 62,785 smears classified as negative during routine scrutiny carried out by 24 cytotechnologists. All smears were submitted to the laboratory's internal quality control using the 100% rapid review method. During this review, the suspect smears were submitted to a detailed review to confirm any alteration and were later reviewed by cytopathologists before a final diagnosis was issued. For the statistical analysis, the cytotechnologists were grouped into tertiles based on the rates of false-negative results, and the rates were compared using the Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests. **Results:** First study: The number of atypical cells, the appearance of nuclear chromatin, and the distribution and presentation of atypical cells in the smear represented the greatest risk for FN results with odds ratios (OR) of 9.6, 4.2, 4.4 and 3.6, respectively. Inflammatory processes and the presence of blood in the smear also represented a risk for FN results. Second study: A total of 269 false-negative smears were detected, ASC-US and LSIL being the most prevalent diagnoses. For the set of all the diagnoses together, the highest rate of false-negative results attributed to one single cytotechnologist was 8.3 times greater than the lowest rate of false-negative results observed. The cytotechnologists were grouped into tertiles according to the range of false-negative results, which were calculated and analyzed for the set of all the

diagnoses together, ASC-US and LSIL. Comparisons between the three ranges and between sets of two were statistically significant for all the diagnoses together, ASC-US and LSIL. **Conclusions:** First study: Most of the factors associated with FN results are a consequence of the conditions and the techniques used in sample collection, since, in the majority of cases, the lesion may not be adequately represented in the smear. Other confounding factors such as blood and inflammatory processes may also hinder analysis. With respect to cytomorphological alterations, fine chromatin was the characteristic that represented greatest risk for FN results. Second study: The rates of false-negative results vary significantly from one cytotechnologist to another and the most frequent diagnoses in tests with false-negative results were ASC-US and LSIL.

1. Introdução

O câncer de colo do útero é o segundo tipo de câncer mais comum entre mulheres no mundo, sendo responsável por cerca de 470 mil novos casos e por 230 mil mortes por ano em todo o mundo. Aproximadamente 80% dos novos casos de câncer do colo do útero concentram-se nos países em desenvolvimento (Brasil, 2006).

Nos países mais desenvolvidos, onde os programas de rastreamento do câncer do colo do útero são bem estruturados, no entanto, observou-se redução significativa das taxas de incidência e de mortalidade (Hanselar, 2002; Gary, 2005).

No Brasil, onde a incidência é de 20 a 30 casos por 100.000 mulheres ao ano, o câncer do colo do útero é a terceira neoplasia maligna mais comum entre as mulheres, representando 10% de todos os tumores malignos, e é a quarta causa de morte por câncer em mulheres. Para o ano de 2006, foi estimado o diagnóstico de 19.260 novos casos de câncer de colo de útero na população feminina brasileira (Brasil, 2006).

A história natural do carcinoma do colo uterino mostra que essa é uma doença de evolução lenta, sendo possível identificar suas formas precursoras, que são tratáveis e curáveis ou podem regredir espontaneamente, impedindo que a lesão torne-se invasiva (Zeferino et al., 1996; Viscaïno et al., 2000).

A incidência por câncer de colo de útero eleva-se a partir do grupo etário 20-29 anos e torna-se evidente a partir dos 35 anos, com aumento de risco na faixa etária que compreende dos 45 aos 49 anos. Dentre todos os tipos de câncer, é o que apresenta maior potencial de prevenção e cura, chegando perto de 100% quando diagnosticado precocemente e podendo ser tratado em nível ambulatorial em cerca de 80% dos casos (Elovainio et al., 1997; Brasil, 2002).

A realização do exame citopatológico é utilizada mundialmente, como uma estratégia segura e eficiente para a detecção precoce do câncer do colo do útero, porém tem sido alvo de criticismo devido às altas taxas de resultados falso-negativos, que variam de 6 a 68% (Mitchell e Medley, 1995; Shirata et al., 1998; O'Sullivan, 1998). Questiona-se a sua eficiência na detecção precoce desse tipo de câncer quando as taxas de resultados falso-negativos são altas (Mitchell e Medley, 1995; Shirata et al., 1998; O'Sullivan, 1998). Os fatores associados com resultados falso-negativos têm sido investigados, porém continua sendo um desafio superá-los ou atenuar seus efeitos (Baker, 1999; Gary, 2005, Phadnis, 2005).

O desempenho desses exames depende de vários fatores que podem estar relacionados com a qualidade do esfregaço, como também aqueles relacionados

com o desempenho do profissional propriamente dito. (Farker, 1996; O Sullivan, 1998; De May, 1997; Eluf-neto e Nascimento, 2001).

Existem evidências de que os resultados falso-negativos estão associados com padrões de qualidade dos esfregaços relacionados com a quantidade de células anormais ou, ainda, com a presença de processo inflamatório e sangue que podem prejudicar parcialmente a análise (Bosch et al., 1992; Mitchel e Medley 1995; O'Sullivan, 1998; Saslow et al., 2002).

Mitchell e Medley (1995) verificaram que o risco de um diagnóstico falso-negativo era 23,7 vezes maior nos esfregaços que continham menos de 50 células anormais, quando comparado com os esfregaços que continham mais de 200 células anormais. Após analisarem esfregaços que foram erroneamente diagnosticados como negativos, constataram que os mesmos continham um número significativamente menor de células anormais quando comparados com os esfregaços diagnosticados corretamente como NIC 3.

O Sistema Bethesda inovou ao introduzir a análise da qualidade do esfregaço no laudo do exame citopatológico, valorizando a presença de sangue, processo inflamatório e artefatos de fixação como fatores relacionados com a qualidade do esfregaço (Solomon, 2005). Ainda, fatores patológicos como a citólise e infecção microbiana poderiam interferir negativamente nas características do esfregaço (Mintzer, 1999).

O predomínio do trabalho manual é uma característica marcante do exame citopatológico do colo do útero. O processo envolvendo a coleta, fixação e

coloração do material até a liberação do resultado pelo laboratório retrata essa situação. Nesse sentido, a realização de teste de proficiência e de programas de educação continuada para aprimoramento individual é de fundamental importância, pois o desempenho profissional pode estar relacionado com a qualidade dos recursos humanos envolvidos (CDC, 1992; Mody et al., 2000, ASC, 2001; Barbara et al., 2005; Pajtler et al., 2006; Michelow et al., 2006).

Gary (2005) relatou que profissionais muitas vezes ingressam na carreira com um *deficit* de conhecimento relativo às limitações da prática do *screening* e com uma expectativa irreal a respeito do seu próprio desempenho. Assim, a avaliação da competência é um processo contínuo de monitoramento individual das habilidades e do desempenho dos profissionais para a função específica. Uma variedade de abordagens pode ser útil nessa avaliação, como controle interno da qualidade do laboratório que aborde procedimentos para identificar, minimizar e prevenir possíveis fontes de erros, participação dos profissionais dos laboratórios em programas de rastreamento, educação continuada e aplicação de teste de proficiência como forma de seleção (Davey et al., 2000).

Muitos fatores podem contribuir para limitar o desempenho do profissional, como fator psicológico representado pela inabilidade em se manter em estado de concentração alta por períodos longos, fator fisiológico como limitação da visão periférica ou limitação do escrutínio completo da lâmina e fator físico como fadiga ou jornada excessiva de trabalho (Davey, 2000; Gary, 2005). Taylor et al., (1992) relataram que os profissionais que normalmente excedem a carga

horária recomendada para tal atividade podem apresentar prejuízo na qualidade da análise do esfregaço.

De acordo com *The Clinical Laboratory Improvement Amendment of 1988* (CLIA, 1992), nos EUA, o limite máximo de análise é de 100 exames diários. Entretanto, é de fundamental importância que cada profissional estabeleça seu próprio limite (CDC, 1992; Jordan, 1992; Melamed, 1996).

O escrutínio do esfregaço é uma rotina repetitiva que exige muita concentração, comportamento metuculoso dos profissionais e adoção de critérios de análise, de tal forma que é importante identificar e intervir nos fatores evitáveis presentes na rotina dos profissionais do laboratório (Bosch, 1992; Mitchel e Medley, 1995).

Várias estratégias foram desenvolvidas para diminuir o impacto das altas taxas de resultados falso-negativos. Novos tipos de instrumentos foram desenvolvidos para qualificar a coleta de material, tendo como objetivo amostrar mais eficientemente as células da junção escamo-colunar, área do epitélio do colo uterino onde se localiza a maioria das lesões (Buntix et al., 1996; Zeferino et al., 2000).

Novos métodos de controle interno da qualidade dos exames citopatológicos também foram desenvolvidos. Dentre eles, a revisão rápida dos esfregaços considerados como negativos no escrutínio de rotina, visto que, a revisão aleatória de 10% dos esfregaços negativos do escrutínio de rotina tem-se mostrado como uma prática de baixa eficiência (Arbin, 2000; Gary, 2005; Pajtler, 2006). A revisão rápida proporciona um aumento na detecção das lesões precursoras do câncer

do colo uterino e conseqüente redução dos resultados falso-negativos na rotina dos laboratórios. Os benefícios dessa revisão englobam também sua utilização para avaliação do desempenho do escrutinador, já que a totalidade dos esfregaços é revisada (Slater, 1998; Mody et al., 2000; Dudding et al., 2001; Amaral et al, 2005; Manrique et al., 2006; Pajtler, 2006; Michelow, 2006). Michelow et al (2006) mostram que a partir da avaliação do desempenho individual dos profissionais, como a variação da freqüência de lesões identificadas, o profissional pode ser redirecionado para um treinamento específico ou outras medidas de intervenção cabíveis.

Portanto, os objetivos deste estudo foram analisar se, no escrutínio de rotina, fatores relacionados com a adequabilidade da amostra, padrão celular e critérios citomorfológicos estão associados a resultados falso-negativos dos exames citopatológicos e analisar o desempenho individual dos profissionais responsáveis pelo escrutínio de rotina, através da revisão rápida dos esfregaços cervicais.

Espera-se que os resultados deste estudo possam servir como parâmetros para orientar ações nos laboratórios de citopatologia para detectar causas de resultados falso-negativos, como também para orientar intervenções corretivas.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Esta dissertação, composta por dois estudos apresentados na forma de artigos, é um produto da linha de pesquisa que tem como objetivo pesquisar fatores relacionados ao desempenho diagnóstico dos exames citopatológicos do colo uterino.

