



Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-graduação em Medicina:

Ciências Médicas

**Rastreo Citológico Cervical: Avaliação do dispositivo
de autocoleta de *Fournier*[®]**

Autor:

Alexandre da Silva Rocha

Orientadora:

Prof. Dra. Maria Isabel Albano Edelweiss

*Tese apresentada como requisito para a
obtenção do título de Doutor em Medicina frente à
Universidade Federal do Rio Grande do Sul,
Faculdade de Medicina, Programa de Pós-
graduação em Ciências Médicas*

Março de 2012

CIP - Catalogação na Publicação

da Silva Rocha, Alexandre
Rastreamento Citológico Cervical: Avaliação do
Dispositivo de Autocoleta de Fournier / Alexandre da
Silva Rocha. -- 2012.
152 f.

Orientadora: Maria Isabel Albano Edelweiss.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-
Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto
Alegre, BR-RS, 2012.

1. Prevenção do câncer cervical. 2. Citologia do
colo uterino . 3. Autocoleta com dispositivo de
Fournier. I. Albano Edelweiss, Maria Isabel, orient.
II. Título.

Agradecimentos

Agradeço a todos que perceberam minhas hesitações, dúvidas, descrenças, indecisões e suspeitas e insistiram para que este momento chegasse:

Dra. Maria Isabel Albano Edelweiss incansável no apoio e orientação. Meu especial muito obrigado.

Ao Corpo técnico do Laboratório de Pesquisas do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Gentis, capazes e dedicados na assistência e resolutividade.

Aos servidores lotados no Centro de Saúde Murialdo, parceiros diários no *front* da saúde pública e da pesquisa científica.

Dedicatória

Dedico esta dissertação àqueles que me acompanharam dedicada e incansavelmente até este momento:

Lísia, esposa

Tomaz, filho

Guilherme e Maria, pais

Simone, irmã

Resumo

A manutenção de altas taxas de morbimortalidade devidas ao câncer cervical está relacionada à dificuldade dos programas de rastreio em “alcançar” todas as portadoras de lesões cervicais precursoras. A necessidade de organização do sistema de saúde, evitando o *rastreio oportunístico* e a necessária exposição do genital, vêm sendo apontadas como limitadores para o rastreio.

O objetivo desta Tese foi testar a *performance* do dispositivo de *Fournier*[®] para o diagnóstico citológico das lesões cervicais precursoras ou neoplásicas a partir da coleta às cegas do fundo vaginal, realizada pelo examinador, e utilizando, como padrão-ouro, a colposcopia com biópsia cervical. Além disto, comparar os resultados das citologias obtidas com o dispositivo proposto em relação àquelas obtidas de forma tradicional, com o exame especular.

Para tanto, foi desenvolvido estudo de casos e controles ambientado em ambulatório de Patologia Cervical no período de janeiro de 2008 a outubro de 2009. Lâminas de citologia de meio líquido, obtidas com o dispositivo proposto e coradas com a técnica de *Papanicolaou* e pela imunocitoquímica com *anti-p16*^{ink4a} foram lidas por dois patologistas cegados quanto aos diagnósticos histológicos e colposcópicos.

A sensibilidade para o diagnóstico de lesões intraepiteliais de baixo grau, a partir da técnica de *Papanicolaou* e com o dispositivo de *Fournier*[®], variou entre 41,1% e 55,9% e, quando avaliados casos de lesões de alto grau e câncer cervical, a sensibilidade atingiu 68,7% e 75,0%. Com a utilização da imunocitoquímica com *anti-p16*^{ink4a} a sensibilidade para o diagnóstico das lesões intraepiteliais de baixo grau, atingiu valores de 57,1% e 48,8% e, entre os casos de lesão de alto grau e câncer, 87,5% e 93,7%. Quanto à especificidade do método diagnóstico, verificam-se valores de 91,0% e 89,5% quando da utilização da técnica *Papanicolaou* além de 75,0% e 55,9% quando utilizada a imunocitoquímica com *anti-p16*^{ink4a}.

Os resultados mostram que, em ambiente ambulatorial e com coletas de citologias realizadas “às cegas” pelo próprio examinador, o dispositivo de *Fournier*[®] obteve sensibilidade e especificidade comparáveis àquelas obtidas pela citologia *Papanicolaou* coletadas da forma tradicional, mediante exame especular.

