

ANA CLÁUDIA GUEDES

**COMPARAÇÃO DO DESEMPENHO DO
ESFREGAÇO CITOLÓGICO CERVICOVAGINAL
CONVENCIONAL COM ESFREGAÇO COLHIDO
EM MEIO LÍQUIDO EM MULHERES COM ALTO
RISCO PARA NEOPLASIA DE COLO UTERINO**

Dissertação de Mestrado

**ORIENTADOR: Prof. Dr. LUIZ CARLOS ZEFERINO
CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. ADHEMAR LONGATTO FILHO**

**UNICAMP
2002**

ANA CLÁUDIA GUEDES

**COMPARAÇÃO DO DESEMPENHO DO
ESFREGAÇO CITOLÓGICO CERVICOVAGINAL
CONVENCIONAL COM ESFREGAÇO COLHIDO
EM MEIO LÍQUIDO EM MULHERES COM ALTO
RISCO PARA NEOPLASIA DE 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
Tocoginecologia

ORIENTADOR: Prof. Dr. LUIZ CARLOS ZEFERINO
CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. ADHEMAR LONGATTO FILHO

UNICAMP
2002

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

G935c Guedes, Ana Cláudia
Comparação do desempenho do esfregaço citológico cervicovaginal convencional com esfregaço colhido em meio líquido em mulheres com alto risco para neoplasia do colo uterino / Ana Cláudia Guedes. Campinas, SP : [s.n.], 2002.

Orientador: Luiz Carlos Zeferino, Adhemar Longatto Filho
Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Colo uterino-Doenças-Prevenção. 2. Câncer diagnóstico. 3. Colposcopia. 4. Citologia. I. Luiz Carlos Zeferino. II. Adhemar Longatto Filho. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aluna: ANA CLÁUDIA GUEDES

Orientador: Prof. Dr. LUIZ CARLOS ZEFERINO

Co-Orientador: Prof. Dr. ADHEMAR LONGATTO FILHO

Membros:

1.

2.

3.

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

Data: 22/02/2002

Tenha ânimo forte

Não desista. Persista.

*Imite a corrente da água que escoar sem cessar,
apesar dos empecilhos da marcha.*

Agora, hoje, ou amanhã, sorria sempre.

*Sorrindo, não há mágoa que possa subsistir no
seu coração.*

Esforce-se.

*Recorde que a vitória, para ser verdadeira,
precisa ter sido difícil.*

Ama o mais que possa.

*Com amor, será mais fácil vencer as
dificuldades.*

*Lutar, continuar sempre, é saber desfrutar o
verdadeiro valor da vida.*

Lourival Lopes

Dedico este trabalho...

*... à minha mãe Mércia e ao meu pai Eduardo,
pelo amor, compreensão, apoio incondicional, sempre.
Obrigada por estarem em todas as batalhas ao meu lado,
sempre ajudando-me a vencer.*

*... à minha querida avó Carolina (in memoriam),
pelo incentivo, pelo carinho e
pelo orgulho que sempre teve de mim.*

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Luiz Carlos Zeferino, não só pela orientação deste trabalho, mas pela amizade e colaboração preciosa na realização do mesmo.

Ao Prof. Dr. Adhemar Longatto Filho pela co-orientação deste trabalho e pela dedicação na realização dos exames citológicos.

À Prof^a Dra. Liliana A. L. Andrade pela dedicação e amizade em todos os momentos.

À Prof^a Dra. Sylvia Michelina Fernandes Brenna, minha “irmã mais velha”, por ter me aberto os caminhos e ter continuado comigo por mais difíceis que fossem, ajudando-me com carinho, amizade, paciência e colaboração em todos os momentos nos quais mais eu precisei.

À Prof^a Dra. Cecília M. Rotelli Martins pela oportunidade, confiança e apoio na realização e avaliação deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Celso di Loreto pelo auxílio valioso na leitura das lâminas.

À Diretoria Médica e Científica do HMLMB pelo apoio, incentivo e oportunidade.

Ao amigo Dr. Felipe Lazar Júnior, pela amizade, companheirismo e ajuda durante a pós-graduação.

Às amigas Dra. Cláudia M. R. Serafim Giaccio e Dra. Maria Cristina da Silva Lazar pelo carinho, amizade e compreensão em todos os momentos.

À amiga Prof^a Dra. Márcia Maria Auxiliadora de Aquino pela amizade e incentivo.

À Prof^a Dra. Sophie Derchain e à Prof^a Dra. Kazue Panetta por permitirem minha atuação no Ambulatório de Patologia Cervical do CAISM.

À amiga Dra. Iara Baldacini pela colaboração e incentivo.

Às enfermeiras e auxiliares de enfermagem dos Ambulatórios do HMLMB pelo apoio e profissionalismo.

À secretária Olivia, do Centro de Pesquisa do HMLMB, pela amizade e colaboração sempre.

Ao Serviço de Arquivo Médico do HMLMB, pela atenção e colaboração.

Ao Serviço de Agendamento do Ambulatório do HMLMB pela amizade, apoio e respeito sempre.

Ao Serviço de Arquivo e ao Serviço de Agendamento do CAISM.

Às funcionárias do Laboratório do HMLMB pela atenção e competência no encaminhamento dos exames.

Aos profissionais do Instituto Adolfo Lutz, Maria Lúcia Utagawa, Sônia Maria Miranda Pereira e Marina Yoshiê Sakamoto Maedo pela valiosa colaboração e competência na leitura das lâminas.

À Janaína Erika Pittoli, pela dedicação, simpatia e disponibilidade que sempre demonstrou e pela competência no processamento da técnica de citologia em meio líquido.

Aos estatísticos Edson Z. Martinez e Gislaine Aparecida Fonsechi Carvasan pela competência e colaboração na análise estatística.

Às secretárias Márcia Regina B. A. Siqueira, Cássia Aparecida Marchini e Margarete Amado S. Donadon, pelo apoio, dedicação e amizade.

À enfermeira Dona Nadir e à auxiliar de enfermagem Dona Ana, pela acolhida e colaboração no atendimento no Ambulatório de Patologia Cervical do CAISM.

À Assessoria Técnica e Científica do CAISM, pelo profissionalismo na revisão final deste trabalho e à Sueli Chaves pela valiosa colaboração.

Às mulheres que participaram deste estudo, sem as quais ele jamais se concretizaria, meu respeito e gratidão.

Sumário

Símbolos, Siglas e Abreviaturas	
Resumo	
Summary	
1. Introdução	14
2. Objetivos	23
2.1. Objetivo geral	23
2.2. Objetivos específicos	23
3. Sujeitos e Métodos.....	24
3.1. Tipo de estudo.....	24
3.2. Tamanho amostral	24
3.3. Seleção dos sujeitos	25
3.4. Critérios de inclusão.....	25
3.5. Critérios de exclusão.....	26
3.6. Variáveis e Conceitos.....	26
3.6.1. Variáveis em estudo.....	26
3.6.2. Variáveis de Controle.....	28
3.7. Procedimentos diagnósticos e terapêuticos.....	29
3.7.1. Citologia oncológica	31
3.7.2. Colposcopia.....	41
3.7.3. Avaliação histológica.....	41
3.8. Coleta de dados	41
3.9. Processamento e análise dos dados	42
3.10. Aspectos éticos.....	43
4. Resultados	44
4.1. Características da amostra	44
5. Discussão.....	55
6. Conclusões	63
7. Referências Bibliográficas.....	64
8. Bibliografia de Normatizações	71
9. Anexos	72
9.1. Anexo 1 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	72
9.2. Anexo 2 - Formulário para coleta de dados	74

Símbolos, Siglas e Abreviaturas

AGUS	Atipias celulares glandulares de significado indeterminado
ASCUS	Atipias celulares escamosas de significado indeterminado
CAISM	Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher
CO	Citologia Oncológica
DST	Doença Sexualmente Transmissível
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HMLMB	Hospital Maternidade Leonor Mendes de Barros
HPV	Papilomavírus Humano
IC	Intervalo de confiança
JEC	Junção escamo-colunar
LIE-AG	Lesão intra-epitelial de alto grau
LIE-BG	Lesão intra-epitelial de baixo grau
NIC	Neoplasia intra-epitelial cervical
OMS	Organização Mundial da Saúde
OR	<i>Odds ratio</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
WHO	World Health Organization

Resumo

O objetivo deste estudo foi comparar o desempenho da técnica convencional de colheita e confecção do esfregaço cervicovaginal, utilizando espátula de Ayre e escova, com a técnica que utiliza material coletado com escova (*Cervex Brush*®) e preservado em meio líquido à base de álcool para a confecção do esfregaço. Este foi um estudo prospectivo, comparativo, descritivo e randomizado, constituído de 301 mulheres encaminhadas para os Ambulatórios de Patologia Cervical do Hospital Maternidade Leonor Mendes de Barros e do Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher, no período de junho a dezembro de 2001, alocadas de forma randomizada em dois grupos. Os critérios de inclusão foram mulheres com exame citológico prévio alterado, teste positivo para HIV, pesquisa biomolecular ou sorológica positiva para HPV e qualquer condição clínica suspeita para neoplasia do colo uterino. Foram excluídas as mulheres com diagnóstico de carcinoma invasor e submetidas a histerectomias. O padrão-ouro foi considerado o diagnóstico histológico mais grave, com espécimes coletados por biópsia, cirurgia de alta frequência e/ou conização a bisturi frio. As variáveis em estudo foram: diagnóstico citológico; qualidade do esfregaço; exame colposcópico; diagnóstico histológico e diagnóstico microbiológico.

A associação dos diagnósticos neoplásicos e da qualidade da amostra com as técnicas convencionais e em meio líquido foi analisada com o teste exato de Fisher e medida por valores estimados de *odds ratio*, com seus respectivos intervalos de confiança de 95%. Os resultados mostraram que as duas técnicas são semelhantes na detecção de lesões pré-neoplásicas do colo uterino, na qualidade do esfregaço, na concordância citoistológica. Observou-se diferença no motivo da limitação dos esfregaços, sendo mais freqüente na técnica convencional o esfregaço hemorrágico/purulento e na técnica em meio líquido, a ausência de células endocervicais. Houve diferença também no diagnóstico microbiológico, sendo que a técnica convencional fez mais diagnóstico de *cocos* e *lactobacilos* e a técnica em meio líquido de *Gardnerella*.

Summary

The purpose of the study was to compare liquid-based cytology to the conventional Papanicolaou smears, in a high-risk population for cervical intraepithelial neoplasia. This study was prospective, comparative, descriptive, randomized. A total of 301 women were included, during the period from June to December 2001. Were included women with abnormal conventional smears, HIV positive, HPV DNA positive or any suspicious clinical condition for cervical cancer. Cytologic diagnosis based on the two techniques, categorized according to the Bethesda System, were compared to a “gold standard” final case diagnosis, the histologic diagnosis. Cytologic diagnosis, specimen adequacy, colposcopy, histologic diagnosis and microbiologic diagnosis were evaluated and compared. For the statistical analysis, differences in the rates of disease detection and in specimen adequacy between the two preparation methods were assessed statistically using Fisher’s exact test. The comparison of the results between conventional smears and liquid-based revealed no significant statistically differences in all diagnostic categories. The diagnosis of satisfactory specimen for evaluation but limited by cylindrical endocervical cells or squamous metaplasia absent was higher in liquid-based and the specimen limited by obscuring blood and obscuring inflammation was higher in conventional smears.