2.2. Objetivos específicos

2.2.1. Estudo 1

- Analisar se os resultados falso-negativos estão associados com a adequabilidade da amostra;
- Analisar se os resultados falso-negativos estão associados com os critérios citomorfológicos;

- Analisar se os resultados falso-negativos estão associados com o padrão celular.

2.2.2. Estudo 2

- Determinar a frequência dos diagnósticos falso-negativos no escrutínio de rotina dos exames citopatológicos.
- Analisar o desempenho dos citotécnicos no escrutínio de rotina do exame citopatológico cervical, através da revisão rápida dos esfregaços negativos.

3. Publicações

Artigo 1 - Fatores associados a resultados falso-negativos de exames citopatológicos do colo uterino

¹Rosana Franco, ²Rita Goreti Amaral, ³Eliana Borin Lopes Montemor,
⁴Douglas Munhoz Montis, ⁵Sirlei Siani Morais, ⁶Luiz Carlos Zeferino

**Aceito para publicação pela Revista Brasileira de Ginecologia
Obstetrícia (RBGO) - protocolo número 2853**

Artigo 2 – Avaliação do desempenho de citotécnicos através da revisão rápida dos esfregaços cervicais

Rosana Franco¹; Rita Goreti Amaral²; Eliana Borin Lopes Montemor¹;
Maria Cristina do Amaral Westin ¹; Sirlei Siani Morais¹; Luiz Carlos Zeferino¹

¹Faculdade de Ciências Médicas-Universidade Estadual de Campinas

²Faculdade de Farmácia-Universidade Federal de Goiás

Será submetido à Revista Brasileira de Saúde Materno-Infantil

3.1. Artigo 1

Fatores associados a resultados falso-negativos de exames citopatológicos do colo uterino **Factors associated with false-negative cervical cytopathology results**

¹Rosana Franco, ²Rita Goreti Amaral, ³Eliana Borin Lopes Montemor, ⁴Douglas Munhoz Montis, ⁵Sirlei Siani Morais, ⁶Luiz Carlos Zeferino

Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher (CAISM) da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp)

¹Mestranda do Departamento de Tocoginecologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas

²Professora-Doutora da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás

³Citologista do Laboratório de Citopatologia da Universidade Estadual de Campinas

⁴Citopatologista do Laboratório de Citopatologia da Universidade Estadual de Campinas

⁵Estatística do Departamento de Tocoginecologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas

⁶Professor-Doutor do Departamento de Tocoginecologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas

Correspondência:

Luiz Carlos Zeferino

Rua Alexander Fleming 101, Cidade Universitária “Zeferino Vaz”

CEP: 13083-881, Campinas-SP

Telefone: (19) 35217138; Fax: (19) 35218010

E-mail: zeferino@caism.unicamp.br

Resumo:

Objetivo: Verificar se, no escrutínio de rotina, fatores relacionados com a adequabilidade da amostra, padrão celular e critérios citomorfológicos estão associados a resultados falso-negativos dos exames citopatológicos. **Métodos:** Trata-se de um estudo caso-controle, onde o grupo de casos incluiu 100 esfregaços citopatológicos com um resultado falso-negativo (FN) que foi detectado pela sistemática de controle interno da qualidade com revisão rápida. Para cada resultado FN detectado foram identificados, pelo mesmo citotécnico, dois esfregaços com um diagnóstico verdadeiro positivo (VP) e este grupo foi considerado controle, totalizando uma casuística de 300 esfregaços. As variáveis analisadas foram estabelecidas de acordo com os critérios definidos para a análise da adequabilidade da amostra, padrão celular e citomorfológicos. Os resultados foram avaliados por análise bivariada e regressão logística com critério de seleção de variáveis *stepwise* e expressos em *Odds Ratio* (IC 95%).

Resultados: O número de células atípicas, aspecto da cromatina nuclear, distribuição e apresentação de células atípicas no esfregaço apresentaram risco maior para resultados FN com OR de 9,6 (5,3 - 17,5), 4,2 (2,2 - 8,3), 4,4 (2,6 - 7,4) e 3,6 (2,2 - 6,0), respectivamente. Processo inflamatório e presença de sangue no esfregaço mostraram também risco para os resultados FN. **Conclusões:** A maioria dos fatores associados à liberação de um resultado FN é dependente das condições e técnicas de coleta de material, pois, em grande parte, a lesão pode não estar adequadamente representada no esfregaço, e também fatores obscurecedores como sangue e processo inflamatório podem prejudicar a análise. Quanto às alterações citomorfológicas, cromatina fina foi a característica que apresentou maior risco para resultados FN.

Palavras-chave: Colo do útero; Rastreamento; Câncer cervical; Citopatologia cervical; Falso-negativo.

Abstract

Purpose: To evaluate whether factors related to the adequacy of the sample, cell pattern and cytomorphological criteria are associated with false-negative results of cervical cytopathology during routine examinations. **Methods:** This is a case-control study in which the study group included 100 cytopathologic smears with a false-negative (FN) result detected during systematic internal quality control consisting of 100% rapid review. For each FN result detected, two smears with a true positive (TP) diagnosis were identified by the same cytotechnician and these constituted the control group, making a total sample size of 300 smears. The variables analyzed were established in accordance with the criteria defined for the analysis of sample adequacy, cell pattern and cytomorphological criteria. The results were evaluated using bivariate analysis and logistic regression with stepwise variable selection criteria expressed in OR (95%). **Results:** The number of atypical cells, the appearance of nuclear chromatin, and the distribution and presentation of atypical cells in the smear were the variables that showed the greatest risk for FN results with OR of 9.6 (5.3-17.5), 4.2 (2.2-8.3), 4.4 (2.6-7.4) and 3.6 (2.2-6.0), respectively. Inflammatory processes and the presence of blood in the smear were also identified as variables that influence the risk of FN results. **Conclusions:** The majority of the factors associated with FN results are dependent on the conditions and techniques of sample collection, since in the majority of cases, the lesion may not be adequately represented in the smear. Confounding factors such as blood and inflammatory processes may also impair analysis. With respect to cytomorphological alterations, thin chromatin strands was the variable that indicated the greatest risk of FN results.

Key words: Cervix; Screening; Cervical cancer; Cervical Cytopathology; False-negative.

Introdução

O câncer de colo uterino é uma das mais frequentes causas de óbito na população feminina da América Latina, onde as taxas de incidência são também uma das mais altas do mundo¹. Em países onde os programas de rastreamento do câncer do colo uterino são bem estruturados observou-se, no entanto, redução significativa destas taxas^{2,3}.

O exame citopatológico é universalmente utilizado para o rastreamento deste câncer, porém tem sido alvo de criticismo devido às altas taxas de resultados falso-negativos^{4,5}. Os fatores associados com resultados falso-negativos têm sido explorados, porém continua sendo um desafio superá-los ou atenuar seus efeitos^{1,6}.

O Sistema Bethesda⁷ inovou ao introduzir a análise da qualidade do esfregaço no laudo do exame citopatológico, valorizando a presença de sangue, processo inflamatório e artefatos de fixação como fatores relacionados com a qualidade do esfregaço. Ainda, fatores patológicos como a citólise e infecção microbiana podem interferir negativamente nas características do esfregaço⁸.

O desempenho diagnóstico do exame citopatológico está associado a erros de coleta, variabilidade na interpretação citomorfológica e erros no escrutínio microscópico^{5,9}. Trata-se de uma rotina que exige concentração e comportamento metódico dos profissionais, de tal forma que é importante identificar fatores evitáveis ou que demandariam mais atenção pela maior possibilidade de apresentar resultado falso-negativo⁴. Além disso, a presença e características das células atípicas presentes no esfregaço estão relacionadas com taxa de diagnósticos corretos^{4,10}.

Portanto, o objetivo deste estudo foi analisar se, no escrutínio de rotina, fatores relacionados com a adequabilidade da amostra, padrão celular e critérios citomorfológicos estão associados a resultados falso-negativos dos exames citopatológicos.

Métodos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas e realizado no Laboratório de Citopatologia do CAISM/Unicamp, que analisa em média 25 mil esfregaços por mês. Os esfregaços incluídos no estudo eram de mulheres usuárias do Sistema Único de Saúde de Campinas e região, que se submeteram ao exame citopatológico (Papanicolaou) nos postos de saúde, usando a técnica convencional. Trata-se de um estudo caso-controle, em que o grupo de casos incluiu 100 esfregaços citopatológicos consecutivos que foram diagnosticados pelos citotécnicos, no escrutínio de rotina, com resultado falso-negativo de lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau (LSIL) ou lesão intra-epitelial escamosa de alto grau (HSIL). Esses esfregaços com resultado falso-negativo (FN) foram detectados através da sistemática de controle interno da qualidade com revisão rápida de um minuto¹¹. O grupo dos casos foi composto de 89 LSIL e 11 HSIL.

Para cada resultado falso-negativo incluído no grupo de casos, foram selecionados dois esfregaços com o mesmo diagnóstico neoplásico, porém, corretamente detectado pelo mesmo citotécnico responsável pelo diagnóstico de FN, ou seja, um diagnóstico verdadeiro positivo (VP). Esta amostra foi considerada como grupo-controle e foi composta de 178 LSIL e 22 HSIL. Todos os esfregaços dos grupos de casos e controles foram numerados em ordem crescente, impossibilitando, desta forma, que os pesquisadores pudessem identificar quais eram os esfregaços FN e VP. Foram selecionados esfregaços do período entre março de 2004 a novembro de 2005.

Para se obter uma amostra mais homogênea optou-se por incluir apenas esfregaços com os resultados de LSIL e HSIL. Considerou-se que o diagnóstico de ASCUS apresenta limitações para atender aos objetivos deste estudo devido à baixa concordância diagnóstica

entre observadores¹². Os diagnósticos relacionados às células glandulares, ainda que clinicamente importantes, são pouco freqüentes e, portanto, também não foram incluídos neste estudo¹³.