Abreviaturas e Siglas

ACO	Contraceptivo oral
APC	Antigen Presentig Cell
Asc-US	Atipia cervical de significado indeterminado
ATP	According to protocol
ATP-E	According to protocol for efficacy
BJOG	British Journal of Gynaecology and Obstetrician
CDK	Cyclin-dependent Kinases
CTL	Linfócito T citotóxico
DAPK1	Death-associated protein kinase
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ELISA	Enzyme-linkedimmunosorbent assay
FIGO	Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia
FUTURE	Females united to unilaterally reduces endo-ectocervical disease
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HLA	Human leucocyte antigen
HPV	Papilomavírus humano
HR-HPV	HPV de alto risco oncogênico
IGA-S	Imunoglobulina A secretora
IGG	Imunoglobulina G
JAMA	Journal of the American Medical Association
LCR	Long control region e URR
LEEP	Loop electro surgical excision procedure

LR-HPV	HPV de baixo risco oncogênico
MPL	Lipídio A monofosforilado
NIC1	Neoplasia intraepitelial cervical grau 1
NIC2	Neoplasia intraepitelial cervical grau 2
NIC3	Neoplasia intraepitelial cervical grau 3
NIV	Neoplasia intraepitelial vulvar
NIVA	Neoplasia intraepitelial vaginal
ONU	Organização das Nações Unidas
p53	Proteína 53 do ciclo mitótico celular
PATRICIA	Papilloma trial against cancer in young adults
PBL	Linfócitos B periféricos sanguíneos
PCR	Polymerase Chain Reaction
PIB	Produto Interno Bruto
PNCCU	Programa Nacional de Combate ao Câncer do Colo Uterino
pRb	Proteína do retinoblastoma
RARB	Retinoic-acid Receptor - Beta
RNA	Ácido ribonucleico
SIDA	Síndrome da imunodeficiência humana
SISCOLO	Sistema de Informações sobre o Colo Uterino
START	Screening Technologies to Advance Rapid Testing
TERC	Telomerase RNA component
TH1	Linfócito T-Helper
TIL	Linfócito tumor infiltrado
TVC	Total vaccinal cohort
TVC-E	Total vaccinal cohort to efficacy

TVC-naïve Total vaccinal cohort - naive

URR Upstream regulatory region

VLP Virus-like particles

Sumário

Introdução	pág. 10
Revisão da literatura	pág. 11
Justificativa	pág. 75
Objetivo geral	pág. 75
Objetivo específico	pág. 76
Referências da tese	pág. 77
Artigo científico em inglês 1	pág. 93
Artigo científico em inglês 2	pág. 114
Conclusões	pág. 138
Considerações finais e perspectivas	pág. 139
Apêndices e Anexos	pág. 140
Apêndice A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	pág. 140
Apêndice B - Documento de Inclusão no Estudo	pág. 142
Apêndice C - Fluxograma do processo de seleção da amostra	Pag. 143
Anexo A - Técnica LSAB para imunocitologia	pág. 144
Anexo B - Técnica de <i>Papanicolaou</i>	pág. 146
Anexo C - Classificação Citológica de Bethesda 2006	pág. 147
Anexo D - Classificação Colposcópica da Federação Internacional de Patologia Cervical e Colposcopia	pág. 149
Anexo E - Estadiamento do câncer cervical conforme a FIGO	pág. 151

1 Introdução

Contrariamente à maioria das malignidades, o câncer do colo uterino possui peculiaridades que o faz doença potencialmente erradicável das comunidades. É malignidade que ocorre em órgão facilmente acessado sem a necessidade de exploração cirúrgica, comum a outros tumores; da mesma forma, é malignidade com longa fase precursora, onde o seu tratamento impede a evolução até os estágios de invasividade; além disto, sua particular etiologia, centrada no *papilomavírus* humano, o faz semelhante à doença sexualmente transmissível.¹

Por outro lado, para seu controle, exige-se um sistema de saúde organizado para o rastreio das portadoras de lesões precursoras e o correto tratamento antes da evolução da doença; a ausência dos sintomas, mesmo nas fases avançadas, poderá retardar a procura por auxílio e, além disto, carrega consigo o comum preconceito e vergonha das lesões genitais.¹

O estudo da prevenção do câncer do colo uterino permite, como se verá a seguir, uma abordagem que inicia nos aspectos moleculares e celulares, passa pela vulnerabilidade social da pobreza e desassistência até atingir as relações internacionais do comércio de produtos para saúde.