1. Introdução

A Organização Pan-Americana da Saúde identifica o câncer do colo uterino como um grave problema de saúde da América Latina e Caribe e reconhece esse câncer como uma das prioridades na formulação de política de controle de câncer (RESTREPO et al., 1987). O mesmo reconhecimento há no Brasil, com destaque para os sérios reflexos socioeconômicos decorrentes de sua expressiva morbidade e mortalidade em nosso meio (KLIGERMAN, 1998). Tal problema adquire mais relevância quando se considera tratar de um tipo de câncer evitável e curável e, portanto, com grandes chances de êxito de seu controle.

No Brasil, em 2001, essa neoplasia maligna ainda apresenta índices alarmantes, com 6,9% dos óbitos por câncer no sexo feminino, sendo a segunda causa de mortalidade em mulheres. Para este mesmo ano, foram estimados 154.880 casos novos e 54.220 óbitos por câncer no sexo feminino, dentre os quais 16.270 casos novos e 3.725 óbitos por câncer de colo do útero (BRASIL, 2001).

Na última década observou-se redução da mortalidade por câncer do colo uterino no Estado de São Paulo. De acordo com dados da Secretaria de

Estado da Saúde de São Paulo (SÃO PAULO, 2000), esta taxa foi de 4,5 mortes por 100.000 mulheres em 1987-1988; 4,2 mortes em 1992-1993 e diminuiu para 3,8 mortes por 100.000 mulheres em 1997-1998. Todavia, estes números podem estar subestimados em vista de óbitos atestados explicitando a causa direta, sem explicitar a doença de base. Ainda, há óbitos notificados como causas mal definidas e casos notificados como câncer de útero sem especificar se em colo ou no corpo uterino (IBGE, 2001).

A incidência do câncer do colo uterino no Município de São Paulo, medida no ano de 1993, foi de 27,1 e 27,4 casos novos por 100.000 mulheres, respectivamente para as taxas brutas e padronizadas por idade (MIRRA, 1999). Estas taxas podem ser consideradas altas, pois os países com programa de controle organizado apresentam incidência menor que 10 casos por 100.000 mulheres/ano (IARC, 2001).

Um marco importante no conhecimento da história natural deste tipo de câncer foi o estudo de PAPANICOLAOU & TRAUT (1941), que analisando esfregaços citológicos vaginais, demonstraram a presença de células atípicas, sem características evidentes de malignidade, mas que julgaram ser modificações malignas incipientes. A partir daí tiveram início o diagnóstico e o estudo das formas iniciais da neoplasia do colo uterino, uma vez que, até aquele momento, praticamente só se diagnosticava o carcinoma invasor clinicamente manifesto.

A origem dessa neoplasia é no epitélio da cérvix uterina, que apresenta alterações citológicas características e que, eventualmente, podem evoluir de

forma progressiva e silenciosa até carcinoma invasivo (ÖSTÖR, 1993). Segundo o estudo de ÖSTÖR, a proporção de evolução para a invasão é de 1% das NIC 1; 5% das NIC 2 e cerca de 12% das NIC 3.

A ectocérvice é a parte do colo uterino que tem como limites laterais as paredes vaginais e como limite medial o orifício externo do colo, e está revestida com epitélio escamoso, estratificado, não queratinizado. A endocérvice ou canal cervical está revestida com um epitélio cilíndrico, simples, mucossecretor. Na menarca a junção destes epitélios, conhecida como junção escamo-colunar (JEC), localiza-se na ectocérvice e na pós-menopausa localiza-se na endocérvice. Ao longo da menacme a JEC tem localização variável em consequência do processo de metaplasia do epitélio cilíndrico, constituindo a zona de transformação que é de importância na rotina de prevenção do câncer do colo uterino, uma vez que a maioria das lesões neoplásicas é originada nessa área (BURGHARDT & ÖSTÖR, 1983).

Assim, a localização da JEC depende da idade e do *status* hormonal, paridade, assistência obstétrica, cervicites e outras variáveis. A mucosa constituída por epitélio cilíndrico, quando localizada na ectocérvice, fica exposta a um meio ácido e “séptico”, acarretando uma série de alterações celulares decorrentes dos processos adaptativos, a metaplasia, que sob a ação de agentes carcinogênicos pode transformar-se em lesões pré-cancerosas e cancerosas (BURGHARDT & ÖSTÖR, 1983).

As lesões precursoras do carcinoma do colo uterino foram designadas inicialmente de displasias (REAGAN, SIEDEMANN, SARACUSA, 1953) e carcinoma *in situ*, depois de neoplasia intra-epitelial cervical (RICHART, 1967) e, mais recentemente de lesões intra-epiteliais escamosas de baixo ou alto grau (KURMAN & SOLOMON, 1994).

Grande parte dessas chances de controle reside no pilar da prevenção. Nos programas de rastreamento de câncer de colo uterino, a meta almejada é a redução da morbidade e da mortalidade através da identificação de suas lesões precursoras, que apresentam enorme possibilidade de tratamento, simples e eficaz (NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 1997).

Vários estudos realizados na década de 80, patrocinados pela Organização Mundial da Saúde (OMS), demonstraram que um programa de rastreamento do câncer do colo uterino bem estruturado, que alcance alta cobertura na faixa etária de maior risco, seria capaz de reduzir a mortalidade por esta doença em 90% (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1986). Na prática, vários países desenvolvidos já conseguiram reduzir a mortalidade por este câncer através de programas de rastreamento (ANDERSON et al, 1988; EVAC, 1989; SIGURDSSON, 1993; LIU et al., 2001)

A citologia oncológica do colo uterino (CO), conhecida como teste de Papanicolaou, tem sido o método universalmente preconizado para o rastreamento de lesões precursoras do câncer do colo uterino. De acordo com um estudo de metanálise realizado por FAHEY, IRWIG, MACASHILL (1995), a especificidade

encontrada para a citologia oncológica foi de 98% e a sensibilidade foi de 51%. Portanto, de acordo com este estudo, deixa-se de diagnosticar metade das lesões, fato que precisaria ser analisado em busca da melhoria da eficácia do método (FAHEY et al., 1995).

Sabe-se que à medida que a mulher vai repetindo o exame citológico, vai aumentando a proteção contra o desenvolvimento de um carcinoma, o que é devido, principalmente, ao longo período de tempo da fase pré-invasiva desta neoplasia (WHO, 1986; MURTHY et al., 1993). O tempo médio de evolução das lesões precursoras do carcinoma cérvico-uterino é longo. Estima-se que a neoplasia intra-epitelial cervical (NIC) grau 3 tem duração média de cerca de 10 anos, o que torna esta lesão detectável e tratável ao longo deste período (ZEFERINO et al., 1998).

A eficácia do exame citológico está sujeita a múltiplos fatores: a técnica de colheita e o instrumental usado para a mesma (tipo de espátula, escova etc.); qualidade da fixação e coloração dos esfregaços; formação profissional e educação continuada dos profissionais que realizam as leituras das lâminas (CENTER FOR DISEASE CONTROL, 1992; WILBUR, 1997a). De todas as limitações, a técnica de colheita merece destaque, pois precede todos os demais eventos.

Na técnica convencional, o material cervicovaginal é colhido com espátula de Ayre e escova endocervical. Trata-se de uma amostra de células não randomizada, podendo não refletir a real condição do colo uterino, pois

células alteradas podem ter ficado na espátula ou na escova e terem sido desprezadas. Além disso, as células ressecam rapidamente no ar, o que pode distorcer sua morfologia e dificultar a interpretação microscópica. Assim, somente 20% das células colhidas são analisadas (HUTCHINSON et al., 1994). Cerca de 10% a 30% dos esfregaços apresentam algum tipo de limitação, com quase 2% de casos insatisfatórios (NAGY, COLLINS, WILSON, 1996).

Ainda, a técnica de colheita também está relacionada com a qualidade da distribuição do material colhido sobre a lâmina e com a presença no esfregaço de vários elementos que podem prejudicar a avaliação celular, como leucócitos, muco, sangue e a sobreposição de células.

O esfregaço tem que ser rapidamente fixado, com produto de qualidade, geralmente à base de álcool (agente fixador) e polietilenoglicol (agente que forma uma película protetora das células). Estes fixadores, para conservarem as suas características e a capacidade de atuação, precisam ser mantidos em lugar fresco e com frascos tampados. Caso contrário os componentes voláteis evaporam, alterando a sua composição química e sua ação fixadora. O frasco deve também ser agitado antes do uso, para manter a concentração do álcool e polietilenoglicol, uma vez que este último tem maior peso e precipita no fundo do frasco (BRASIL, 1996b).

Recentemente surgiu uma técnica para preparar o esfregaço cervico-vaginal a partir de material colhido e preservado em meio líquido. Trata-se de uma

alternativa para melhorar o desempenho do exame citológico convencional e é genericamente conhecida como citologia de base-líquida ou em meio líquido.

Nesta técnica, o material cervicovaginal é colhido da ectocérvice e endocérvice com uma escova própria (*Cervex Brush®*). Após a colheita, a escova tem seu cabo descartado e o restante é mergulhado no meio líquido. Portanto, tem-se que 100% das células colhidas pela escova estão em suspensão no meio líquido, que também é fixador (HUTCHINSON et al., 1994). Após a centrifugação deste líquido, um esfregaço é confeccionado em lâmina de vidro a partir de uma amostra randomizada de células epiteliais. Aumentam-se assim as chances de se detectar anormalidades presentes no epitélio do colo uterino, pois todas as células colhidas com características morfológicas sugestivas de atipias, muito provavelmente, estariam representadas no esfregaço confeccionado. Além disso, 100% da amostra colhida fica à disposição para confecção de esfregaços adicionais ou outros testes que eventualmente possam ser necessários (SPRENGER et al., 1996; BISHOP et al., 1998).

A fixação das células colhidas é imediata, preservando a sua morfologia. Através do processo de centrifugação elimina-se ou reduz-se muco, leucócitos e sangue, resultando em lâminas contendo as células de interesse em fundo limpo. Também esta técnica evita que haja sobreposição de células, pois produz um esfregaço fino e homogêneo, designado como monocamada, o que otimiza a coloração e torna os detalhes da arquitetura celular mais claros,

supostamente reduzindo os esfregaços classificados como insatisfatórios ou satisfatórios, mas limitados (SPRENGER et al., 1996; BISHOP et al., 1998).

Vários estudos mostram que o uso de citologia em meio líquido reduz a frequência de diagnóstico citológico de atipias de significado indeterminado das células escamosas (ASCUS) e das células glandulares (AGUS), e aumenta a prevalência de diagnóstico de lesões intra-epiteliais escamosas de baixo e alto graus e de carcinoma, características que qualificam positivamente a técnica (AUSTIN & RAMZY, 1998; VASSILAKOS et al., 1998). A sensibilidade e especificidade para detectar lesões intra-epiteliais parecem ser mais altas quando a análise citológica é realizada em esfregaços preparados a partir do meio líquido, em comparação ao método convencional. Também o diagnóstico de infecções específicas por *Candida sp* e *Trichomonas vaginalis* estariam otimizados (WILBUR et al., 1997b; HOWELL et al., 1998).

No Brasil, trata-se de material importado, cujo *kit* de colheita é comercializado por aproximadamente quatro dólares, o que para o Sistema Único de Saúde (SUS) é um valor maior do que é pago por exame a um laboratório de citologia. Este custo inviabiliza a utilização deste método no rastreamento citológico financiado pelo SUS. Talvez, também haja restrições para o seu uso na prática privada.