Todos os esfregaços foram revisados simultaneamente, em microscópio de duas cabeças, por dois citologistas. As variáveis analisadas relacionaram-se a adequabilidade da amostra, ao padrão celular e aos critérios citomorfológicos. Quanto à adequabilidade da amostra, foram analisadas fixação (satisfatória ou limitada); citólise (satisfatória ou limitada), processo inflamatório (obscurecimento parcial provocado pela quantidade de leucócitos, classificado como presente ou ausente), sangue (obscurecimento parcial provocado pela presença de hemácias, classificado como presente ou ausente), degeneração celular, células endocervicais e células metaplásicas (classificados como presentes ou ausentes). Quanto ao padrão celular, foram analisadas número de células atípicas (até 50 ou mais de 50); tamanho das células atípicas (grandes ou pequenas); distribuição celular (parte da lâmina ou por toda lâmina) e apresentação celular (agrupadas-sincício ou isoladas). Quanto aos critérios citomorfológicos, foram analisados: aspecto da cromatina (fina ou granular); distribuição da cromatina (regular ou irregular); membrana nuclear (espessa-irregular ou lisa); hipercromatismo (moderado-acentuado ou discreto); e relação núcleo/citoplasma (moderada/acentuada ou discreta). Antes da revisão houve padronização dos conceitos para a interpretação dos critérios diagnósticos.

Para estimar a magnitude de associação de cada critério citomorfológico com o diagnóstico final foi utilizada a análise bivariada, sendo que os resultados foram expressos em valores de *odds ratio* (OR), com intervalo de confiança de 95%. A análise de regressão logística (análise multivariada) com critério de seleção de variáveis *stepwise* foi usada para avaliar a interação entre as variáveis, sendo que os resultados foram expressos em

valores OR com intervalo de confiança de 95%¹⁴. A associação foi considerada estatisticamente significativa quando o intervalo de confiança não incluiu o valor um. Quando uma das extremidades do intervalo de confiança foi um inteiro, a significância foi considerada limítrofe. As variáveis que apresentaram valores de OR e intervalos de confiança maiores do que um, foram consideradas como fator de risco (promotoras) para resultados FN, enquanto que aquelas que apresentaram valores abaixo de um foram consideradas como fator de proteção (protetoras) que evita resultados FN.

Resultados

O número de células atípicas, aspecto da cromatina nuclear, distribuição e apresentação de células atípicas no esfregaço foram associados a risco maior para resultados falso-negativos. Até 50 células atípicas presentes no esfregaço (53%) foi o fator que apresentou maior risco para resultados FN, com OR de 9,6 (5,3 - 17,5). Quando a distribuição das células atípicas foi apenas localizada (68%), o OR para resultado FN foi de 4,4 (2,6 - 7,4). A apresentação de células atípicas isoladas (62%) também apresentou OR de 3,6 (2,2 - 6,0) para resultados falso-negativos em comparação com apresentação de células agrupadas ou em sincício (Tabela 1).

Com relação aos critérios citomorfológicos, cromatina com aspecto fino esteve presente em 80% dos resultados FN, em contrapartida a 48% dos VP, resultando num risco de 4,2 (2,2 - 83). A hipercromasia discreta e membrana nuclear lisa apresentaram associação estatisticamente significativa, porém com menor valor de OR para resultados falso-negativos, 2,7 (1,5 - 5,0) e 2,8 (1,7 - 4,6), respectivamente. Dentre os fatores relacionados à adequabilidade da amostra, apenas a presença de sangue mostrou significância limítrofe (Tabela 1).

A Figura 1 representa os valores de OR e respectivos intervalos de confiança obtidos através da análise multivariada, sendo que apenas os intervalos de confiança que não cruzam a linha vertical (valor um) foram considerados estatisticamente significativos. Até 50 células atípicas, cromatina fina e distribuição localizada de células atípicas apresentaram maior risco para os resultados FN, com *odds ratio* de 8,5 (4,0 - 17,9), 4,0 (1,9 - 8,3) e 2,9 (1,5 - 5,8), respectivamente. Processo inflamatório e presença de sangue no esfregaço, apesar de menor magnitude, mostraram também risco para os resultados FN, com *odds ratio* de 2,8 (1,5 - 5,3) e 2,2 (1,2 - 4,2), respectivamente. A presença de células metaplásicas foi o único fator investigado que apresentou OR menor do que um, sendo que a significância estatística pode ser considerada limítrofe uma vez que o limite superior do intervalo de confiança foi 1,1.

Discussão

Os resultados deste estudo mostraram que células atípicas em pequeno número, isoladas, presentes apenas em parte do esfregaço, presença de sangue e processo inflamatório são características de exames que apresentaram resultados falso-negativos no escrutínio citológico. Esses fatores estão relacionados às condições e técnicas de coleta de material para realização do exame citopatológico.

O baixo número de células atípicas tem sido descrito como fator associado a resultados falso-negativos no escrutínio citológico, assim como a presença de células atípicas localizadas e isoladas^{4,5}. O presente estudo apresentou maior valor de OR para o baixo número de células atípicas, tanto na análise bivariada quanto na multivariada.

A presença de sangue e de processo inflamatório não tem sido sistematicamente associada com maior frequência de resultados FN, porém neste estudo a análise

multivariada mostrou que são fatores que se associaram de maneira independente com maior risco para resultados FN^{6, 7}. É possível que esse aparente conflito ocorra devido a diferenças no critério de avaliação da quantidade de sangue e intensidade do processo inflamatório, pois esses fatores comprometem a análise citológica^{6,7}.

Neste estudo o exame citopatológico foi realizado pelo método convencional. O método de coleta em meio líquido tem sido apontado como uma alternativa para melhorar a adequabilidade da amostra, diminuir o número de esfregaços insatisfatórios e aumentar a percentagem de diagnóstico de lesões de alto grau^{15, 16}. Todavia, uma revisão sistemática recente, que analisou a qualidade dos estudos que compararam o desempenho da citologia convencional com a citologia em meio líquido, demonstrou que não houve diferença na proporção de esfregaços insatisfatórios e na detecção de lesões de alto grau entre os dois métodos. O que foi demonstrado é que a maioria dos trabalhos avaliados apresentou alguma restrição metodológica¹⁷. As diferentes técnicas de citologia em meio líquido descrevem com detalhes os procedimentos de coleta, que normalmente são seguidos pelos coletadores¹⁸⁻²⁰. A experiência tem mostrado que os profissionais não coletam material para o exame citopatológico convencional com o mesmo rigor e cuidado que o fazem para o método em meio líquido. Essa suposição seria um importante viés quando o desempenho entre essas técnicas é comparado¹⁷.

Outros fatores que podem contribuir com as elevadas taxas de resultados falso-negativos são os erros de escrutínio e de interpretação, que são dependentes dos fatores relacionados com a técnica de coleta da amostra^{1,9}. É importante agregar a esta análise as características citomorfológicas, pois este estudo mostrou que presença de células atípicas com cromatina fina, membrana nuclear lisa e discreta hiperchromasia, associaram-se a maior frequência de resultados FN, na análise bivariada, em acordo com os achados de

Mitchell e Medley⁴ e O'Sullivan⁵, com exceção para análise da membrana nuclear que não foi uma variável abordada em ambos estudos. Na análise multivariada, apenas células atípicas com cromatina fina mostraram associação com resultados FN, o que se deve a fato de que são fatores que estão inter-relacionados²¹.

De fato, é esperado que essas alterações citomorfológicas mais discretas sejam menos freqüentemente detectadas no escrutínio de rotina^{4,5}. Na interpretação citológica, estas alterações estão associadas ao diagnóstico de células escamosas atípicas de significado indeterminado e de lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau. Assim, este erro tem menor impacto negativo devido ao alto percentual de regressão espontânea das lesões associadas^{22,23}. Por outro lado, esses diagnósticos limítrofes podem apresentar maior variabilidade entre observadores devido à interpretação subjetiva de seus aspectos qualitativos e quantitativos^{12, 24}.

Neste estudo a presença de células metaplásicas atuou como fator associado a menor freqüência de resultados falso-negativos, o que não foi observado para as células endocervicais. A presença desses dois tipos celulares é considerada um indicador importante da qualidade do esfregaço, razão pela qual é imperativa a coleta da amostra do canal cervical²⁵. Sabe-se que a presença de células metaplásicas atípicas no esfregaço citopatológico, principalmente as imaturas, está associada a alto valor preditivo para o diagnóstico de lesão intra-epitelial escamosa de alto grau²⁶. Este fato sugere que a zona de transformação e, em especial, a junção escamo-colunar deve ser objeto de especial atenção no momento da coleta, pois é a área do colo uterino onde se concentram as células metaplásicas. Este cuidado deve ser observado independentemente do método do exame citopatológico, convencional ou em meio líquido²⁷.

Em resumo, a maioria dos fatores associados à liberação de um resultado FN é muito dependente das condições de coleta, pois, em grande parte, a lesão pode não estar adequadamente representada no esfregaço, assim como fatores que obscurecem o mesmo, tais como quantidade excessiva de sangue e processo inflamatório intenso, prejudicando a análise.

Conforme o Sistema Bethesda e a recomendação do Ministério da Saúde estabeleceram, o laudo citopatológico do esfregaço do colo uterino deve conter informações sobre a adequabilidade da amostra, e a coleta deve ser repetida sempre que necessário^{7, 28}. Os laboratórios de citopatologia também poderiam, periodicamente, emitir um relatório consolidado dos exames citopatológicos de cada profissional, descrevendo aspectos relacionados à adequabilidade da amostra dos exames que coletaram. Indicadores de qualidade deveriam ser estabelecidos para orientar e indicar quando a técnica de coleta adotada precisar de revisão. Pouco pode ser feito no laboratório, em termos de redução de resultados falso-negativos, quando uma lesão presente no colo uterino não está adequadamente representada no esfregaço citopatológico.