Já se pode admitir que o câncer do colo uterino é uma doença da pobreza e resumidamente pode ser considerado como uma doença da falta de cidadania possuindo conexões conforme a figura 1.²

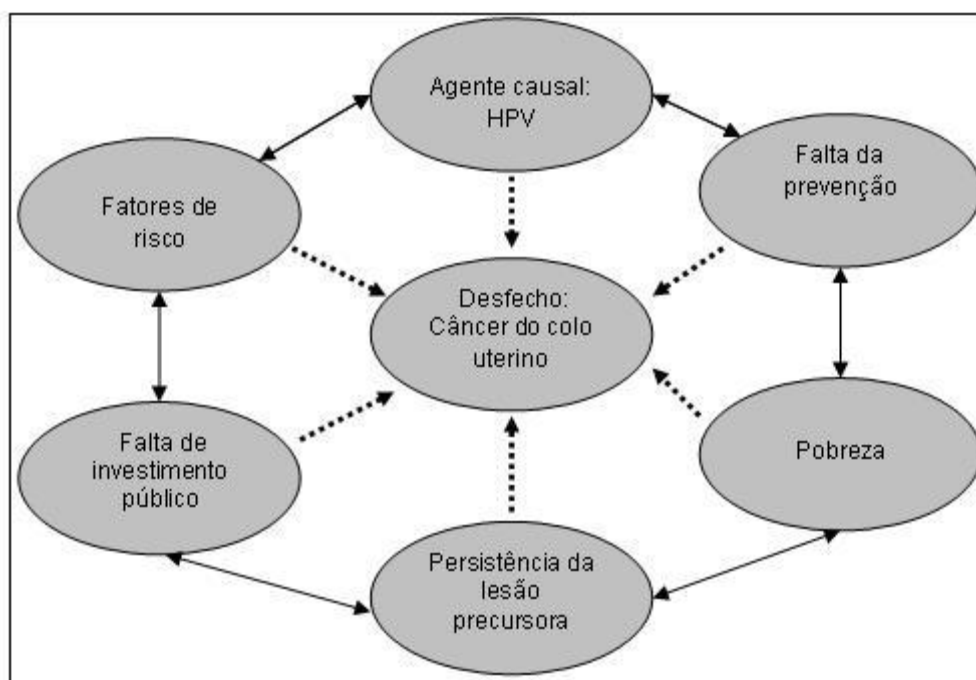
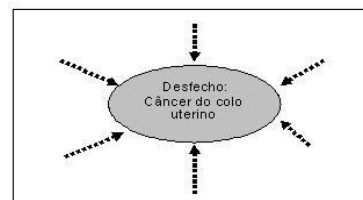


Figura 1: Câncer do colo uterino e suas relações

2 Revisão da literatura



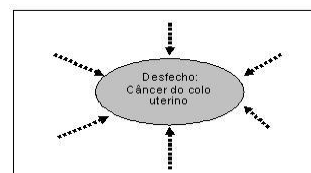
O câncer cervical foi a terceira malignidade mais comum entre as mulheres durante o ano de 2008 com aproximadamente 529.000 novos casos no mundo. Entretanto, na avaliação por regiões do planeta, verificou-se que 85% dos novos casos deste tumor ocorreram em regiões denominadas como *em desenvolvimento*. Regiões como a África, Ásia central e do sul além da América do Sul, apresentaram, em 2008, incidências superiores a 24 casos para cada 100.000 mulheres.³

Porém, na avaliação da mortalidade por câncer cervical durante o ano de 2008 que se destacam as diferenças entre as regiões do planeta. Enquanto as regiões denominadas de *desenvolvidas* apresentaram 76.000 novos casos com 33.000 mortes; aquelas regiões denominadas de *em desenvolvimento*, apresentaram 453.000 novos casos com 241.000 mortes.³

No continente americano, quando se compara a situação dos Estados Unidos da América e Canadá com a América Latina e Caribe, verifica-se que, durante o ano de 2008, o câncer cervical foi o 12º mais encontrado entre as mulheres da região *mais desenvolvida* e, na região mais pobre do continente, foi a segunda malignidade mais diagnosticada; as mortes foram de 31.700 mulheres na região menos desenvolvida e 4.400 na região mais desenvolvida.³

A situação do Brasil não se encontra alentadora: verifica-se que, durante o ano de 2008, o câncer cervical ocupou a 2ª posição em incidência entre as malignidades da mulher com 24.500 novos casos levando a 11.000 mortes. Além disto, verificou-se durante o ano de 2010, o câncer do colo uterino ocupando posição de destaque no Brasil com incidências variando de 12 até 31 casos para cada 100.000 mulheres nas diferentes regiões do país.^{3;4}