Por outro lado, interessa saber se o desempenho da citologia em meio líquido, além de ser mais sensível nos testes de rastreamento, seria melhor que a citologia convencional também no apoio diagnóstico de um serviço de

referência em Patologia Cervical, onde são assistidas mulheres com exame citológico de rastreamento e com diagnóstico de alguma anormalidade e mulheres consideradas de alto risco para apresentarem lesões neoplásicas do colo uterino. Segundo alguns autores, o diagnóstico de lesões intra-epiteliais de baixo e alto graus estão aumentados com a técnica em meio líquido em populações de risco para carcinoma de colo uterino (CARPENTER & DAVEY, 1999).

Para responder esta questão, foi elaborado um estudo prospectivo randomizado, visando comparar os resultados obtidos pelas duas técnicas de colheita e preparo do esfregaço cervicovaginal . Esta foi uma fase inicial do estudo e trabalhou com mulheres triadas para um serviço de Patologia Cervical, ou seja, uma população de risco para câncer de colo uterino.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Comparar o desempenho do exame citológico de esfregaços colhidos e confeccionados pela técnica convencional e pela técnica em meio líquido, em mulheres com alto risco para lesões precursoras de carcinoma de colo uterino.

2.2. Objetivos específicos

1. Comparar a prevalência de diagnósticos citológicos de lesões intra-epiteliais cervicais nas duas técnicas.
2. Comparar a prevalência de diagnósticos citológicos de ASCUS e AGUS de acordo com a técnica de colheita.
3. Avaliar a concordância do diagnóstico citológico com o diagnóstico histológico para as duas técnicas.
4. Comparar a qualidade do esfregaço cervical entre ambas as técnicas.
5. Comparar a prevalência dos diagnósticos microbiológicos de acordo com a técnica de colheita.

3. Sujeitos e Métodos

3.1. Tipo de estudo

Estudo prospectivo, comparativo, descritivo e randomizado.

3.2. Tamanho amostral

Foram estudadas 301 mulheres, alocadas em dois grupos: 151 casos colhidos e preparados de maneira convencional e 150 com citologia em meio líquido. Este estudo mostra resultados parciais das mulheres incluídas até o momento no estudo, realizado de junho a dezembro de 2001. O tamanho amostral total é de 2.030 casos, alocados de forma randômica nos dois grupos. Para estimar o tamanho amostral tomou-se como referência dados do estudo de CARPENTER & DAVEY (1999), que obteve taxas de diagnóstico para ASCUS de 6,9% e 12,5%, respectivamente, para a citologia em meio líquido e citologia convencional. Os valores adotados foram 0,05 para alfa e 0,20 para beta.

3.3. Seleção dos sujeitos

Foram selecionadas as mulheres referidas, a partir do início do estudo, para os Ambulatórios de Patologia Cervical do Hospital Maternidade Leonor Mendes de Barros e do Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher, no período de junho a dezembro de 2001, pela rede primária de saúde do Sistema Único de Saúde (SUS) ou por outros ambulatórios dos próprios hospitais que se encaixaram nos critérios de inclusão descritos a seguir. De acordo com a ordem de chegada dos prontuários na sala de atendimento, as pacientes foram selecionadas alternadamente uma para cada grupo, sendo que o primeiro caso, de acordo com sorteio realizado, foi incluído no grupo da técnica convencional. Desta maneira, a randomização ficou com os casos ímpares para a técnica convencional e com os casos pares para a colheita em meio líquido, até o final do estudo. A inclusão foi realizada dentro da sala de atendimento pelo pesquisador, de forma que os profissionais dos ambulatórios que ordenam as pacientes e seus respectivos prontuários não tiveram conhecimento e nem controle sobre a seqüência da randomização. Cada caso incluído recebeu um número seqüencial e foi anotado em um caderno de manuseio e conhecimento exclusivo do pesquisador que atendeu as mulheres nos Ambulatórios de Patologia Cervical.

3.4. Critérios de inclusão

Mulheres encaminhadas para o Ambulatório de Patologia Cervical com:

- Exame citológico prévio alterado.

- Teste positivo para Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV).
- Teste molecular ou sorológico positivo para pesquisa de Vírus do Papiloma Humano (HPV)
- Qualquer condição clínica suspeita para neoplasia com relação ao colo uterino.
- Outros motivos (mácula rubra extensa, sinusorragia, dispareunia).

3.5. Critérios de exclusão

Foram excluídas as mulheres com:

- Diagnóstico prévio de carcinoma invasivo do trato genital inferior.
- Histerectomia total.
- Ausência de colo uterino.

3.6. Variáveis e Conceitos

3.6.1. Variáveis em estudo

a) Diagnóstico citológico

O resultado do exame citológico das mulheres foi classificado com base no Sistema Bethesda em: Normal, células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASCUS), células glandulares atípicas de significado indeterminado

(AGUS), lesão intra-epitelial de baixo grau (LIE-BG), lesão intra-epitelial de alto grau (LIE-AG), carcinoma epidermóide invasivo e adenocarcinoma (KURMAN & SOLOMON, 1994).

b) Qualidade do esfregaço

A qualidade do esfregaço foi classificada de acordo com o Sistema de Bethesda (KURMAN & SOLOMON, 1994) em:

- satisfatória;
- satisfatória, mas limitada, com limitação por ausência de células endocervicais, presença de sangue, inflamação, áreas densas, fixação pobre, artefatos de fixação, contaminação, que prejudique a visualização e a interpretação de aproximadamente 50 a 75% das células epiteliais.
- Insatisfatória, com as mesmas limitações anteriores, prejudicando a avaliação de mais de 75% das células epiteliais.

c) Diagnóstico colposcópico

Os achados colposcópicos foram classificados de acordo com a Classificação Internacional de Roma, de 1990 (STAFIL & WILBANKS, 1991), em:

- normal;
- alterações menores (epitélio acetobranco, mosaico fino, pontilhado fino, leucoplasia tênue);

- alterações maiores (epitélio acetobranco acentuado, mosaico acentuado, pontilhado acentuado, leucoplasia densa, vasos atípicos, erosão);
- suspeita de câncer;
- insatisfatória (JEC não visualizada, atrofia ou inflamação intensas).

d) Diagnóstico histológico

O diagnóstico histológico foi estabelecido conforme a classificação da Organização Mundial de Saúde (SCULLY et al., 1994) em: sem neoplasia; alterações histológicas sugestivas de infecção pelo HPV, NIC 1, NIC 2 ou NIC 3, carcinoma epidermóide invasivo, adenocarcinoma e outras neoplasias.

e) Diagnóstico Microbiológico

O diagnóstico microbiológico foi estabelecido com base na observação direta do microorganismo ou indireta através de seus efeitos celulares (inclusões celulares, citoplasmáticas). Os agentes pesquisados foram: *cocos*, *bacilos*, *Gardnerella*, *Candida sp*, *Trichomonas vaginalis*, *Actinomyces*.

3.6.2. Variáveis de Controle

- a) Idade:** referida pela mulher em anos completos no dia de sua inclusão no estudo.

- b) Escolaridade:** foi categorizada em: nenhuma; 1º grau, até 4ª série; 1º grau, da 5ª até 8ª série; 2º grau/científico/normal; superior/universidade.
- c) Tabagismo:** categorizada em nunca fumou, ex-fumante e fumante atual.
- d) Paridade:** número total de partos, normais ou operatórios, com feto ou recém-nascido pesando 500g ou mais.
- e) Número de parceiros sexuais:** referido pela mulher, como o número de homens com quem manteve relação sexual vaginal até o dia da inclusão no estudo.
- f) Idade do primeiro coito:** idade referida pela mulher, em anos completos, quando teve a primeira relação sexual vaginal com homem.
- g) Antecedente de DST:** categorizada em sim ou não.
- h) Uso de anticoncepção hormonal:** referido pela mulher e categorizada em sim e não, considerando se usou ou não, independentemente do produto e do tempo utilizados.

3.7. Procedimentos diagnósticos e terapêuticos

Na primeira consulta, as mulheres que corresponderam aos critérios de inclusão, após terem concordado em participar da pesquisa e assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 1), apresentado pelo pesquisador, responderam a uma série de perguntas de acordo com um formulário (Anexo 2) e foram submetidas a exame clínico cuidadoso, com inspeção dos genitais externos e região perianal. As mulheres tiveram seu

diagnóstico determinado através dos exames citológico, colposcópico e histológico, conforme estabelece a rotina do Ambulatório, resumida a seguir:

- Exame citológico de LIE-BG e/ou e exame colposcópico com alterações menores e/ou biópsia sugestiva de NIC 1 ou HPV, porém sem lesão clínica: as mulheres estão sendo acompanhadas sem tratamento ou foram submetidas à eletrocauterização; as mulheres com condiloma acuminado foram tratadas com exérese ou cauterização das lesões.
- Exame citológico de LIE-AG confirmado com exame colposcópico com alterações maiores e biópsia sugestiva de NIC 2 ou 3: as mulheres foram submetidas à conização a frio ou com alça diatérmica.
- Exame citológico de LIE-AG com diagnóstico histológico negativo: pacientes acompanhadas com citologia e colposcopia.
- Outras alterações do trato genital inferior, tais como: infecções, doenças sexualmente transmissíveis foram adequadamente tratadas conforme resultado dos exames utilizados na prática assistencial de cada caso.

As mulheres foram orientadas a retornar para consultas de acompanhamento com intervalo de até 30 dias, enquanto o diagnóstico e tratamento das lesões neoplásicas não estivessem concluídos ou para tratamento das infecções existentes.

Os exames foram realizados de acordo com a técnica que será descrita a seguir.

3.7.1. Citologia oncológica

Técnicas



Figura 1. Material utilizado para a colheita pelas duas técnicas: espéculo, Cervex Brush®, frasco contendo meio líquido, cytobrush, espátula de Ayre e lâmina de vidro.

Técnica convencional

Foram utilizadas espátulas de Ayre para colheita de amostra ectocervical e escovas (Cytobrush®) para a colheita de amostra endocervical. A espátula e a escova com o material colhido foram passadas em uma lâmina de vidro (FIGURA 1), produzindo um esfregaço que foi rapidamente fixado com Carbowax 400®, composto por:

- polietilenoglicol 400, que forma uma película protetora da amostra de células;
- álcool absoluto, para fixar a amostra;
- fórmula: 1 litro de álcool absoluto para 100 ml de polietilenoglicol.

Todas as lâminas foram encaminhadas ao Setor de Patologia do Instituto Adolfo Lutz. No laboratório, as lâminas foram imersas em álcool absoluto para dissolver a película protetora de polietilenoglicol e a seguir passaram pela técnica de coloração da forma convencional, pelo método de Papanicolaou.

Técnica em meio líquido

Para esta técnica, foi utilizada uma escova específica para colheita de amostra (*Cervex Brush®*), introduzindo-se a escova no canal endocervical, fazendo uma leve pressão com a escova, mantendo esta pressão, segurando o cabo com os dedos polegar e indicador, rodando a escova cinco vezes (360°) no sentido horário (FIGURA 2).