Referências

1. Gary WG. Blinded Review of Papanicolaou Smears. *Cancer Cytopathology*. 2005;105(2):53-6.
2. Viscaino AP, Moreno V, Bosch FX, Muñoz N, Barrosdros XM, Borras J, et al. International trends in incidence of cervical cancer: II Squamous-cell carcinoma. *Int J Cancer*. 2000;86(3):429-35.
3. Hanselaar AGJM. Criteria for organized cervical screening programs. Special emphasis on the netherlands program. *Acta Cytol*. 2002; 46(4):619-29.
4. Mitchell H, Medley G. Differences between Papanicolaou smears with correct and incorrect diagnoses. *Cytopathology*. 1995; 6(6):368-75.
5. O'Sullivan JP, Chapman PA, Jenkins L, Smith R, Al-Nafussi A, Brett MT et al. A case-control study of true-positive versus false-negative cervical smears in women with cervical intraepithelial neoplasia (CIN) III. *Cytopathology*. 1998; 9(3):155-61.
6. Phadnis SV, Doshi JS, Ogunnaike OO, Padwick M, Sanusi FA. Inadequate cervical smear: what do we do? *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2005; 84(5):486-8.
7. Solomon D, Nayar, R. *Sistema Bethesda para Citopatologia Cervicovaginal*. 2nd ed. Rio de Janeiro: Revinter; 2005.
8. Mintzer M, Curtis P, Resnick C, Morrell D. The effect of the Quality of Papanicolaou Smears on the Detection of Cytologic Abnormalities. *Cancer Cytopathology*. 1999; 87(3):113-8.
9. DeMay RM. Common problems in Papanicolaou smear interpretation. *Arch Pathol Lab Med*. 1997;121(3): 229-38.

10. Bosch MMC, Rietveld SPEM, Boon ME. Characteristics of false negative smears tested in the normal screening situation. *Acta Cytol.* 1992;36(5): 711-6.
11. Amaral RG, Zeferino LC, Hardy E, Westin MC, Martinez EZ, Montemor EB. Quality assurance in cervical smears: 100% rapid rescreening vs. 10% randomrescreening. *Acta Cytol.* 2005;49(3):244-8.
12. Stoler MH, Schiffman M. Interobserver reproducibility of cervical cytologic and histologic interpretations: realistic estimates from the ASCUS-LSIL Triage Study. *JAMA.* 2001;285(11):1500-5.
13. Torres JC, Derchain SF, Gontijo RC, do Amaral Westin MC, Zeferino LC, Angelo-Andrade LA, et al. Atypical glandular cells: criteria to discriminate benign from neoplastic lesions and squamous from glandular neoplasia. *Cytopathology.* 2005;16(6):295-302.
14. Hosmer Jr.DW, Lemeshow S. *Applied logistic regression.* 2a ed., New York: John Wiley & Sons; 2000. 392p.
15. Fremont-Smith M, Marino J, Griffin B, Spencer L, Bolick D. Comparison of the SurePath Liquid-Based Papanicolaou Smear with the conventional Papanicolaou smear in a multisite direct-to-vial study. *Cancer Cytopathology.* 2004; 102(5):269-79.
16. Karnon J, Peters J, Platt J, Chilcott J, McGoogan E, Brewer N. Liquid-bases cytology in cervical screening: an updated rapid and systematic review and economic analysis. *Health Technol Assess.* 2004; 8(20):1-78.
17. 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-baded versus conventional cervical cytology: a systematic review. *Lancet.*2006; 367(9505): 122-32.

18. Longatto Filho A, Pereira SMM, Di Loreto C, Utagawa ML, Makabe S, Maeda US, 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(2):497-500.
19. Utagawa ML, Pereira SMM, Longatto Filho A, Martins CR, Aguiar LS, Pittoli JE et al. Citologia de base líquida associada à captura de híbridos para DNA-HPV pode otimizar a qualidade diagnóstica do método de Papanicolaou? *Rev. Inst. Adolfo Lutz*. 2004;63(5):100-3.
20. Pereira SMM, Utagawa ML, Pittoli JE, Aguiar LS, Maeda MYS, Longatto Filho A et al. Avaliação da celularidade citológica em preparados de base líquida. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2003; 62(3):35-9.
21. De May RM. *The art & Science of cytopathology exfoliative cytology*. Chicago: ASCP Press; 1996.
22. Östor AG. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. *Int J Gynecol Pathol*. 1993;12(2):186-92.
23. Moscicki AB, Shiboski S, Hills NK, Powell KJ, Jay N, Hanson EN, et al. Regression of low-grade squamous intra-epithelial lesions in young women. *Lancet*.2004;364:1678-83.
24. Confortini M, Carozzi F, Dala Palma P, Ghiringhello B, Parisio F, Prandi S, et al. Interlaboratory reproducibility of atypical squamous cells of undetermined significance report: a national survey. *Cytopathology*. 2003; 14(5):263-8. 25
25. Zeferino LC, Catharino JMR, Araújo MAS, Silva ACB, Vedoato SR, Tambascia JK, et al. Desempenho das amostras do canal endocervical e do fundo de saco no diagnóstico da neoplasia do colo uterino. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2000; 22(3):129-34.

26. Dufloth RM, Silva SM, Andrade LAL, Loreto CD, Munhoz D, Zeferino L. Nuclear alterations of the cells and atypical metaplastic cells in cervical smears are predictive criteria of high grade cervical intraepithelial neoplasia. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2005; 26(2):186-90.
27. Siebers AG, de Leeuw H, Verbeek AL, Hanselaar AG. Prevalence of squamous abnormalities in women with a recent smear without endocervical cells is lower as compared to women with smears with endocervical cells. *Cytopathology*. 2003; 14(2):58-65.
28. Brasil. Ministério da Saúde. Prevenção do Câncer do Colo do Útero. Manual Técnico para Laboratórios, Brasília, DF, 2002b. 19p.

Tabela 1- Análise de fatores relacionados à adequabilidade da amostra, padrão celular e critérios citomorfológicos com os resultados falso-negativos (FN) e verdadeiro-positivos (VP) dos esfregaços cervicais

	Grupo FN (n=100) (%)	Grupo VP (n=200) (%)	Total (n=300)	OR IC(95%) (Análise bivariada)
Adequabilidade da amostra				
Fixação				
Limitada	22,0	25,0	72	0,8 (0,5 - 1,5)
Satisfatório	78,0	75,0	228	
Citólise				
Presente	36,0	28,0	92	1,4 (0,9 - 2,4)
Ausente	64,0	72,0	208	
Processo inflamatório				
Presente	51,0	41,5	134	1,5 (0,9 - 2,4)
Ausente	49,0	58,5	166	
Sangue				
Presente	50,0	39,0	128	1,6 (1,0 - 2,5)
Ausente	50,0	61,0	172	
Degeneração				
Presente	24,0	19,0	62	1,3 (0,8 - 2,4)
Ausente	76,0	81,0	238	
Padrão celular				
Células endocervicais				
Presentes	85,0	89,0	263	0,7 (0,4 - 1,4)
Ausentes	15,0	11,0	37	
Células metaplásicas				
Presentes	55,0	65,5	186	0,6 (0,4 - 1,1)
Ausentes	45,0	34,5	114	
Número de células atípicas				
< 50	53,0	10,5	74	9,6 (5,3 - 17,5)
> 50	47,0	89,5	226	
Tamanho das células atípicas				
Células pequenas	13,0	10,0	33	1,3 (0,6 - 2,8)
Células grandes	87,0	90,0	267	
Apresentação celular				
Isoladas	62,0	31,0	124	3,6 (2,2 - 6,0)
Agupadas/sincício	38,0	69,0	176	
Distribuição celular				
Parte da lâmina	68,0	32,5	133	4,4 (2,6 - 7,4)
Por toda lâmina	32,0	67,5	167	
Critérios Citomorfológicos				
Distribuição da cromatina				
Irregular	5,0	4,5	14	1,1 (0,4 - 3,5)
Regular	95,0	95,5	286	
Aspecto da Cromatina				
Fina	80,0	48,0	176	4,2 (2,2 - 8,3)
Granular	20,0	52,0	124	
Membrana nuclear				
Lisa	58,0	33,0	124	2,8 (1,7 - 4,6)
Espessa/Irregular	42,0	67,0	176	
Hipercromasia				
Discreta	30,0	13,5	57	2,7 (1,5 - 5,0)
Moderada/Acentuada	70,0	86,5	243	
Relação núcleo/citoplasma				
Discreta	47,0	39,0	125	1,4 (0,9 - 2,3)
Moderada/Acentuada	53,0	61,0	175	

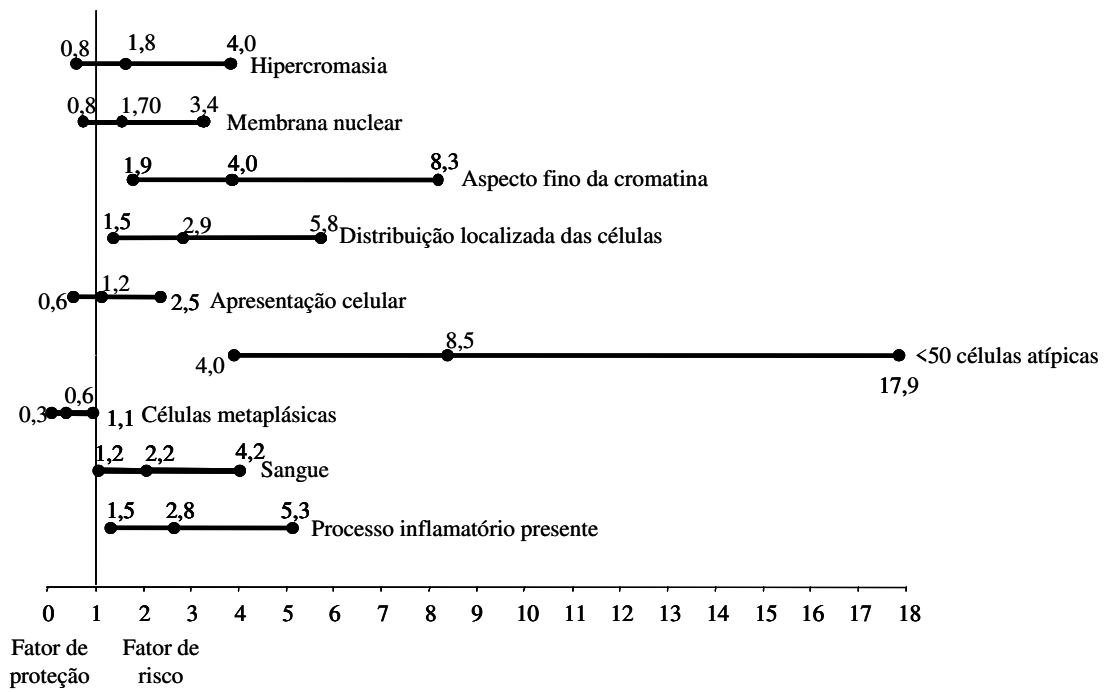


Figura 1 - Valores de *odds ratio*, e respectivos intervalos de confiança dos fatores relacionados à adequabilidade da amostra, padrão celular e critérios citomorfológicos, obtidos através de análise multivariada.