2.1 Tipos tumorais



Os principais tipos tumorais diagnosticados em colo uterino são o carcinoma escamoso, ocorrendo em aproximadamente 80% dos casos e o

adenocarcinoma do colo que ocorre em outras 15% das vezes; o restante das malignidades cervicais são os carcinomas adenoescamosos seguidos do carcinoma neuroendócrino que perfazem 5% das neoplasias cervicais.^{5,6}

Esta divisão deve-se ao aspecto que a doença apresenta ao exame histológico ao formar ninhos ou “línguas” de epitélio maligno invadindo o estroma cervical (carcinoma escamoso); apresentar aspecto similar a glândulas compostas de células malignas que invadem o estroma cervical (adenocarcinoma); apresentar-se com aspecto intermediário entre estes dois (carcinoma adenoescamoso) ou apresentar-se como um carcinoma de pequenas células do pulmão (carcinoma neuroendócrino).⁶

O estadiamento do câncer cervical foi atualizado durante o ano de 2009 com a exclusão do estágio zero, visto ser patologia tradicionalmente tratada com a cirurgia conservadora de conização, similar à neoplasia intraepitelial de grau 3.⁷

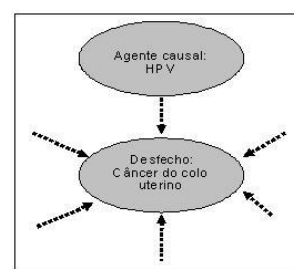
Quanto aos tumores macroscopicamente diagnosticados, mesmo aqueles com extensão superficial exclusiva, são estadiados no grupo 1B. No grupo 1A permanecem os tumores diagnosticados exclusivamente pela microscopia. Quanto ao estágio 2, permanecem os tumores que envolvem os 2/3 superiores da vagina ou paramétrio, mas não atingem a parede pélvica. Os demais estádios não sofreram alterações. No anexo H se encontra o estadiamento preconizado pela FIGO.⁷

O tratamento dos diferentes tipos de tumores cervicais não diferirá dentro dos respectivos estádios tumorais. Entretanto, deverá ser lembrada a diferença entre os tumores considerados microinvasivos da variante adenocarcinoma com os escamosos; o primeiro, de difícil diagnóstico e

comumente albergando porções de franca invasão do estroma cervical, contrariamente ao segundo, mais facilmente diagnosticado e reprodutível na avaliação da peça cirúrgica definitiva. ⁵

Durante o estadiamento dos tumores cervicais, o volume da lesão, o envolvimento do espaço linfovascular cervical, o comprometimento dos linfonodos de drenagem ou a metástase à distância, serão considerados como fatores prognósticos independentes com impacto na morbidade da própria doença ou do tratamento empregado (radio e/ou quimioterapia adjuvantes), impacto na recidiva do tumor e na mortalidade. ⁵

2.2 Etiologia



A relação do papilomavírus humano com o câncer da cérvix é há muito conhecida. Desde os trabalhos pioneiros de Shope, que em 1933 estudou a relação entre o papilomavírus e lesões em coelhos, até os dias atuais, que o papilomavírus vem sendo implicado na gênese da maioria das lesões neoplásicas do colo uterino. ⁸

Curiosamente, até a década de 1970, a infecção pelo papilomavírus humano era considerada como trivial com a formação de lesões verruciformes, proliferações epiteliais benignas nos epitélios de superfície e talvez nos epitélios considerados profundos. ⁹

Em 1976 Meisels e Fortin relataram um tipo celular novo onde havia um vazio periférico ao núcleo chamado de *halo cells* ou coilócito, considerado, na época, como patognomônico da infecção pelo papilomavírus humano (HPV). Logo após, Lutz Gissmann identificou o papiloma 6 e 11 de condilomas genitais. ⁹

Já em 1983, usando o conhecimento diagnóstico das lesões condilomatosas, no Centro de Pesquisa em Cancer da Alemanha, o pesquisador Harald Zur Hausen suspeitou de uma conexão entre lesões neoplásicas do colo uterino e o HPV o que deflagrou a pesquisa para a descoberta dos HPV 16 e 18 em grande parte das lesões neoplásicas do colo uterino. ⁹

O reconhecimento desse trabalho pioneiro rendeu ao pesquisador, durante o ano de 2008, o premio *Nobel* de medicina na companhia de Françoise Barré-Sinoussi e Luc Montagnier pela descoberta do HIV, o vírus que causa a Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA). ⁹