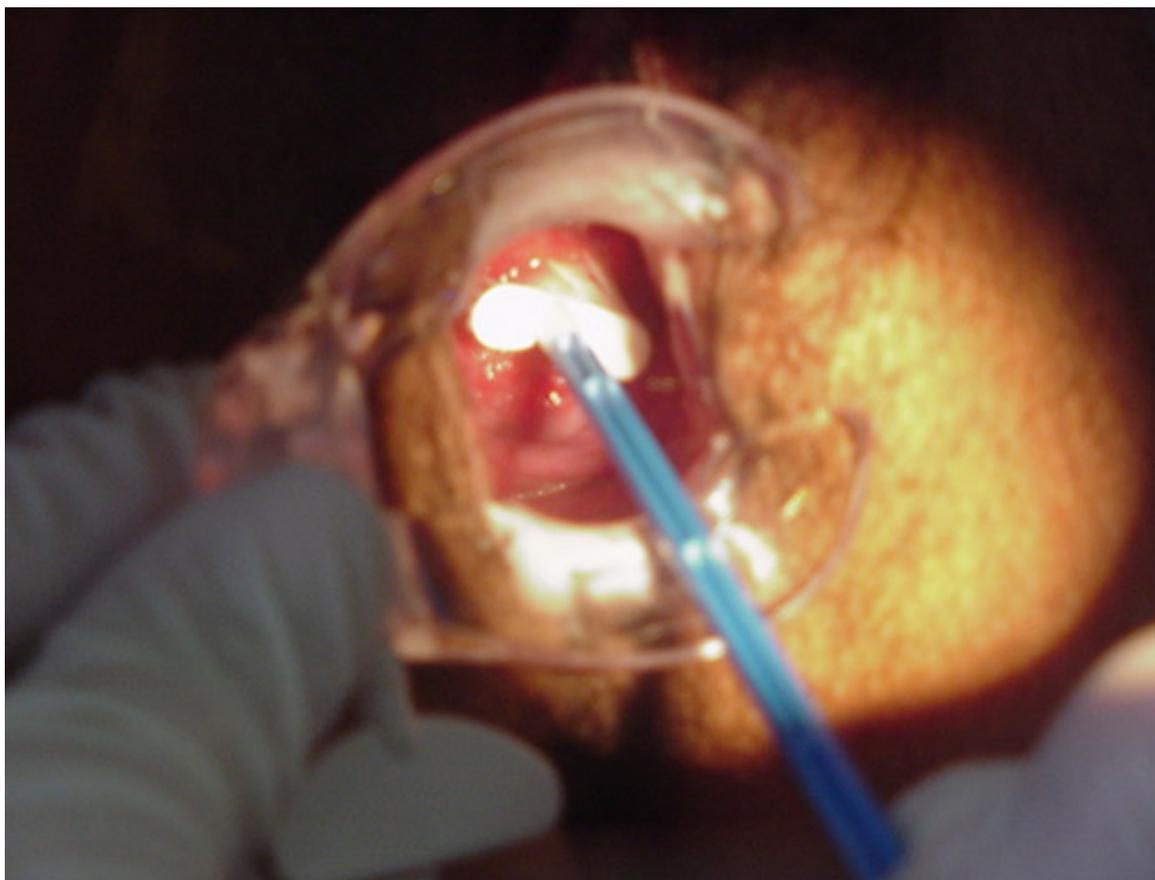


Figura 2. Colheita da citologia pela técnica em meio líquido, com cinco rotações completas.

Após a colheita, a escova é desconectada do cabo e colocada dentro do frasco contendo o meio líquido (sabe-se que é à base de álcool, porém não foi obtida a fórmula) (FIGURAS 3 e 4).



Figura 3. Escova sendo desconectada do cabo.

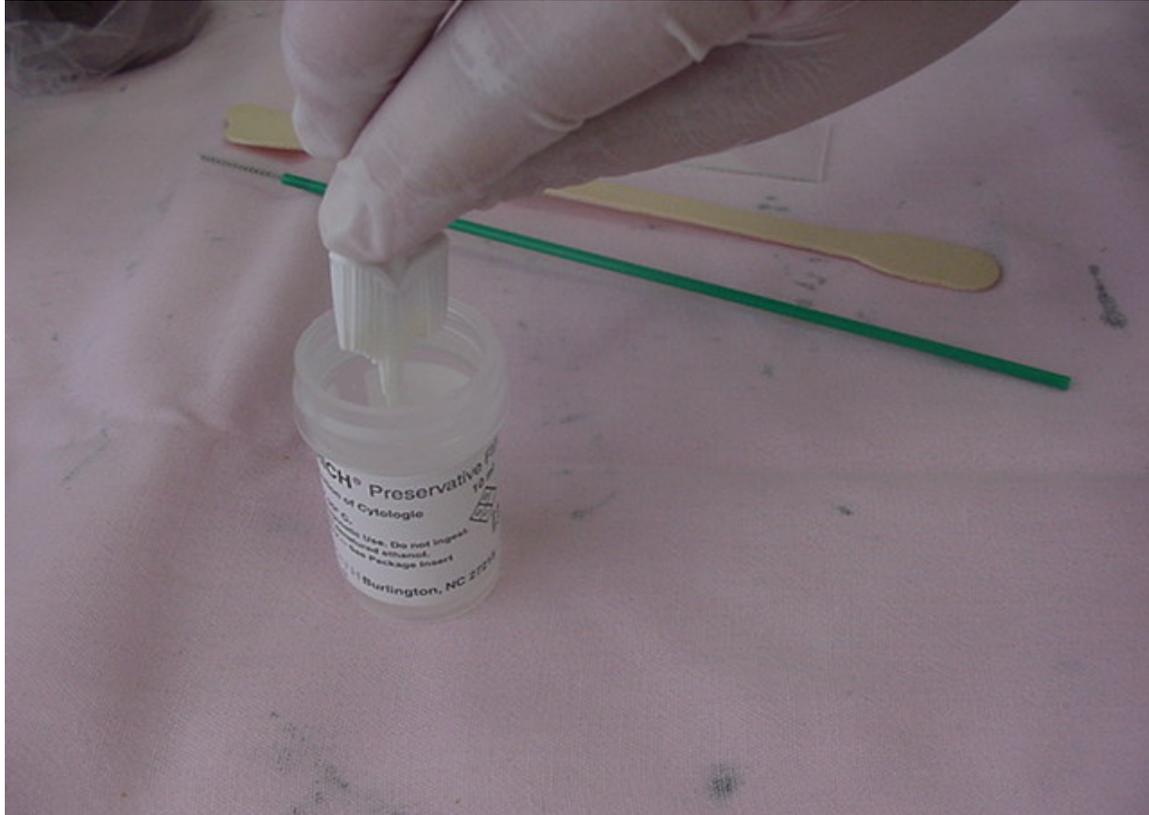


Figura 4. Escova sendo imersa no frasco contendo o meio líquido.

Todos os frascos contendo o meio líquido com a escova também foram encaminhados ao Instituto Adolfo Lutz para processamento (FIGURA 5), conforme descrito a seguir, e com coloração das lâminas também realizada pelo método de Papanicolaou.

Técnica de processamento:



Figura 5. Material utilizado no Instituto Adolfo Lutz para processamento da técnica em meio líquido.

- agitou-se cada amostra por 15 a 30 segundos, em um aparelho chamado vortex;
- pipetou-se 4ml de *Density Reagent* (líquido de densidade que faz com que ocorra a precipitação e separação das células dos outros elementos como sangue, muco, leucócitos) dentro dos tubos de centrifugação que acompanham o *kit*;

- depois de fazer o vortex (agitação), o conteúdo da amostra foi colocado sobre o líquido de densidade no tubo de centrifugação, de maneira que a amostra permanecesse sobre o líquido reagente de densidade (*Density Reagent*);
- foi realizada a primeira centrifugação (FIGURA 6) por dois minutos a 200G;



Figura 6. Centrífuga.

- colocadas as ponteiros de aspiração na cabeça do aspirador. Colocadas dentro dos tubos de centrifugação até que a cabeça batesse nos tubos e

aspirasse o sobrenadante. Tirou-se o aspirador, e enxaguou-se três vezes em água limpa. Repetida a operação nos próximos tubos;

- foi realizada a segunda centrifugação por 10 minutos a 800G;
- decantado cada tubo rapidamente na pia;
- pipetou-se 4ml de água deionizada dentro de cada tubo de centrifugação;
- agitou-se cada tubo de centrifugação imediatamente antes de pipetar 800µl de preparado de suspensão dessas células, nas lâminas dentro da câmara de assentamento (FIGURA 7);



Figura 7. "Slide Rack" (câmara de assentamento das lâminas).

- incubou-se por 10 minutos em temperatura ambiente;
- foi invertido o *Slide Rack* (suporte para as lâminas) rapidamente para escorrer o resto de líquido das câmaras de assentamento;
- enxaguou-se as câmaras de assentamento com 500 µl de etanol e decantou-se. Repetida mais uma vez esta operação;
- as lâminas foram secadas por 15 a 20 minutos em incubadora entre 50 a 55°C ou deixou-se secar até que o círculo celular secasse, em temperatura ambiente;
- as lâminas foram então coradas, montadas e realizada a leitura (FIGURA 8).



Figura 8. Aspecto final das lâminas das técnicas em meio líquido e convencional, respectivamente.

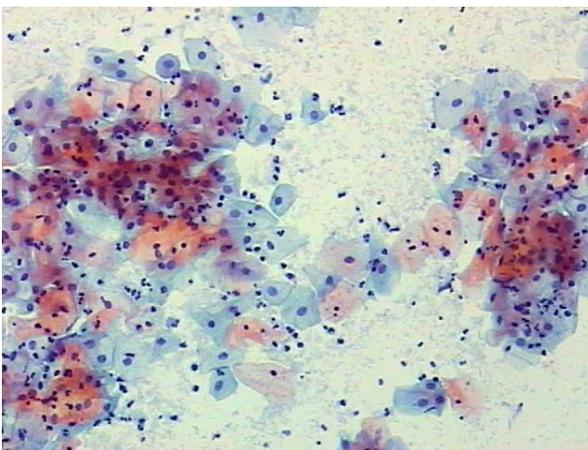
Observação: as lâminas devem passar por um procedimento de cotização: foram colocadas dentro de um jarro ou contêineres plásticos; cobertas com o líquido *Slide Coat Reagent* (líquido ionizado para melhorar a fixação das células nas lâminas); incubadas por três a quatro minutos; as lâminas foram retiradas com cuidado uma a uma e colocadas para secar em um contêiner livre de poeira, em posição vertical por 30 minutos. Estas lâminas cotizadas devem ser utilizadas em até 24 horas.

A leitura das lâminas foi realizada seguindo os critérios de controle de qualidade do Instituto Adolfo Lutz, passando pela avaliação de um observador e, se necessário, por um segundo e terceiro observadores (ALVES et al., 1997; LORETO et al., 1997).

Aspecto microscópico das lâminas (FIGURA 9):

Diagnóstico citológico inflamatório

Citologia convencional



Citologia em meio líquido

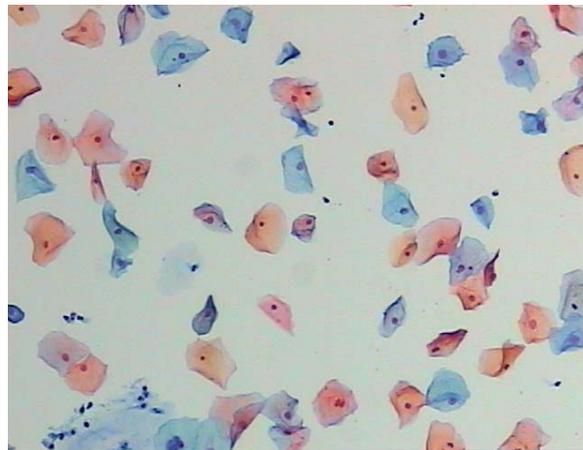


Figura 9. Visão microscópica das lâminas pelas técnicas convencional e em meio líquido, respectivamente.