3.2. Artigo 2

Avaliação do desempenho dos citotécnicos através da revisão rápida dos esfregaços cervicais

Rosana Franco¹; Rita Goreti Amaral²; Eliana Borin Lopes Montemor¹; Maria Cristina do Amaral Westin¹; Sirlei Siani Morais¹; Luiz Carlos Zeferino¹

¹Faculdade de Ciências Médicas-Universidade Estadual de Campinas

²Faculdade de Farmácia-Universidade Federal de Goiás

Responsável pela correspondência:

Luiz Carlos Zeferino

Rua Alexander Fleming 101, Cidade Universitária “Zeferino Vaz”

CEP: 13083-881, Campinas-SP

Telefone: (19) 35217138; Fax: (19) 35218010

E-mail: zeferino@caism.unicamp.br

Resumo

Objetivos: Analisar o desempenho individual dos citotécnicos no escrutínio de rotina do exame citopatológico cervical, através da revisão rápida dos esfregaços negativos.

Métodos: Foram incluídos nesse estudo 62.785 esfregaços classificados como negativos no escrutínio de rotina e submetidos ao controle interno da qualidade do laboratório utilizando o método de revisão rápida. Durante essa revisão, os esfregaços suspeitos foram submetidos a uma revisão detalhada para a confirmação de alguma alteração e, posteriormente revisados pelos citopatologistas para a liberação do diagnóstico final. Para análise estatística, os citotécnicos foram agrupados em tercís, tendo como base as taxas de resultados falso-negativos que foram recalculadas para cada tercil e comparados através do teste de Kruskal-Wallis seguido de Mann-Whitney, devido a distribuição assimétrica dos dados.

Resultados: Foram detectados 269 esfregaços falso-negativos, sendo ASC-US e LSIL os diagnósticos mais prevalentes. Para o conjunto de todos os diagnósticos, a maior taxa de resultados falso-negativos atribuída a um citotécnico foi 8,3 vezes maior do que a menor taxa de resultados falso-negativos observada. Os citotécnicos foram agrupados em tercís de acordo com a faixa de resultados falso-negativos. Essas faixas foram definidas e analisadas para o conjunto de todos os diagnósticos, ASC-US e LSIL. As comparações entre as três faixas e duas a duas foram estatisticamente significantes para o conjunto de todos os diagnósticos, ASC-US e LSIL. **Conclusões:** As taxas de resultados falso-negativos variaram significativamente entre os citotécnicos e os diagnósticos mais frequentes dentre os exames com resultados falso-negativos foram ASC-US e LSIL.

Palavras-chave: Câncer cervical; Controle de qualidade; Falso-negativo; Exame citopatológico; Desempenho individual; Revisão rápida.

Abstract

Objectives: To analyze the performance of cytotechnologists during routine scrutiny of cervical cytopathology tests using the system of rapid review of negative smears.

Methods: A total of 62,785 smears classified as negative during routine scrutiny and submitted to the laboratory's internal quality control using the rapid review method were included in this study. During this review, the suspect smears were submitted to a detailed review to confirm any alteration and were later examined by cytopathologists prior to issuing a final diagnosis. For the statistical analysis, the cytotechnologists were grouped into tertiles based on the rates of false-negative results, which were recalculated for each tertile and compared using the Kruskal-Wallis test followed by the Mann-Whitney test, due to the asymmetric distribution of data. **Results:** Two hundred and sixty-nine false-negative smears were detected, ASC-US and LSIL being the most prevalent diagnoses. For the set of all the diagnoses together, the highest rate of false-negative results attributed to a cytotechnologist was 8.3 times greater than the lowest rate recorded in the study. The cytotechnologists were grouped into tertiles according to the range of false-negative results. These ranges were defined and analyzed for the set of all the diagnoses together, ASC-US and LSIL. The comparisons between the three ranges and between sets of two were statistically significant for the set of all the diagnoses together, ASC-US and LSIL. **Conclusions:** The rates of false-negative results varied significantly from one cytotechnologist to another and the most frequent diagnoses in tests with false-negative results were ASC-US and LSIL.

Key words: cervical cancer; quality control; false-negative; cytopathology testing; individual performance; rapid review.

Introdução

O câncer de colo uterino é uma importante causa de óbito na população feminina da América Latina, onde as taxas de incidência são também uma das mais altas do mundo¹. Em países onde os programas de rastreamento do câncer do colo uterino são bem estruturados observou-se, no entanto, redução significativa destas taxas^{2,3}. O exame citopatológico continua sendo o método preferencial para o rastreamento do câncer do colo uterino.

Todavia, os altos índices de resultados falso-negativos desses exames constituem um importante problema, o que tem levado os laboratórios a adotarem medidas de garantia de qualidade para reduzi-los a índices mais baixos^{1,2}. O desempenho desses exames depende de vários fatores que podem estar relacionados com o desempenho do citotécnico e com a qualidade do esfregaço³⁻⁵. O desempenho dos citotécnicos pode ser comprometido por vários fatores como psicológico, representado pela inabilidade em manter-se em estado de concentração alta por períodos longos, fisiológico como limitação da visão periférica, limitação do escrutínio completo da lâmina e fator físico como fadiga ou jornada excessiva de trabalho^{6,7}. Dentre as recomendações para minimizar a taxa de resultados falso-negativos, está a necessidade de implantação de um programa de educação continuada para os profissionais^{8,9}.

O método de controle de qualidade dos esfregaços citopatológicos que mais tem sido adotado no Brasil, inclusive pelo Ministério da Saúde, é a revisão de 10% dos exames^{10,11}. Todavia, na última década vários estudos têm mostrado que a revisão rápida dos esfregaços classificados como negativos no escrutínio de rotina é uma alternativa eficiente na detecção de resultados falso-negativos e proporciona um aumento na detecção das lesões precursoras do câncer do colo uterino¹²⁻¹⁶.

A análise do desempenho individual dos citotécnicos no escrutínio de rotina dos exames citopatológicos é assunto pouco analisado. Apenas recentemente tem sido demonstrado que outra importante vantagem da revisão rápida, em relação à revisão de 10%, é possibilitar a avaliação do desempenho do citotécnico que realiza o escrutínio de rotina dos exames citopatológicos, a partir da qual se pode realizar treinamentos específicos ou introduzir outras intervenções cabíveis^{17,18}. Portanto, o objetivo desse estudo foi analisar, em um mesmo laboratório, o desempenho dos citotécnicos no escrutínio de rotina do exame citopatológico do colo uterino, através da revisão rápida dos esfregaços negativos.

Métodos

Trata-se de um estudo de corte transversal descritivo realizado no Laboratório de Citopatologia do Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher (CAISM) da Unicamp, no período de fevereiro a dezembro de 2005. Os esfregaços incluídos no estudo foram provenientes de mulheres usuárias do Sistema Único de Saúde de Campinas e região, que se submeteram ao exame citopatológico para o rastreamento do câncer do colo uterino. Os esfregaços foram obtidos através da utilização do método convencional e foram classificados de acordo com o Sistema Bethesda 2001¹⁹.

Dos 26 citotécnicos do laboratório, 24 foram incluídos no estudo e no conjunto realizaram 62.785 exames, posteriormente submetidos à revisão rápida como sistemática de controle interno de qualidade. Dois citotécnicos não foram incluídos porque no período tiveram menos que 1000 esfregaços submetidos ao controle de qualidade.

A revisão rápida dos esfregaços é realizada, no laboratório de citopatologia, por citotécnicos previamente treinados, em 40% da totalidade dos esfregaços considerados

negativos pelo escrutínio de rotina. Cada um dos citotécnicos revisores recebeu, diariamente, 60 esfregaços, os quais foram revisados durante 1 minuto, através da utilização da técnica Whole²⁰. Na revisão rápida, os esfregaços identificados como suspeitos foram posteriormente submetidos a uma revisão detalhada, por um citotécnico sênior, para a confirmação de alguma alteração. Os esfregaços confirmados como alterados pelo citotécnicos seniores, foram adicionalmente revisados pelos citopatologistas, que definiram o diagnóstico final. Considerou-se como resultado falso-negativo qualquer anormalidade citológica confirmada pelos citopatologistas.

Os citotécnicos que participaram deste estudo assinaram termo de consentimento, sendo que nas análises os mesmos foram identificados apenas por um número atribuído a partir de uma seqüência aleatória^{21,22}. Para análise estatística, as taxas de resultados falso-negativos foram analisadas para o conjunto de todos os diagnósticos citopatológicos, somente para o diagnóstico de células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US) e somente para o diagnóstico de lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau (LSIL). Os citotécnicos foram agrupados em tercís, tendo como base suas taxas de resultados falso-negativos, que corresponderam a três faixas de desempenho: inferior; intermediária; superior. As taxas de resultados falso-negativos foram comparadas através dos testes não-paramétricos de Kruskal-Wallis e de Mann-Whitney devido à distribuição assimétrica dos dados. O nível de significância adotado foi de 5%²³.

Resultados

O método de revisão rápida classificou como suspeitos 663 esfregaços (dados não apresentados). Após as revisões dos citotécnicos seniors e dos citopatologistas, 269

foram considerados como positivos no diagnóstico final, sendo os diagnósticos mais prevalentes foram 2,60 por mil para ASC-US e 1,43 por mil para LSIL (Tabela 1).

A Tabela 2 mostra as taxas de resultados falso-negativos atribuídas aos citotécnicos. Observou-se que as taxas variaram de 1,16 a 9,63 (8,3 vezes maior) para o conjunto de todos os diagnósticos, de 0,78 a 5,36 (6,8 vezes maior) para diagnóstico de ASC-US e de 0 a 4,38 para LSIL.

Os citotécnicos foram agrupados em tercís de acordo com a faixa de resultados falso-negativos para o conjunto de todos os diagnósticos, ASC-US e LSIL. Todas as comparações entre as três faixas (Teste de Kruskal-Wallis) e duas a duas (Teste de Mann-Whitney) foram estatisticamente significantes para o conjunto de todos os diagnósticos, ASC-US e LSIL (Tabela 3).