3.7.2. Colposcopia

Foi realizada observação do colo uterino com colposcópio de luz branca e filtro verde, aumento entre seis e 40 vezes, antes e após aplicação de ácido acético a 3%. Após esta avaliação, foi realizado teste de Schiller com Lugol (iodo metálico 2g + iodeto de potássio 4g em 100ml de água destilada). As áreas com imagens suspeitas identificadas foram biopsiadas com pinça de Gaylor-Medina ou através de alças diatérmicas conectadas a geradores para cirurgia de alta frequência. Quando as lesões foram extensas e o exame colposcópico foi insatisfatório ou houve suspeita de invasão foi indicada conização a bisturi.

3.7.3. Avaliação histológica

Todo o material obtido para avaliação histológica foi encaminhado para o Setor de Anatomia Patológica do Instituto Adolfo Lutz, aos cuidados do Dr. Celso di Loreto para avaliação e diagnóstico. A coloração das lâminas foi realizada pelo método de hematoxilina-eosina.

3.8. Coleta de dados

Cada mulher incluída no estudo recebeu um número seqüencial, a partir do qual foi alocada em dois grupos. Em seguida, na mesma consulta, foram coletadas informações das mulheres pelo pesquisador e anotadas num formulário

especialmente elaborado para esta finalidade (Anexo 2). Os procedimentos e resultados dos exames realizados nos Ambulatórios de Patologia Cervical e constantes nos prontuários da paciente foram copiados para o mesmo formulário.

3.9. Processamento e análise dos dados

Os formulários foram ordenados numericamente para facilitar o seu manuseio. Inicialmente as informações foram revisadas manualmente para se detectar possíveis erros de preenchimento e de seleção, que foram então corrigidos.

Após essa fase, os dados anotados nas fichas foram digitados em um banco de dados construído em Excel® para microcomputador. Após a digitação foram realizadas tabelas descritivas para verificação da consistência dos dados para cada variável do estudo. Os casos que apresentaram dúvidas ou não-conformidades foram revisados.

A prevalência dos diagnósticos citológicos, a qualidade da amostra, a concordância citoistológica para as duas técnicas de colheita foram analisadas com o teste exato de Fisher, usado para comparar variáveis categóricas. O diagnóstico microbiológico foi medido por valores estimados de *odds ratio*, com seus respectivos intervalos de confiança de 95%.

3.10. Aspectos éticos

Os exames citológicos são realizados rotineiramente no rastreamento do câncer do colo uterino e nos ambulatórios de referência em patologia cervical do SUS. Esta pesquisa destinou-se a testar o desempenho diagnóstico de duas técnicas de colheita e preparo do esfregaço citológico, que são de fácil aplicação, sem efeitos indesejáveis ou risco para as mulheres. Na rotina do atendimento não foi adicionada nenhuma propedêutica ou procedimento experimental. É rotina nos Ambulatórios de Patologia Cervical colher uma nova citologia quando a paciente tem uma alterada. Eventuais tratamentos foram realizados conforme necessário para cada caso, de acordo com a rotina do serviço e não foi alterado em função deste estudo.

A pesquisa manteve o anonimato da mulher e a aceitação da paciente em participar do estudo inclui também o direito de ser tratada e seguida por outro ginecologista após o diagnóstico. A não aceitação na participação do estudo não implica que ela perca os direitos iniciais rotineiramente oferecidos pelo ambulatório. A inclusão da mulher no estudo foi realizada, exclusivamente, após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 1). Foram cumpridas as recomendações do *Guiding Medical Doctors in Biomedical Research Involving Human Subjects* da DECLARAÇÃO DE HELSINQUE, 2001 e também observada a Resolução 196/96 do Ministério da Saúde (BRASIL, 1996a).

4. Resultados

4.1. Características da amostra

Os grupos estudados apresentaram uma distribuição homogênea segundo as variáveis de controle. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as idades médias e na distribuição das mulheres por faixa etária, de acordo com a técnica de colheita. As mulheres incluídas no estudo tinham como escolaridade predominante primeiro e segundo graus e cerca de dois terços nunca fumaram. A distribuição das mulheres de acordo com paridade foi homogênea nos dois grupos. A maioria das mulheres teve de dois a quatro parceiros, idade do primeiro coito entre 16 e 19 anos, não tiveram antecedente de DST (doença sexualmente transmissível) e 80% já usaram ou usam anticoncepcional hormonal (Tabela 1).

TABELA 1

Distribuição e características epidemiológicas e gineco-obstétricas das mulheres estudadas segundo a técnica de colheita

	Convencional (n = 151)		Meio Líquido (n = 150)		p
	n	%	n	%	
Idade					0,65
Até 19 anos	20	13,2	25	16,7	
20 a 24 anos	38	25,3	27	18,0	
25 a 29 anos	27	17,9	29	19,3	
30 a 34 anos	20	13,2	17	11,4	
35 a 39 anos	20	13,2	20	13,3	
40 anos ou mais	26	17,2	32	21,3	
Escolaridade					0,03
Nenhuma	4	2,7	3	2,0	
1º Grau até 4ª série	27	18,0	40	26,7	
1º Grau até 8ª série	60	40,0	42	28,0	
2º Grau	55	36,6	52	34,6	
Superior	4	2,7	13	8,7	
Tabagismo					0,17
Nunca fumou	94	62,7	94	62,7	
Ex-fumante	33	22,0	23	15,3	
Fumante atual	23	15,3	33	22,0	
Ignorado	1		0		
Paridade					0,13
Nenhum	35	23,2	50	33,3	
1	41	27,1	27	18,0	
2	29	19,2	27	18,0	
3 ou mais	46	30,5	46	30,7	
Número de parceiros					0,71
0 e 1	64	42,7	58	38,7	
2 a 4	80	53,3	82	54,7	
5 ou mais	6	4,0	10	6,6	
Ignorado	1		0		
Idade 1º coito					0,52
Até 15 anos	30	20,0	40	26,9	
16 e 17 anos	43	28,7	41	27,5	
18 e 19 anos	45	30,0	37	24,8	
20 anos ou mais	32	21,3	31	20,8	
Ignorado	1		1		
Antecedente de DST					0,20
Não	131	87,3	122	81,9	
Sim	19	12,7	27	18,1	
Ignorado	1		1		
Uso de anticoncepcional					0,56
Nunca	26	17,4	31	20,8	
Sim	123	82,6	118	79,2	
Ignorado	2		1		

O motivo de encaminhamento mais freqüente foi exame citológico cervicovaginal alterado, cuja distribuição dos diagnósticos citológicos foi semelhante entre os dois grupos (Tabela 2).

TABELA 2
Motivo da consulta e resultado da citologia de encaminhamento segundo a técnica de colheita

	Convencional (n = 151)		Meio Líquido (n = 150)		p
	n	%	n	%	
Motivo da consulta					0,38
Exame citológico alterado	64	42,4	61	40,7	
Teste HIV positivo	4	2,6	9	6,0	
DNA-HPV positivo	4	2,6	4	2,6	
Colo suspeito	8	5,3	3	2,0	
Outro	71	47,1	73	48,7	
Resultado da CO de encaminhamento					0,36
Normal	68	45,0	56	37,4	
ASCUS/AGUS	13	8,6	14	9,3	
LIE-BG	35	23,2	31	20,7	
LIE-AG	15	9,9	17	11,3	
Sem CO/outro motivo	20	13,3	32	21,3	

4.2. Resultados das colpocitologias oncológicas

A qualidade dos esfregaços foi semelhante entre as duas técnicas, sendo considerados satisfatórios em 78,2% na convencional e em 74% no meio líquido. Foi satisfatória, mas limitada, em 19,2% dos casos na convencional e 25,3% no meio líquido, e insatisfatória em 2,6% e 0,7%, respectivamente (Tabela 3).

TABELA 3
Qualidade do esfregaço de acordo com a técnica de colheita

Qualidade do Esfregaço	Convencional		Meio Líquido	
	n	%	n	%
Satisfatória	118	78,2	111	74,0
Satisfatória mas limitada	29	19,2	38	25,3
Insatisfatória	4	2,6	1	0,7

p= 0,27 (exclui os insatisfatórios)

Considerando apenas os esfregaços com qualidade satisfatória mas limitada e insatisfatórios, a limitação por ausência de células endocervicais foi mais freqüente na técnica em meio líquido, enquanto que esfregaço hemorrágico/purulento e dessecamento foi mais freqüente na técnica convencional, sendo que

estas diferenças foram estatisticamente significantes. Destaca-se que não houve nenhum exame colhido pela técnica em meio líquido que apresentou limitação da qualidade devido a presença de esfregaço excessivamente hemorrágico e/ou purulento. Alguns esfregaços apresentaram mais do que uma causa de limitação (Tabela 4).

TABELA 4
Limitação da amostra de acordo com a técnica de colheita

Limitação da Amostra	Convencional		Meio Líquido	
	n	%	n	%
Ausência de células endocervicais	12	37,5	37	97,4
Hemorrágico/purulento	13	40,6	0	0,0
Dessecamento	7	21,9	1	2,6
Insatisfatórios sem motivo	1		1	

p<0,01 (exclui os ignorados)

As células endocervicais estavam presentes na quase totalidade dos casos colhidos pela técnica convencional, aproximadamente 92% dos casos, e ausentes em um quarto dos casos colhidos em meio líquido (Tabela 5).

TABELA 5
Presença de células endocervicais nos esfregaços
de acordo com a técnica de colheita

Células endocervicais	Convencional		Meio Líquido	
	n	%	n	%
Presentes	135	91,8	112	75,2
Ausentes	12	8,2	37	24,8
Total	147		149	

p<0,01 (exclui os insatisfatórios)

A prevalência dos diagnósticos citológicos foi semelhante entre os dois grupos, sendo que cerca de 80% apresentaram exames citológicos com diagnóstico normal ou inflamatório. O diagnóstico alterado mais prevalente foi LIE-BG, nos dois grupos. Foram excluídos da análise os resultados insatisfatórios e os de carcinoma invasivo, estes últimos por representarem apenas dois casos (Tabela 6).

TABELA 6
Prevalência de lesões neoplásicas de acordo com a técnica de colheita

Diagnóstico	Convencional		Meio Líquido	
	n	%	n	%
Normal/inflamatório	114	77,6	108	72,5
ASCUS	5	3,4	10	6,7
LIE-BG	18	12,2	24	16,1
LIE-AG	8	5,4	7	4,7
Invasivo	2	1,4	0	0,0
Total	147		149	

p=0,44 (exclui os invasivos da análise)

A prevalência do diagnóstico de esfregaço inflamatório nos exames com resultado não-neoplásico foi maior no grupo de colheita com a técnica convencional, sendo esta diferença estatisticamente significativa (Tabela 7).

TABELA 7

Prevalência do diagnóstico inflamatório no exame citológico não-neoplásico de acordo com a técnica de colheita

	Convencional		Meio Líquido	
	n	%	n	%
Normal	6	5,3	31	28,7
Inflamatório	108	94,7	77	71,3
Total	114		108	

p<0,01

A distribuição dos diagnósticos colposcópicos de acordo com a técnica de colheita foi semelhante, sendo que cerca de 60% apresentaram resultado normal e 30% de alterações menores (Tabela 8).