Discussão

Os resultados desse estudo mostraram que as taxas de resultados falso-negativos de exames citopatológicos variaram significativamente entre os citotécnicos. Os diagnósticos mais freqüentes, detectados através da sistemática de controle de qualidade dentre os exames com resultados falso-negativos foram ASC-US e LSIL, sendo que as respectivas taxas de resultados falso-negativos também variaram significativamente entre os citotécnicos.

Os diagnósticos citológicos cervicais de ASC-US e LSIL são os mais freqüentes e apresentam limítrofes morfológicos tênues com a normalidade, de tal forma que a reprodutibilidade diagnóstica entre observadores é baixa^{24,25}. Esse fato justificaria a maior freqüência desses diagnósticos nos esfregaços classificados como falso-negativos, uma vez que alterações citomorfológicas mínimas podem não ser reconhecidas por um observador e podem ser classificadas como ASC-US ou LSIL por outro. Esse limite tênue dos

aspectos citomorfológicos também explicaria, pelo menos parcialmente, a diferença entre as taxas de resultados falso-negativos observadas entre os citotécnicos. Nessas condições, essa diferença na classificação diagnóstica pode ser considerada como resultado discordante, ou seja, um equívoco referente à interpretação de diagnósticos limítrofes.

De qualquer forma, essa observação impõe que se invista em educação continuada para que se obtenha maior homogeneidade dos critérios diagnósticos dentro de um mesmo laboratório.

Outros diagnósticos falso-negativos menos frequentes não apresentaram poder estatístico para detectar diferenças entre os citotécnicos, bem como deficiências individuais. Um para cada 400 exames revisados revelou diagnóstico de HSIL como resultado falso-negativo do escrutínio de rotina. Um em cada 700 revelou diagnóstico de células glandulares atípicas. Outros diagnósticos foram ainda menos frequentes. Um período mais longo de coleta e análise dos dados da revisão rápida permitirá uma avaliação objetiva sobre outros diagnósticos citológicos.

O diagnóstico falso-negativo de HSIL é considerado um resultado discrepante, pois se trata de uma diferença de dois graus, ou seja, normal *versus* HSIL. Assim, a observação de diagnósticos discordantes e discrepantes deve ser objeto de acompanhamento e impõe que se invista em educação continuada para que se obtenha maior homogeneidade dos critérios diagnósticos dentro de um mesmo laboratório. Deve-se também monitorar outros fatores relacionados ao esfregaço que estão associados a maior frequência de resultados falso negativos^{3,4}.

É importante destacar que a utilização da revisão rápida dos esfregaços considerados como negativos no escrutínio de rotina, viabilizou essa análise, o que não é possível quando o laboratório adota a revisão aleatória de 10% e/ou revisão com base em critérios

clínicos. Dentre as várias vantagens dessa metodologia como controle interno da qualidade, a revisão rápida dos esfregaços permite avaliar a totalidade ou um percentual alto dos exames negativos, a partir do qual se pode analisar o desempenho individual dos profissionais e a homogeneidade na interpretação dos critérios diagnósticos. Ainda que não tenha sido objetivo deste estudo, é possível inferir que através dessa sistemática de controle interno de qualidade é possível detectar, muito provavelmente, a variação do desempenho do mesmo profissional ao longo do tempo, que pode ocorrer por razões pessoais, e pode ser analisada objetivamente através dessa metodologia. Detectar precocemente essas variações permite adotar medidas preventivas em benefício da melhor qualidade do exame citopatológico na rotina do laboratório.

Ainda, a variação do desempenho dos citotécnicos tem sido atribuída a diversos fatores. A característica do trabalho desses profissionais requer, entre outros elementos, concentração, experiência e análise meticulosa das características morfológicas das células do esfregaço. O estresse físico e mental hipoteticamente tende a reduzir o desempenho à medida que compromete a concentração⁷. Também não foi objetivo deste estudo analisar as razões individuais que poderiam estar associadas com a variação observada no desempenho dos citotécnicos, mas os resultados obtidos estimulam que se explore esse conhecimento e essa seria a maior contribuição deste estudo.

Referências Bibliográficas:

1. Manrinque EJC, Amaral RG, Souza NLA, Tavares SBN, Albuquerque ZBP, Zeferino LC. Evaluation of 100% rapid rescreening of negative cervical smears as a quality assurance measure. *Cytopathology* 2006; 17:116-120.
2. Djemli A, Khetani K, Auger M. Rapid prescreening of Papanicolaou smears – A practical and efficient quality control strategy. *Cancer Cytopathology* 2006; 108:21-26.
3. Mitchell H, Medley G. Differences between Papanicolaou smears with correct and incorrect diagnoses. *Cytopathology* 1995; 6(6):368-75.
4. De May, R. Common problems in Papanicolaou smears interpretation. *Arch Pathol Lab Med* 1997; 121: 229-38
5. Eluf-Neto J, Nascimento CMR. Cervical câncer in Latina America. *Semin Oncol* 2001; 28:188-97.
6. Davey DD, McGoogan E, Somrak TM, Allen KA, Beccati D, Cramer SF, et al. Competency assessment and proficiency testing. *Acta Cytol* 2000; 44:939-43.
7. Gary WG. Blinded Review of Papanicolaou Smears. *Cancer Cytopathology* 2005; 105(2):53-6.
8. Mody, DR, Davey DD, Branca M, et al. Quality Assurance and risk reduction guidelines. *Acta Cytol* 2000; 44: 496-507.
9. Doornewaard H, Seijp H, WoudtJMC, et al. Negative cervical smears before NIC3/carcinoma. Reevaluation with the PAPNET testing system. *Acta Cytol* 1997; 41:74-8.

10. Clinical Laboratory Improvement amendments of 1988 (public law 100578). Fed Reg. 1992;57:493-1257.
11. Brasil. Ministério da Saúde. Prevenção do Câncer do Colo do Útero. Manual Técnico para Laboratórios. Rio de Janeiro: INCA; 2002b. 90p.
12. American Society of Cytopathology. Cervical Cytology Practice Guidelines. Acta Cytol 2001; 45:201-6.
13. Amaral RG, Zeferino LC, Hardy E, Westin, MCA, Martinez EZ, Montemor EBL. Quality assurance in cervical smears: 100% rapid rescreening versus 10% random rescreening. Acta Cytol 2005; 49:244-8.
14. Dudding N. Rapid rescreening of cervical smears: an improved method of quality control. Cytopathology 1995; 6:95-9.
15. Dudding N, Hewer E, Lancucki L, Rice S. Rapid screening: a study comparative. Cytopathology 2001;12:235-48.
16. Arbyn M. Detection of false negative pap smears by rapid reviewing. Acta Cytol 2000; 44:497-57.
17. Michelow P, Mckee G, Hlongwane F. Rapid rescreening of cervical smears as a quality control method in a high-risk population. Cytopathology 2006; 17:110-115.
18. Pajtler M, Audy-Jurkovic S, Skopljanac-Macina L, Antulov J, Barisic A, Milicic-Juhas V. Rapid cervicovaginal smear screening: method of quality control and assessing individual cytotechnologist performance. Cytopathology 2006; 17:121-6.
19. Solomon D, Nayar R. The Bethesda system for reporting cervical cytology, 2nd edn. New York: Springer-Verlag; 2004.

20. Montemor EBL, Roteli-Martins CM, Longatto AF, Zeferino LC, Amaral RG, Carvasan GAF, et al. Whole, Turret and Step cytological techniques in the cervical cancer screening. Diagnostic Cytopathology (in press)
21. Declaração de Helsinque II: Sobre os princípios éticos para pesquisa em seres humanos. Edimburgo, Escócia, 2000. Disponível em:
<<http://www.ibemol.com.br/declarações/helsinque>>. Acesso em 7 de outubro de 2005.
22. Brasil. Ministério da Saúde, Conselho Nacional de Saúde. Resolução n 196/96 sobre pesquisas envolvendo seres humanos. Inf. Epidm. do SUS 1996, v.2.
23. Hosmer Jr.DW, Lemeshow S. Applied logistic regression. 2a ed., New York: John Wiley & Sons; 2000. 392p.
24. Stoler MH, Schiffman M. Interobserver reproducibility of cervical cytologic and histologic interpretations: realistic estimates from the ASCUS-LSIL Triage Study.JAMA 2001;285(11):1500-5.
25. Confortini M, Carozzi F, Dala Palma P, Ghiringhello B, Parisio F, Prandi S, et al. Interlaboratory reproducibility of atypical squamous cells of undetermined significance report: a national survey. Cytophatology 2003; 14(5):263-8.

Tabela 1 - Distribuição e frequência dos resultados citopatológicos dos exames falso-negativos

Resultado citopatológico	n	Distribuição percentual	Frequência por mil
ASC-US	163	60,5%	2,60
ASC-H	04	1,4%	0,06
LSIL	90	33,4	1,43
HSIL	07	2,5	0,11
Ca Invasor	01	0,4	-
AG	04	1,4	0,06
AIS	01	0,4	-
TOTAL	269	100%	4,28

Tabela 2- Taxas de resultados falso-negativos atribuídas aos citotécnicos, para o conjunto de todos os diagnósticos, ASC-US e NIC1

Citotécnicos	FN (%) Todos os diagnósticos	FN (%) ASC-US	FN (%) NIC 1
1	<u>1,16</u>	<u>0,78</u>	0,39
2	1,99	1,59	0,20
3	2,08	0,83	1,25
4	2,13	1,28	0,85
5	2,15	2,15	<u>0,00</u>
6	2,29	1,83	0,00
7	2,40	1,44	0,00
8	2,51	1,25	0,94
9	2,77	2,22	0,55
10	3,01	1,51	1,13
11	3,11	2,07	0,69
12	3,44	1,37	1,72
13	4,13	2,65	1,47
14	4,68	2,08	2,60
15	4,83	2,76	1,72
16	5,36	<u>5,36</u>	0,00
17	6,40	4,27	1,60
18	6,58	4,78	1,20
19	6,62	4,14	2,48
20	7,31	3,25	4,06
21	7,73	4,51	3,22
22	7,92	4,62	2,64
23	7,98	4,99	2,99
24	<u>9,63</u>	4,38	<u>4,38</u>

A seqüência dos citotécnicos seguiu a ordem crescente das taxas de resultados falso-negativos para o conjunto de todos os diagnósticos.