TABELA 8

Diagnósticos colposcópicos segundo a técnica de colheita

	Convencional (n = 151)		Meio Líquido (n = 150)	
	n	%	n	%
Colposcopia				
Normal	92	60,9	86	57,3
Alterações menores	42	27,8	47	31,3
Alterações maiores	13	8,6	15	10,0
Suspeita de câncer	1	0,7	1	0,7
Insatisfatória	3	2,0	1	0,7

p=0,76 (exclui as suspeitas de câncer e os insatisfatórios)

Na técnica convencional dos casos com diagnóstico citológico de normal/inflamatório que foram biopsiados, 61% não tiveram diagnóstico histológico de lesão (NIC 1/HPV, NIC 2/NIC 3) e a concordância diagnóstica foi de 90%. Para os diagnósticos citológicos de lesão de baixo grau, 61% foram falsos positivos, sendo que o restante apresentou lesão compatível ou mais grave e a concordância foi de 22%. O diagnóstico citológico de lesão de alto grau foi concordante em 88% dos casos com o exame histológico. Dos cinco casos de ASCUS, três foram compatíveis com NIC 1 e dois não foram biopsiados. Para os carcinomas invasivos a concordância foi de 100% (Tabela 9).

TABELA 9
Concordância entre os diagnósticos citológico e histológico final para a técnica convencional

Técnica Convencional	Diagnóstico histológico final				Sem Biópsia	Concordância
	Sem neoplasia	NIC1	NIC2/NIC3	Invasivo		
Normal/inflamatório	19	10	2	-	83	(102/114) 90%
ASCUS	-	3	-	-	2	-
LIE-BG	5	4	3	-	6	(4/18) 22%
LIE-AG	1	-	7	-	-	(7/8) 88%
Carcinoma invasivo	-	-	-	2	-	(2/2) 100%
Insatisfatório	1	-	-	-	3	-

Na técnica em meio líquido, dos casos com diagnóstico citológico de normal/inflamatório que foram biopsiados, cerca de 94% foram concordantes com o exame histológico, ou seja, não apresentaram lesão. Para os diagnósticos citológicos de lesão de baixo grau, 33% foram compatíveis com exame histológico NIC 1/HPV. O diagnóstico citológico de lesão de alto grau foi concordante em 100% dos casos com o exame histológico. Dos dez casos de ASCUS, 30% foram compatíveis com exame histológico NIC 1, 30% não apresentaram lesão histológica e 40% não foram biopsiados (Tabela 10).

TABELA 10
Concordância entre os diagnósticos citológico e histológico final para a técnica em meio líquido

Técnica Meio líquido	Diagnóstico histológico final					Concordância
	Sem neoplasia	NIC1	NIC2/NIC3	Invasivo	Sem Biópsia	
Normal/inflamatório	24	5	1	-	78	(102/108) 94%
ASCUS	3	3	-	-	4	-
LIE-BG	6	8	3	1	6	(8/24) 33%
LIE-AG	-	-	7	-	-	(7/7) 100%
Insatisfatório	1	-	-	-	-	-

O diagnóstico histológico final para as mulheres com alterações citológicas de baixo grau foi semelhante nas duas técnicas de colheita (Tabela 11).

TABELA 11**Diagnóstico histológico final para mulheres com diagnóstico de LIE-BG de acordo com a técnica de colheita**

Diagnóstico Histológico	Convencional		Meio Líquido	
	n	%	n	%
Sem neoplasia	5	28	6	25
HPV / NIC 1	4	22	8	33
NIC 2 / NIC 3	3	17	3	13
Invasivo	-	-	1	4
Sem Biópsia	6	33	6	25

O diagnóstico histológico final para as mulheres com alterações citológicas de alto grau foi semelhante nas duas técnicas de colheita (Tabela 12).

TABELA 12**Diagnóstico histológico final para mulheres com diagnóstico de LIE-AG de acordo com a técnica de colheita**

Diagnóstico Histológico	Convencional		Meio Líquido	
	n	%	n	%
Sem neoplasia	1	12,5	-	-
NIC 2 / NIC 3	7	87,5	7	100

A técnica convencional fez mais diagnóstico de agentes não patogênicos (*cocos* e lactobacilos), enquanto a técnica em meio líquido detectou mais o agente patogênico *Gardnerella vaginalis*. Para os outros microorganismos não houve diferença. A técnica em meio líquido detectou menos lactobacilos, com *Odds ratio* (OR) de 0,50 com intervalo de confiança (IC) de 0,31-0,83 ; fez menos diagnóstico de cocos, com OR de 0,38 e IC 0,13-1,08 e detectou mais *Gardnerella*, com OR de 3,24 e IC 1,07-10,52. Para a avaliação da presença de *Candida sp*, não houve diferença entre os dois métodos. Em apenas dois casos da técnica convencional, encontrou-se *Trichomonas vaginalis*, sendo que nenhum diagnóstico foi feito na técnica em meio líquido. O agente *Actinomyces* foi detectado em apenas um caso da técnica em meio líquido (Tabela 13).

TABELA 13
Microbiologia de acordo com a técnica de colheita

Microbiológico	Meio líquido		Convencional		p	OR (IC 95%)
	n	%	n	%		
Lactobacilos	49	32,7	74	49,0	<0,01	0,50 (0,31 - 0,83)
<i>Cocos</i>	6	4,0	15	9,9	0,07	0,38 (0,13 - 1,08)
<i>Gardnerella</i>	15	10,0	5	3,3	0,02	3,24 (1,07 -10,52)
<i>Candida</i>	5	3,3	4	2,6	0,75	-
<i>Trichomonas</i>	0	0,0	2	1,3	0,50	-
<i>Actinomyces</i>	1	0,7	0	0	0,50	-
Total	150		151			

5. Discussão

O câncer de colo uterino é uma doença que pode ser evitada e tratada adequadamente quando diagnosticada precocemente, mas ainda se deixa de fazer muitos diagnósticos, pois a colpocitologia oncológica apresenta algumas limitações já citadas anteriormente. Por isso, vem-se procurando aperfeiçoar as técnicas de colheita, fixação e preparo das lâminas na tentativa de diminuir os falsos-negativos, e uma das novas técnicas é a citologia colhida em meio líquido.

É importante comentarmos que a avaliação de esfregaços de citologia em meio líquido exige que se esteja familiarizado com uma série de parâmetros morfológicos diferentes da técnica convencional, como por exemplo, as células fixadas em meio líquido tendem a ser menores e mais arredondadas (HOWELL et al., 1998).

A comparação do desempenho da técnica convencional e da técnica em meio líquido, no limite do que é possível concluir com os resultados deste estudo, não mostrou diferenças significantes para o diagnóstico citológico das lesões precursoras do carcinoma do colo uterino. A prevalência dos diagnósticos citológicos

para as duas técnicas foi semelhante ou não foi suficientemente diferente para que fosse evidenciada estatisticamente com o tamanho amostral deste estudo.

Poderia-se supor que talvez em um serviço onde fossem atendidas mulheres com alto risco para lesões neoplásicas do colo uterino, como os Ambulatórios de Patologia Cervical onde foi realizado este estudo, a técnica em meio líquido pudesse servir de apoio diagnóstico nestes serviços de referência, mas este estudo não confirmou esta hipótese. Obteve-se prevalências semelhantes de diagnósticos normais e das diferentes lesões do colo uterino nas duas técnicas.

Foram diagnosticados 18 casos de LIE-BG com a técnica convencional e 24 com a técnica em meio líquido. Esta diferença pode ter sido ao acaso ou pode ser indicativa de que a técnica em meio líquido tende a detectar mais lesões LIE-BG, o que poderia ser explicado pela técnica de colheita com *Cervex Brush*[®] que colhe bem material da ectocérvice, onde estas lesões preferencialmente ocorrem (LUZZATTO & BOON, 1996).

Estes autores analisaram separadamente a contribuição das amostras endocervical e ectocervical, e concluíram que o diagnóstico de NIC 3 foi obtido em 98% das amostras endocervicais e em 62% das amostras ectocervicais, enquanto que 21% dos diagnósticos de NIC 1 e NIC 2 foram feitos exclusivamente através da amostra da ectocérvice. Portanto, é necessário destacar que a quase totalidade das NIC 3 foi observada na amostra endocervical, o que mostra a importância desta amostra para o diagnóstico das lesões intra-epiteliais mais graves.

Muitos estudos mostraram superioridade da técnica em meio líquido no diagnóstico citológico de lesões neoplásicas intra-epiteliais cervicais, e relataram diminuição do diagnóstico de ASCUS, pois presumiram que a centrifugação e a lavagem do esfregaço permitiram melhor avaliação das células e menos dúvida no diagnóstico citológico. O estudo de BERNSTEIN, SANCHES-RAMOS, NDUBISI (2001), realizou uma metanálise de 25 estudos, alguns com colheita simultânea das duas técnicas, colhendo-se material para a técnica convencional e colocando material residual dentro do meio líquido, e outros com colheita separada para as duas técnicas. A justificativa da colheita simultânea é que estudos mostraram que cerca de 80% das células podem permanecer no dispositivo de colheita (espátulas ou escovas), e que seriam desprezadas. Este estudo referiu que a técnica em meio líquido foi melhor que a convencional no diagnóstico das lesões pré-malignas e na qualidade do esfregaço, mas não houve diferença no diagnóstico de ASCUS.

Para PARK et al. (2001) foram encontrados menos casos de ASCUS e AGUS na técnica em meio líquido, de acordo com outros autores. Este estudo encontrou cinco casos de ASCUS na técnica convencional e dez no meio líquido, ou seja, mais diagnósticos de ASCUS foram feitos na técnica em meio líquido. Embora esta diferença não seja estatisticamente significativa, o tamanho amostral pequeno impõe restrições à conclusão de que o diagnóstico de ASCUS foi semelhante nas duas técnicas de colheita.

HUTCHINSON et al. (1999), também não encontraram diferença na prevalência de ASCUS entre as duas técnicas. Estes mesmos autores

encontraram concordância do diagnóstico citológico com o diagnóstico histológico em 85,4% dos casos de meio líquido e em 88,8% no convencional, o que mostra a equivalência dos métodos.

Neste estudo, a concordância entre os diagnósticos citológico e histológico foi maior com a técnica em meio líquido, no limite do que é possível concluir com os resultados deste estudo, uma vez que o total de casos e a diferença observada não permitiram que se obtivesse uma análise estatística conclusiva.

OBWEGESER & BRACK (2001) também observaram, assim como este estudo, que os diagnósticos citológicos de lesão intra-epitelial não foram significativamente diferentes nas duas técnicas, incluindo os ASCUS/AGUS. A concordância citoistológica para as lesões de alto grau foi de 91% para o meio líquido e 100% para o Papanicolaou convencional, dados bem semelhantes aos deste estudo.

Considera-se adequado comentar que o total de mulheres neste estudo com diagnóstico final de alguma lesão histológica foi pequeno, o que restringiu as conclusões referentes ao diagnóstico citológico devido ao fato de que as pacientes foram encaminhadas por outros motivos que não a citologia alterada, e que muitas vezes não tinham nenhum diagnóstico de anormalidade à colposcopia e à histologia.

Os resultados deste estudo mostraram que não há diferença na qualidade do esfregaço citológico, classificado de acordo com o Sistema de Bethesda, entre as duas técnicas quando avaliadas de forma global. Porém,

quando se analisou os casos qualidade satisfatória mas limitada, percebeu-se que a quase totalidade da limitação da técnica em meio líquido foi a ausência de células endocervicais, elementos representativos da zona de transformação do epitélio do colo uterino. A técnica convencional apresentou esfregaços com excessivo conteúdo hemorrágico e/ou purulento, além do dessecamento, o que não ocorreu na técnica em meio líquido. Estes resultados estão de acordo com as características de cada técnica.

Na técnica convencional, o material colhido vai diretamente para a lâmina, para constituir o esfregaço. Muitas vezes encontra-se muco e secreções em quantidade aumentada e patológicas, que podem prejudicar a qualidade do esfregaço. Um colo com ectopia ou outras anormalidades pode apresentar sangramento durante a colheita, e tornar o esfregaço hemorrágico. Estas intercorrências não podem ser corrigidas na citologia convencional, pois a lâmina é fixada imediatamente, para não dessecar as células e o esfregaço permanece “sujo”.

Este problema não ocorre com o meio líquido, pois o material colhido que fica no frasco com o meio fixador, passa por um processo de centrifugação justamente para separar muco, leucócitos e sangue, proporcionando um esfregaço com fundo limpo. Mas por outro lado, encontra-se menor quantidade de células endocervicais na técnica em meio líquido, talvez pelo tipo de escova utilizada (*Cervex Brush®*), que colhe bem material da ectocérvice mas que pode não atingir suficientemente o canal endocervical para fornecer uma amostra satisfatória de células do mesmo. Este é um aspecto importante, pois a amostra do canal

cervical aumenta o percentual de diagnóstico das lesões com maior potencial de progressão para carcinoma invasivo, que como já dito anteriormente, encontra-se mais no canal (LUZZATTO & BOON, 1996).

Na técnica convencional, a escova *cytobrush* seria superior à *Cervex Brush®* para colher material do canal endocervical, uma vez que a área de contato com o epitélio glandular é maior.

Os resultados deste estudo estão de acordo com os resultados de OBWEGESER & BRACK (2001), já citado anteriormente, que encontrou maior frequência de esfregaços com ausência de células endocervicais na técnica de colheita em meio líquido. Também o estudo de MONSONEGO et al. (2001) encontrou 315 (5,80%) esfregaços com ausência de células endocervicais na técnica convencional e 642 (11,83%) na técnica em meio líquido.

No trabalho de OBWEGESER & BRACK, os autores referem que o problema da técnica convencional não está na fixação e preparo da lâmina, mas sim na colheita. Foi muito mencionado e frisado que houve um treinamento para a colheita, utilizando espátula adequada, removendo excessos de muco e debris celulares, o que segundo os autores faz com que a eficácia da técnica convencional de Papanicolaou seja igual ou superior à técnica em meio líquido. Esse estudo foi prospectivo, randomizado, colhendo de cada paciente uma das duas técnicas, assim como em nosso estudo.

Ainda com relação à técnica de colheita, o estudo de BUNTINX & BROUWERS (1996) mostrou que a melhor associação para a colheita de

citologia cervical uterina é o uso de qualquer espátula combinada com uma das escovas disponíveis (*cytobrush*, *Cervex Brush®*) ou “cotonete” (*cotton swab*).

Estes resultados podem explicar o porquê da ausência de células endocervicais mais freqüente na técnica em meio líquido, pois usou-se somente a *Cervex Brush®* para colheita nesta técnica, enquanto que na técnica convencional usou-se a espátula de Ayre associada à *cytobrush* em todos os casos.

Não se pode deixar de concordar que realmente a técnica de colheita, o material usado, o treinamento do profissional e todos os procedimentos que antecedem a fixação e a preparação da lâmina propriamente dita, são fatores relevantes para um bom resultado citológico.

Considerando apenas os diagnósticos não neoplásicos, a técnica em meio líquido teve menor percentual de esfregaços considerados como inflamatório, diferença que pode ser atribuída à forma de preparação dos esfregaços, uma vez que componentes associados ao processo inflamatório podem ser subtraídos.

Outro ponto a discutir é o diagnóstico microbiológico. Sabe-se que determinar agentes microbiológicos é de importância secundária no exame citológico, pois a sua finalidade é o diagnóstico precoce de lesões precursoras do câncer de colo uterino. Não se deve realizar exame citológico para esclarecer diagnóstico de eventuais vulvovaginites ou cervicites. Porém, casualmente é possível fazer diagnósticos de alguns agentes microbiológicos e o Sistema de Bethesda, revisado em 2001, manteve o diagnóstico microbiológico.

Há agentes microbiológicos encontrados na vagina que não são patogênicos, como *cocos* e bacilos, mas alguns são, como a *Gardnerella vaginalis*, que se associada com queixa da paciente ou com aspecto clínico sugestivo, precisa ser tratada. A *Gardnerella vaginalis* causa um corrimento abundante, branco-acinzentado, de odor fétido, com pequenas bolhas, podendo ocorrer disúria, dispareunia e prurido, o que gera um desconforto muito grande para a mulher (LINHARES, BAGNOLI, HALBE, 1994). É claro que o tratamento independe do diagnóstico citológico, que não é indicado para tal finalidade.

Os resultados deste estudo mostraram que a técnica convencional identifica mais a flora lactobacilar e de *cocos* e a técnica em meio líquido identifica mais a *Gardnerella vaginalis*. Esta característica do meio líquido é importante e pode ser explicada, pois com a lavagem e centrifugação da amostra fica mais fácil a identificação das *clue cells*, que fazem o diagnóstico de *Gardnerella vaginalis*.

A flora cocobacilar é detectada quase que exclusivamente no citoplasma da célula na técnica em meio líquido, pois nesta técnica fica menos evidente o típico fundo “arenoso”, habitual dos esfregaços convencionais.

Por fim, estes resultados correspondem à primeira fase de análises do estudo que visa comparar o desempenho das duas técnicas de colheita, e portanto ainda haverá dados e conhecimentos adicionais referentes ao diagnóstico citológico que permitirão definir conclusivamente as vantagens e desvantagens da técnica em meio líquido e, principalmente, quando usar esta técnica em substituição à técnica convencional.

6. Conclusões

1. A prevalência de diagnósticos citológicos de lesões intra-epiteliais foi semelhante nos dois grupos.
2. A prevalência de diagnósticos citológicos de ASCUS e AGUS foi semelhante nos dois grupos.
3. Houve evidências de que a concordância dos diagnósticos citológico e histológico foi maior na técnica de colheita em meio líquido.
4. A qualidade global do esfregaço cervical foi semelhante nas duas técnicas. A técnica em meio líquido apresenta mais esfregaços sem células endocervicais e a técnica convencional apresenta mais esfregaços purulentos, hemorrágicos ou com dessecamento.
5. A prevalência do diagnósticos de lactobacilos foi maior na técnica convencional e a prevalência do diagnóstico de *Gardnerella vaginalis* foi maior na técnica em meio líquido. Não houve diferença entre as duas técnicas para o diagnóstico de *cocos*, *Candida sp*, *Trichomonas vaginalis* e *Actinomyces*.

7. Referências Bibliográficas

ALVES, V.A.F.; LIMA, M.A.N.; UTAGAWA, M.L.; MAEDA, M.Y.S. – Programa de controle de qualidade em citologia ginecológica do Instituto Adolfo Lutz: estratégias e análise crítica dos resultados de sua implantação-piloto. **Ass. Med. Bras.**, **37**:36-42, 1991.

ANDERSON, G. H.; BOYES, D. A.; BENEDET, J. L.; LE RICHE, J. C.; MATISIC, J. P.; SUEN, K. C.; WORTH, A. J.; MILLNER, A.; BENNET, O. W. - Organization and results of the cervical cytology screening programme in British Columbia, 1955-85. **Br. Med. J.**, **296**:975-8, 1988.

AUSTIN, R.M. & RAMZY, I. - Increased detection of epithelial cell abnormalities by liquid-based gynecologic cytology preparations. A review of accumulated data. **Acta Cytol.**, **42**:178-84, 1998.

BERNSTEIN, S.J.; SANCHES-RAMOS, L.; NDUBISI, B. – Liquid-based cervical cytologic smear study and conventional Papanicolaou smears: a metaanalysis of prospective studies comparing cytologic diagnosis and sample adequacy. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, **185**:308-17, 2001.

- BISHOP, J.W.; BIGNER, S.H.; COLGAN, T.J.; HUSAIN, M.; HOWELL, L.P.; McINTOSH, K.M.; TAYLOR, D.A; SADEGHI, M.H. Multicenter masked evaluation of AutoCyte PREP thin layers with matched conventional smears. Including initial biopsy results. **Acta Cytol.**, **42**:189-97, 1998.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Instituto Nacional de Câncer. Coordenadoria de Programas de Controle do Câncer – Pro-Onco. 1996. Viva Mulher: Programa Nacional de Controle do Câncer do colo do uterino. Rio de Janeiro: Pro-Onco. 1996a.
- BRASIL. Ministério da Saúde/Conselho Nacional de Saúde – Resolução 196/96 sobre pesquisa envolvendo seres humanos. **Bioética**, **4**(supl. 2):15-25, 1996b.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer – INCA. Estimativas da incidência e mortalidade por câncer no Brasil. Rio de Janeiro: **INCA**, 2001.83p.
- BUNTINX, F. & BROUWERS, M. – Relation between sampling device and detection of abnormality in cervical smears: a meta-analysis of randomised and quasi-randomised studies. **Br. Med. J.**, **313**:1285-90, 1996.
- BURGHARDT, E. & ÖSTÖR, A.G, - Site and origin of squamous cervical cancer: a histomorphologic study. **Obstet. Gynecol.**, **62**:117-27, 1983.
- CARPENTER, A.B. & DAVEY, D.D. - Thinprep pap test. performance and biopsy Follow-Up in a University Hospital. **Cancer Cytopathol.**, **87**:105-12, 1999.
- CENTER FOR DISEASE CONTROL. – Regulations for implementing the Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: a summary. **M.M.W.R.**, 1992, 17p.

DECLARAÇÃO DE HELSINQUE III SOBRE OS PRINCÍPIOS ÉTICOS PARA PESQUISAS EM SERES HUMANOS – [Acessado - 9/08/2001].

Disponível: www.ibemol.com.br/declarações/helsinque

EVAC (Evaluation Committee). -Population screening for cervical cancer in the Netherlands. *Int. J. Epidemiol.*, **18**:775-81, 1989.

FAHEY, M.T.; IRWIG, L.; MACASKILL, P. – Meta-analysis of Pap test accuracy. *Am. J. Epidemiol.*, **141**:680-9, 1995.

HOWELL, L.P.; DAVIS, R.L.; BELK, T.I.; AGDIGOS, R.; LOWE, J. - The AutoCyte Preparation System for cyneologic cytology. *Acta Cytol.*, **42**:171-7, 1998.

HUTCHINSON, M.L.; ISENSTEIN, L.M.; GOODMAN, A.; HURLEY, A.A.; DOUGLASS, K.L.; MUI, K.K.; PATTEN, F.W.; ZAHNISER, D.J. – Homogeneous sampling accounts for the increased diagnostic accuracy using the ThinPrep®Processor. *Am. J. Clin. Pathol.*, **101**:215-9, 1994.