Tabela 3 - Desempenho dos citotécnicos agrupados em tercís de acordo com a faixa de resultados falso-negativos

Desempenho dos citotécnicos	Número de citotécnicos	Mediana	Três faixas (p)	Inferior X superior (p)	Inferior X Intermediária (p)	Intermediária X Superior (p)
Conjunto de todos os diagnósticos			< 0.0001	0.0066	0.0035	0.0050
FN ≤ 2.51 Faixa inferior	8	2.14				
2.51 < FN ≤ 5.36 Faixa intermediária	7	3.44				
FN > 5.36 Faixa superior	9	7.31				
ASC-US						
FN ≤ 1,59 Faixa inferior	7	1,28	< 0,0001	0,0050	0,0066	0,0035
1,59 < FN ≤ 3,25 Faixa Intermediária	9	2,15				
FN > 3,25 Faixa Superior	8	4,56				
LSIL						
FN ≤ 0,69 Faixa Inferior	7	0,00	< 0,0001	0,0048	0,0063	0,0035
0,69 < FN ≤ 1,72 Faixa intermediária	9	1,20				
FN > 1,72 Faixa Superior	8	2,82				

FN: resultados falso-negativos

4. Conclusões

- Através da análise multivariada verificou-se que as presenças de sangue e processo inflamatório associaram-se de maneira independente, com maior risco para resultados falso-negativos.
- Presença de células atípicas com cromatina fina, membrana nuclear lisa e discreta hipercromasia associaram-se a maior frequência de resultados FN, na análise bivariada. Na análise multivariada, apenas células atípicas com cromatina fina mostraram associação com resultados FN, o que se deve ao fato de que são fatores que estão inter-relacionados.
- Presença de células atípicas em pequeno número, isoladas, presentes apenas em parte do esfregaço, apresentaram resultados falso-negativos no escrutínio citológico. A presença de células metaplásicas atuou como fator associado a menor frequência de resultados falso-negativos, o que não foi observado para as células endocervicais.

- As taxas de resultados falso-negativos de exames citopatológicos variaram significativamente entre os citotécnicos. Os diagnósticos mais freqüentes dentre os exames com resultados falso-negativos foram ASC-US e LSIL, sendo que as respectivas taxas variaram significativamente entre os citotécnicos.

5. Referências Bibliográficas

Amaral RG, Zeferino LC, Hardy E, Westin, MCA, Martinez EZ, Montemor EBL. Quality assurance in cervical smears: 100% rapid rescreening versus 10% random rescreening. *Acta Cytol* 2005; 49:244-8.

American Society of Cytopathology. Cervical Cytology Practice Guidelines. *Acta Cytol* 2001; 45:201-6.

Anderson GH, Flynn KJ, Hickey LA, Leriche JC, Maticic JP, Suen KCA. Comprehensive internal quality control system for a large cytology laboratory. *Acta Cytol* 1987; 31:895-9.

Arbyn M. Detection of false negative pap smears by rapid reviewing. *Acta Cytol* 2000; 44:497-507.

Baker RW, O'Sullivan JP, Hanley J, Coleman DV. The characteristics of false negative cervical smears-implications for the UK cervical cancer screening programme. *J Clin Pathol* 1999; 52:358-62.

Bosch MMC, Rietveld SPEM, Boon ME. Characteristics of false negative smears. *Acta Cytol* 1992; 36:711-6.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Assistência à Saúde. Instituto Nacional do Câncer – INCA. Estimativa 2006: Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA; 2006. 94 p.

Brasil. Ministério da Saúde, Conselho Nacional de Saúde. Resolução n 196/96 sobre pesquisas envolvendo seres humanos. **Inf. Epidm. do SUS**, 1996, v.2.

Brasil. Ministério da Saúde. Prevenção do Câncer do Colo do Útero. Manual Técnico para Laboratórios. Rio de Janeiro: INCA; 2002b. 90p.

Buntinx F, Brouwers M. Relation between sampling device and detection of abnormality in cervical smears: a meta-analysis of randomized and quasi-randomized studies. *Br Med J* 1996; 313:1285-90.

Center for Disease Control. Regulations for Implementing the Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: A summary. *MMWR*; 1992. 17p.

Clinical Laboratory Improvement amendments of 1988 (public law 100578). *Fed Reg.* 1992;57:493-1257.

Confortini M, Carozzi F, Dala Palma P, Ghiringhello B, Parisio F, Prandi S, et al. Interlaboratory reproducibility of atypical squamous cells of undetermined significance report: a national survey. *Cytophatology*. 2003; 14(5):263-8.

Davey DD, McGoogan E, Somrak TM, Allen KA, Beccati D, Cramer SF, et al. Competency assessment and proficiency testing. *Acta Cytol* 2000; 44:939-43.

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. *Lancet* 2006; 367(9505): 122-32.

Declaração de Helsinque II: Sobre os princípios éticos para pesquisa em seres humanos. Edimburgo, Escócia, 2000. Disponível em:
<<http://www.ibemol.com.br/declarações/helsinque>>. Acesso em 7 de outubro de 2005.

De May RM. Common problems in Papanicolaou smears interpretation. *Arch Pathol Lab Med* 1997; 121: 229-38.

De May RM. The art & Science of cytopathology exfoliative cytology. Chicago: ASCP Press; 1996.

Djemli A, Khetani K, Auger M. Rapid prescreening of Papanicolaou smears. American Cancer Society 2005; 108:21-6.

Doornewaard H, Seijp H, WoudtJMC, et al. Negative cervical smears before NIC3/carcinoma. Reevaluation with the PAPNET testing system. Acta Cytol 1997; 41:74-8.

Ducatman BS, Ducatman AM. How expert are the experts? Implications for proficiency testing in cervicovaginal cytology. Arch Pathol Lab Med 2005; 129:604-5.

Dudding N. Rapid rescreening of cervical smears: an improved method of quality control. Cytopathology 1995; 6:95-9.

Dudding N, Hewer E, Lancucki L, Rice S. Rapid screening: a study comparative. Cytopathology 2001;12:235-48.

Dufloth RM, Silva SM, Andrade LAL, Loreto CD, Munhoz D, Zeferino L. Nuclear alterations of the cells and atypical metaplastic cells in cervical smears are predictive criteria of high grade cervical intraepithelial neoplasia. Eur J Gynaecol Oncol 2005; 26(2):186-90.

Elovainio L, Nieminen P, Miller AB. Impact of cancer screening on women's health. Int J Gynecol Obstet 1997; 58:137-47.

Eluf-Neto J, Nascimento CMR. Cervical câncer in Latina America. Semin Oncol 2001; 28:188-97.

Faraker CA, Boxer ME. Rapid review (partial rescreening) of cervical cytology. Four years experience and quality assurance implications. J Clin Pathol 1996; 49:587-91.

Fremont-Smith M, Marino J, Griffin B, Spencer L, Bolick D. Comparison of the SurePath Liquid-Based Papanicolaou Smear with the conventional Papanicolaou smear in a multisite direct-to-vial study. *Cancer Cytopathology*. 2004; 102(5):269-79.

Gary WG. Blinded Review of Papanicolaou Smears. *Cancer Cytopathology* 2005; 105(2):53-6.

Hanselaar AGJM. Criteria for organized cervical screening programs. Special emphasis on the netherlands program. *Acta Cytol* 2002; 46(4): 619-29.

Hosmer Jr.DW, Lemeshow S. *Applied logistic regression*. 2a ed., New York: JohnWiley & Sons; 2000. 392p.

Jordan SW. Great expectations:citology provisions of CLIA 88 and role of professional societies. *Cytopathol Ann* 1992; 4:253-7.

Karnon J, Peters J, Platt J, Chilcott J, McGoogan E, Brewer N. Liquid-bases cytology in cervical screening: an updated rapid and systematic review and economic analysis. *Health Technol Assess*. 2004; 8(20):1-78.

Longatto Filho A, Pereira SMM, Di Loreto C, Utagawa ML, Makabe S, Maeda US, et al. DCS liquid-based system is more effective than convencional smears to diagnosis of cervical lesions: Study in high-risk population with biopsy-based confirmation. *Gynecol Oncol* 2005; 97(2):497-500.

Manrique EJC, Amaral RG, Souza NLA, Tavares SBN, Albuquerque ZBP, Zeferino LC. Evaluation of 100% rapid rescreening of negative cervical smears as a quality assurance measure. *Cytopathology* 2006; 17:116-20.

Melamed MR, Flehinger BJ. Rescreening for quality control in. *Acta Cytol* 1996;40:12-3.

Michelow P, Mckee G, Hlongwane F. Rapid rescreening of cervical smears as a quality control method in a high-risk population. *Cytopathology* 2006; 17:110-5.

Mintzer M, Curtis P, Resnick C, Morrell D. The effect of the Quality of Papanicolaou Smears on the Detection of Cytologic Abnormalities. *Cancer Cytopathology* 1999; 87(3):113-8.

Mitchell H, Medley G. Differences between Papanicolaou smears with correct and incorrect diagnoses. *Cytopathology* 1995; 6:368-75.

Mody DR, Davey DD, Branca M, Raab SS, Schenck UG, Stanley MW. Quality Assurance and Risk reduction Guidelines. *Acta Cytol* 2000; 44: 496-507.

Montemor EBL, Roteli-Martins CM, Longatto AF, Zeferino LC, Amaral RG, Carvasan GAF, et al. Whole, Turret and Step cytological techniques in the cervical cancer screening. *Diagnostic Cytopathology* (in press)

Moscicki AB, Shiboski S, Hills NK, Powell KJ, Jay N, Hanson EN, et al. Regression of low-grade squamous intra-epithelial lesions in young women. *Lancet* 2004; 364:1678-83.

Östor A G Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. *Int J Gynecol Pathol* 1993; 12:186-92.

O'Sullivan JP, Chapman PA, Jenkins L, Smith R, Al-Nafussi A, Brett MT, et al. A case-control study of true-positive versus false-negative cervical smears in women with cervical intraepithelial neoplasia (CIN) III. *Cytopathology* 1998; 9:155-61.

Pajtler M, Audy-Jurkovic S, Skopljanac-Macina L, Antulov J, Barisic A, Milicic-Juhas V. Rapid cervicovaginal smear screening: method of quality control and assessing individual cytotechnologist performance. *Cytopathology* 2006; 17:121-6.