HUTCHINSON, M.L.; ZAHNISER, D.J.; SHERMAN, M.E.; HERRERO, R.; ALFARO, M.; BRATTI, M.C.; HILDESHEIM, A.; LORINCZ, A.T.; GREENBERG, M.D.; MORALES, J.; SCHIFFMAN, M. – Utility of Liquid-Based cytology for cervical carcinoma screening. *Cancer Cytopathol.*, **87**:48-55, 1999.

IARC - International Agency for Reserarch on Cancer. World Hearlth Organization. em: [Acessado – 19 de setembro de2001]. Disponível: <http://www-dep.iarc.fr>.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. [Acessado –26 de novembro de 2001]. Disponível: [http:// www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br)

- KLIGERMAN, J - A assistência oncológica no SUS. **Rev. Brás. Cancerol.**, **44**:6-9, 1998.
- KURMAN, R.J. & SOLOMON, D. – **The Bethesda system for reporting cervical/vaginal cytologic diagnosis**. Springer-Verlag, New York, 1994.
- LINHARES, I.M.; BAGNOLI, V.R.; HALBE, H.W. - Vaginose bacteriana, candidose e tricomoníase. In: HALBE, H.W. - **Tratado de ginecologia**. 2^a ed. Rocca Ltda, São Paulo, 1994. p.875-81.
- LIU, S.; SEMENCIW, R.; PROBERT, A.; MAO, Y. - Cervical cancer in Canada: changing patterns in incidence and mortality. **Int. J. Gynecol. Cancer**, **11**:24-31, 2001.
- LORETO, C.; MAEDA, M.Y.S.; UTAGAWA, M.L.; LONGATTO FILHO, A.; ALVES, V.A.F. – Garantia de qualidade em citopatologia: aspectos da correlação cito-histopatológica. **Ass. Med. Bras.**, **43**:195-8, 1997.
- LUZZATTO, R. & BOON, M.E. - Contribution of the endocervical cytobrush sample to the diagnosis of cervical lesions. **Acta Cytol.**, **40**:1143-7, 1996.
- MIRRA, A.P. - Incidência de Câncer no Município de São Paulo, Brasil: 1983 – 1988 – 1993: Tendência no período 1969 – 1993. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 1999.
- MONSONEGO, J.; AUTILLO-TOUATI, A.; BERGERON, C.; DACHEZ, R.; LIARAS, J.; SAUREL, J.; ZERAT, L.; CHATELAIN, P.; MOTTOT, C. – Liquid-based cytology for primary cervical cancer screening: a multi-centre study. **Br. J. Cancer**, **84**:360-6, 2001.

MURTHY, N. S.; AGARWAL, S.S., PRABHAKAR, A. K., SHARMA, S., DAS, D. K. – Estimation of reduction in life-time risk of cervical cancer through one life-time screening. *Neoplasma*, **40**:255-8, 1993.

NAGY, G.K.; COLLINS, D.N.; WILSON, T.A. – Simple size calculations for rescreening cytology smears. *Acta. Cytol.*, **40**:501-5, 1996.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. - Consensus Statement: National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement on Cervical Cancer. *Gynecol. Oncol.*, **66**:351-61, 1997.

OBWEGESER, J.H. & BRACK, S. - Does Liquid-Based technology really improve detection of cervical neoplasia? *Acta Cytol.*, **45**:709-14, 2001.

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

PAPANICOLAOU, G.N. & TRAUT, H.F. - The diagnostic value of vaginal smears in carcinoma of the uterus. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **42**:193-206, 1941.

PARK, I.A.; LEE, S.N.; CHAE, S.W.; PARK, K.H.; KIM, J.W.; LEE, H.P. – Comparing the accuracy of ThinPrep Pap Test and Conventional Papanicolaou Smears on the basis of the histologic diagnosis. *Acta Cytologica*, **45**:525-31, 2001.

REAGAN, J. W.; SIEDEMANN, I. L.; SARACUSA, Y. - Cellular morphology of carcinoma in situ and dysplasia or atypical hyperplasia of uterine cervix cancer. *Cancer*, **6**:224-8, 1953.

- RESTREPO, H. E.; GONZÁLEZ, J.; ROBERTS, E; LITVAK, J. - Epidemiologia y Control del Cancer del Cuello Uterino em America Latina y el Caribe. **Bol. Of, Sanit, Panam.**, **102**:578-93. 1987.
- RICHART, R. - Natural history of cervical intraepithelial neoplasia. **Clin. Obstet. Gynecol.**, **10**:748-85, 1967.
- SÃO PAULO. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. Fundação Oncocentro de São Paulo. Mortalidade por câncer no estado de S.P. 1988 – 1998. São Paulo; **Cadernos FOSP**, v.1, 2000. 39p.
- SCULLY, RE; BONFIGLIO, TA; KURMAN, RJ; SILVERBERG, SG; WILKINS, EJ – Histological typing of female genital tract tumors. – **World Health Organization** International histological classification of tumors, 2th Ed., - 1994 Springer-Verlag, Berlin.
- SIGURDSSON, K. - Effect of organized screening on the risk of cervical cancer. Evaluation of screening activity in Iceland, 1964-1991. **Int. J. Cancer**, **54**:563-70, 1993.
- SPRENGER, E.; SCHWARZSMANN, P.; KIRKPATRICK, M.; FOX, W; HEINZERLING, R.H.; GEYER, J.W.; KNESEL, E.A. - The false negative rate in cervical cytology. Comparison of monolayers to conventional smears. **Acta Cytol** **40**:81-9, 1996.
- STAFL, A. & WILBANKS, G. Aninternational terminologyof colposcopy. Report of the Nomenclature Committee of the International Federation of Cervical Pathology and Colposcopy. **Obstet. Gynecol.**, **77**:313-6, 1991.

VASSILAKOS, P.; GRIFFIN, S.; MEGEVAND, E.; CAMPANA, A. - CytoRich Liquid-Based Cervical Cytologic Test. Screening Results in a Routine Cytopathology Service. **Acta Cytol.**, **42**:198-202, 1998.

WILBUR, D.C. – False negatives in focused rescreening of Papanicolaou smears: how frequently are “abnormal” cells detected in retrospective review of smears preceding cancer or high-grade intraepithelial neoplasia? **Arch. Pathol. Lab. Med.**, **121**:273-6, 1997a.

WILBUR, D.C.; FACIK, M.S.; RUTLOWSKI, M.A; MULFORD, D.K.; ATKINSON, K.M. Clinical trials of the Cytorich specimen-preparation device for cervical cytology. Preliminary results. **Acta Cytol** **41**:24-9, 1997b.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. International Agency for Research on Cancer (IARC) - WHO: IARC working group on evaluation of cervical cancer screening programmes.- Screening for squamous cervical cancer: duration of low risk after negative results of cervical cytology and its implication for screening policies. **Br. Med. J.**, **293**:659-64, 1986.

ZEFERINO, L.C.; BEDONE,A.J.;FAÚNDES,A.; OYAKAWA,N. - Duração da neoplasia intra-epitelial e do carcinoma invasor do colo uterino: Estudo epidemiológico. **RBGO**, **20**:565-9, 1998.

8. 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.

HERANI, M.L.G. - Normas para apresentação de dissertações e teses.
BIREME, São Paulo, 1991. 45p.

Normas e procedimentos para publicação de dissertações e teses. Faculdade
de Ciências Médicas, UNICAMP. Ed. SAD – Deliberação CCPG-001/98.

9. Anexos

9.1. Anexo 1 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Eu, Sra _____, atendida no Setor de Patologia Cervical do Hospital Maternidade Leonor Mendes de Barros ou do Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher da UNICAMP, fui convidada a participar de uma pesquisa com o exame preventivo do câncer do colo uterino. Essa pesquisa tem como objetivo comparar dois métodos de colheita e preparo de material para o exame preventivo, que podem ajudar a melhorar a prevenção desse câncer e auxiliar no diagnóstico de uma doença precursora. Sei que responderei a um questionário sobre informações pessoais, mas meu nome e endereço não serão divulgados, constarão somente no meu prontuário, pois a ficha da pesquisa terá apenas números de série. Essa ficha ficará de posse dos responsáveis pela pesquisa: Dra Ana Cláudia Guedes e Dr. Adhemar Longatto Filho.

Sei que serei submetida também à colposcopia, na qual o médico vai olhar o colo do meu útero com lente de aumento, e caso seja encontrada alguma alteração, essa será biopsiada, ou seja, retirado um pedaço muito pequeno para saber com certeza do que eu tenho. Essa biópsia é feita no ambulatório e é simples, ainda que pode causar um pequeno sangramento, que logo pára. Sei que poderão ser feitos exames para identificação de algum agente infeccioso. Não serei submetida a exames

desnecessários, pois tudo será como normalmente se faz em casos como o meu. O tratamento será realizado de acordo com a necessidade do meu caso e não será modificado por conta da pesquisa.

Fui esclarecida quanto ao meu direito de não participar da pesquisa ou de sair em qualquer momento, sem prejuízo para o meu atendimento. Caso deseje, poderei ser atendida por outro médico e a não aceitação em participar não implicará em perda de qualquer direito rotineiramente oferecidos pelo Setor.

São Paulo, // 2001

Rubrica da paciente

Pesquisadora

9.2. Anexo 2 - Formulário para coleta de dados

Número: _____	Data: ____/____/____	1. Idade: _____ anos
3. Motivo da consulta:	(1) Exame citológico alterado (2) Teste HIV positivo (3) DNA HPV positivo	(4) Colo suspeito (5) outro
2. Escolaridade concluída	(1) 1º Grau até 4ª série (2) 1º Grau até 8ª série (3) 2º Grau/científico/normal	(4) Superior/Universidade (5) Nenhum
4. Tabagismo: (1) Nunca (2) Ex-fumante: por qto tempo: _____ há qto tempo: _____ qtos cigarros/dia: _____ (3) Fumante atual: há qto tempo: _____ qtos cigarros/dia: _____		
5. Paridade: (número total de partos)		
6. Idade 1º coito: anos		
7. Nº parceiros sexuais:		
8. História DST: () NÃO () SIM – Qual? _____		
9 Uso de anticoncepcional hormonal: () Nunca () Sim – Qual? _____ Qto tempo? _____		
Obs:		

Número: _____		Obs:	
Resultado de Exames:			
10. Exame citológico			
10.1. Qualidade do esfregaço: () amostra satisfatória () amostra satisfatória mas limitada () amostra insatisfatória			
10.2 Exame Citologico (1) Normal (2) Inflamatório (3) ASCUS (4) HPV isolado		(5) NIC 1 (6) NIC 2 (7) NIC 3 (8) Carcinoma (9) AGUS (10) AdenoCA	
11. Exame colposcópico (1) Normal		(2) Alterações Menores (3) Alterações Maiores (4) Insatisfatório	
12. Ex Histológico (biopsia) (1) sem neoplasia (2) HPV (3) NIC 1 (4) NIC 2 (5) NIC 3 (6) carcinoma epidermóide (7) adenocarcinoma (8) outros		13. Ex Histológico (CAF) (1) sem neoplasia (2) HPV (3) NIC 1 (4) NIC 2 (5) NIC 3 (6) carcinoma epidermóide (7) adenocarcinoma (8) outros	
13. Ex Histológico (conização) (1) sem neoplasia (2) HPV (3) NIC 1 (4) NIC 2 (5) NIC 3 (6) carcinoma epidermóide (7) adenocarcinoma (8) outros		14. Diagnóstico Final (1) sem neoplasia (2) HPV (3) NIC 1 (4) NIC 2 (5) NIC 3 (6) carcinoma epidermóide (7) adenocarcinoma (8) outros	