Pereira SMM, Utagawa ML, Pittoli JE, Aguiar LS, Maeda MYS, Longatto Filho A et al. Avaliação da celularidade citológica em preparados de base líquida. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2003; 62(3):35-9.

Phadnis SV, Doshi JS, Ogunnaike OO, Padwick M, Sanusi FA. Inadequate cervical smear: what do we do? *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2005; 84(5):486-8.

Saslow D, Runowicz CD, Solomon D, Moscicki AB, Smith RA, Eyre HJ, et al. American cancer society guideline for the early detection of cervical neoplasia and cancer. *CA Cancer J Clin* 2002; 52:342-62.

Shirata NK, Pereira SMM & Cavaliere MJ. Celularidade dos esfregaços cervicovaginais: importância em programas de garantia de qualidade. *J Bras Ginec* 1998; 108:63-6.

Siebers AG, de Leeuw H, Verbeek AL, Hanselaar AG. Prevalence of squamous abnormalities in women with a recent smear without endocervical cells is lower as compared to women with smears with endocervical cells. *Cytopathology* 2003; 14(2):58-65.

Slater DN, Sensitivity of primary screening by rapid review – to act or not to act on these results, that is the question. *Cytopathology* 1998; 9:77-83.

Solomon D, Nayar R. Sistema Bethesda para Citopatologia Cervicovaginal. Revinter; 2005. 192 p.

Stoler MH, Schiffman M. Interobserver reproducibility of cervical cytologic and histologic interpretations: realistic estimates from the ASCUS-LSIL Triage Study. *JAMA.* 2001;285(11):1500-5.

Taylor V, Frost F. Cervical cytology quality assurance in Washington state. *Acta Cytol* 1992; 36: 246-50.

Torres JC, Derchain SF, Gontijo RC, do Amaral Westin MC, Zeferino LC, Angelo-Andrade LA, et al. Atypical glandular cells: criteria to discriminate benign from neoplastic lesions and squamous from glandular neoplasia. *Cytopathology.* 2005;16(6):295-302.

Utagawa ML, Pereira SMM, Longatto Filho A, Martins CR, Aguiar LS, Pittoli JE et al. Citologia de base líquida associada à captura de híbridos para DNA-HPV pode otimizar a qualidade diagnóstica do método de Papanicolaou? Rev. Inst. Adolfo Lutz. 2004;63(5):100-3.

Viscaino AP, Moreno V, Bosch FX, Muñoz N, Barros-dros XM, Borrás J, et al. International trends in incidence of cervical câncer: II Squamous-cell carcinoma. Int J Cancer 2000; 86: 429-435.

Zeferino LC, Costa AM, Panneta K, Neves-Jorge JP. Screening da neoplasia cervical. Rev Bras Ginecol Obstet 1996; 106:415-9.

Zeferino LC, Catharino JMR, Araújo MAS, Silva ACB, Vedoato SR, Tambascia JK, et al. Desempenho das amostras do canal endocervical e do fundo de saco no diagnóstico da neoplasia do colo uterino. Rev Bras Ginecol Obstet 2000; 22:129-34.

6. Bibliografia de Normatizações

FRANÇA, J.L.; BORGES, S.M.; VASCONCELLOS, A.C.; MAGALHÃES, M.H.A.
– **Manual para normatização de publicações técnico-científicas**. 4^a ed.,
Editora UFMG, Belo Horizonte, 1998. 213p.

Normas e procedimentos para publicação de dissertações e teses. Faculdade de Ciências Médicas, Unicamp. Ed. SAD – Deliberação CCPG-001/98 (alterada 2005).

7. Anexos

7.1. Anexo 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TÍTULO DO PROJETO: “FATORES ASSOCIADOS A RESULTADOS FALSO-NEGATIVOS DE EXAMES CITOPATOLÓGICOS”

Pesquisador Responsável : Rosana Franco

Telefone para contato : (19) 3213 6642 / 9113 3170

Orientador: Dr. Luiz Carlos Zeferino

Telefone para contato : (19) 3521- 9516

Co-orientador: Dra. Rita Goreti Amaral


Telefone para contato: (62) 209 6044

Você está sendo convidado (a) para participar, como voluntário, em uma pesquisa. Após ser esclarecido (a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável, Em caso de recusa você não será penalizado de forma alguma. Em caso de dúvida você pode procurar o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Campinas: 3521-8936.

O objetivo do estudo refere-se à pesquisa de fatores associados à liberação de resultados falso-negativos dos exames citopatológicos. O estudo constará de duas etapas, sendo a primeira, a avaliação dos esfregaços falso-negativos e verdadeiro-positivos relacionados. A segunda parte se baseará em informações fornecidas pelos citotécnicos e citologistas, como carga horária semanal e experiência profissional. Também será utilizado um instrumento para avaliação do Mapa de Tendência Comportamental dos profissionais envolvidos, através do Sistema *Quantum Assessment*. O instrumento utilizado será um questionário, composto por duas questões a serem respondidas pelos citotécnicos e citologistas. A finalidade do questionário será a obtenção de dados sobre estilo comportamental, expectativas sobre seu comportamento no trabalho atual, energia, graus de flexibilidade e adaptação, motivadores e estressores principais. A aplicação do mesmo será realizada por empresa terceirizada, ocorrerá dentro das dependências do laboratório de citopatologia do CAISM e de forma sigilosa e individual, garantindo desta maneira o respeito ao anonimato. Todas as informações obtidas com o teste serão do conhecimento apenas do pesquisador, sendo que cada um dos profissionais será identificado por um número, a partir do qual não constarão seus nomes nas fichas de coleta de dados. Portanto, estas informações não serão utilizadas para avaliação e/ou promoção do profissional pelo CAISM, desta forma, inexistem situações de prejuízo ou desconforto decorrentes da pesquisa.

Fica declarado que o profissional que assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido terá direito, caso queira, de retirar-se da pesquisa a qualquer tempo.

7.2. Anexo 2 – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa

 **FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS**
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
☒ Caixa Postal 6111, 13083-970 Campinas, SP
☎ (0_19) 3788-8936
FAX (0_19) 3788-8925
🌐 www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html
✉ cep@fcm.unicamp.br

CEP, 15/02/05.
(Grupo III)

PARECER PROJETO: Nº 722/2004

I-IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: “FATORES ASSOCIADOS A RESULTADOS FALSO-NEGATIVOS DE EXAMES CITOPATOLÓGICOS”
PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Rosana Franco
INSTITUIÇÃO: CAISM/UNICAMP
APRESENTAÇÃO AO CEP: 17/12/2004
APRESENTAR RELATÓRIO EM: 15/02/06

II - OBJETIVOS

Verificar se ,no escrutínio de rotina no exame de Papanicolaou, fatores relacionados com a qualidade da amostra, quantidade e tipo de células atípicas e características do profissional estão associados a resultados falso-negativos dos exames citopatológicosO estudo pretende identificar fatores relacionados à liberação de resultados falso-negativos para permitir traçar estratégias mais eficientes para a sua redução, dando maior segurança às mulheres.

III - SUMÁRIO

O estudo terá um componente do tipo caso-controle para avaliar os objetivos específicos relacionados ao esfregaço patológico e outro do tipo corte transversal para a avaliação em relação aos profissionais. Os esfregaços a serem incluídos no estudo serão de mulheres usuárias do SUS da região de Campinas que se submeterem ao exame citopatológico (Papanicolaou) nos postos de saúde. Os profissionais avaliados serão 25 citotécnicos que trabalham no Laboratório de Citopatologia do CAISM, cuja rotina não será alterada por este estudo. Os critérios de inclusão e exclusão dos esfregaços estão relacionados à qualidade classificada pelo escrutínio de rotina. A avaliação do perfil comportamental será realizada por empresa terceirizada, por meio de - questionário específico, após a assinatura de Termo de Compromisso Livre e Esclarecido pelos citologistas e citotécnicos

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

O protocolo de pesquisa está bem definido, os critérios de inclusão e exclusão estão adequadamente especificados. Há solicitação para a dispensa de aplicação do TCLE para as mulheres envolvidas na pesquisa, com o argumento de que não haverá qualquer contato entre elas e os pesquisadores e de que sua identificação constará apenas na ficha de coleta de dados, respeitando-se a rotina da instituição de origem quanto à abordagem diagnóstica e terapêutica

- 1 -

adotada. Como a pesquisa utilizará os esfregaços do Laboratório de Citopatologia do CAISM em sua rotina normal, julgo não haver qualquer problema em aceitar a dispensa do TCLE para as mulheres usuárias do serviço.

V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e complementares, assim como todos os anexos incluídos na Pesquisa, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa supracitado.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.1.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade do regime oferecido a um dos grupos de pesquisa (Item V.3.).

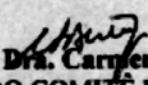
O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, Item III.2.e)

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos na Resolução CNS-MS 196/96.

VII - DATA DA REUNIÃO

Homologado na II Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 15 de fevereiro de 2005.


Profa. Dra. Caruena Silvia Bertuzzo
PRESIDENTE DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM / UNICAMP

7.3. Anexo 3 – Carta comunicado de aceite do artigo

“Fatores associados a resultados falso-negativos de exames citopatológicos do colo uterino” para publicação

**Federação Brasileira das
Sociedades de Ginecologia e Obstetrícia**

FEBRASGO

Editoria Executiva - RBGO
Av. Bandeirantes, 3900 - 8º andar
Ribeirão Preto - SP – CEP: 14049-900
Tel.: (16) 602-2803 Fax.: (16) 633-0946

Secretaria Executiva
Av. das Américas, 8445 sala 711
Rio de Janeiro - RJ – CEP: 22793-081
Tel.: (21) 2487-6336 Fax.: (21) 2429-5133



Ribeirão Preto, 3 de outubro de 2006

Ilma. Prof. Dr.
Luiz Carlos Zeferino,

Prezado doutor,

Recebemos a versão revisada do trabalho “Fatores associados a resultados falso-negativos de exames citopatológicos do colo uterino”, protocolado sob nº 2853.

Informamos que o mesmo foi aceito para publicação, devendo ser impresso no fascículo 8 do Volume 28 da Revista Brasileira de Ginecologia Obstetrícia.

Atenciosamente,

Jurandyr Moreira de Andrade

Editor Científico da RBGO