O HPV pertence à família dos DNA vírus, havendo mais de cem subtipos descritos com aproximadamente dezoito sendo considerados oncogênicos. Entre estes, destacam-se os subtipos 16 e 18 como originadores de lesão cervical precursora e neoplásica. ¹⁰

Os HPV^s são constituídos de um capsídio formado pelas proteínas L1 e L2 (maior e menor respectivamente) que contém um genoma formado por dupla fita de DNA. O genoma viral é dividido em três partes: aproximadamente 2/3 codificam as proteínas iniciadoras E1 até E7 (*early*) e os 1/3 restantes codificam as proteínas estruturais do capsídio L1 e L2 (*late*) além dos genes não codificadores LCR (*long control region*) e URR (*upstream*

regulatory region) necessários para a replicação do DNA e sua transcrição. Tais processos ocorrem na dependência da célula epitelial cervical ou queratinócito. ¹¹

O vírus HPV infecta as células basais epiteliais e libera seu genoma para o núcleo celular onde inicia o processo de expressão das proteínas E1 a E7 (*early*) que mantém a célula em estado de proliferação continuada. Destaca-se que tal processo se dá acima da membrana basal epitelial e, portanto sem estímulo direto do sistema imune que se localiza na profundidade do epitélio cervical.^{7,11}

De acordo com o comportamento biológico, os diferentes subtipos de HPV poderão ser divididos em alto risco (*high-risk ou HR-HPV*) e baixo risco (*low-risk ou LR-HPV*) oncogênico. O comportamento biológico refere-se à capacidade do HPV em induzir a produção de fatores pela célula hospedeira, conduzindo a um estado de mitose desregulada e instabilidade genética. Há consequente mutação do DNA e precariedade no reconhecimento imunitário dessas células mutantes, com sua subsequente proliferação. ¹²

A produção das proteínas E6 e E7 pela célula hospedeira cervical, quando integrada ao HR-HPV, será o evento iniciador que culminará na imortalização celular e pobre reconhecimento de células geneticamente modificadas. O p53, considerado o *guardião do genoma*, é inativado pela E6 permitindo a proliferação de células mutantes; já a E7 inativa a pRb (proteína do retinoblastoma) que normalmente atua como “freio” na progressão do ciclo mitótico celular. ^{13;14}

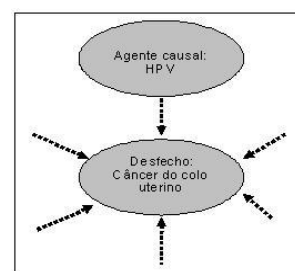
Este processo se desenvolve em um grupo de células susceptíveis da zona de transformação do colo uterino. Na mulher jovem, são células que se

encontram em mitose continuada e reepitelizando extensas áreas de epitélio colunar. Este processo é fisiológico e denominado de metaplasia escamosa. Tal fato justifica a *preferência* do HPV pelos tecidos cervicais e não pelos tecidos vaginais, vulvares ou penianos.¹⁵

A infecção cervical pelo HPV é considerada como fator necessário para o desenvolvimento da lesão escamosa cervical além da maioria das lesões glandulares precursoras ou neoplásicas; entretanto, grande parte das mulheres infectadas pelo HPV não desenvolverão lesões cervicais.¹⁵⁻¹⁷

A infecção é facilmente transmitida pela via sexual e uma resposta imunitária efetiva, principalmente encontrada entre as mulheres mais jovens, irá negatar a presença viral em um tempo médio de 8 a 24 meses¹⁸⁻²⁰. Estudos sobre persistência e *clearance* viral, mostram que em 90% dos casos ocorrerá a negatização em até dois anos sem o desenvolvimento de lesões; a persistência do HPV 16 por mais de sete anos foi relacionada à presença de lesão precursora de alto grau.^{21,19}

2.2.1 Epidemiologia e a história natural do HPV



A maioria das mulheres serão infectadas pelo HPV em alguma fase da vida e, na avaliação da prevalência mundial, os países *desenvolvidos* terão 8,4% das mulheres infectadas em dado momento. Esta proporção será maior

nos países *em desenvolvimento*, chegando a 13,4%. O subtipo 16 será o mais encontrado, em 2,6% das vezes, seguido pelo subtipo 18. ^{22;23}

A prevalência mundial, de acordo com as faixas etárias, mostra *pico* de infecção pelo HPV entre as mulheres jovens, podendo ultrapassar os 30%, quando acompanha a sexarca. Segue-se um declínio da prevalência até a pré-menopausa. A seguir, já durante a menopausa, ocorre um novo aumento da prevalência devido à mudança no comportamento sexual ou reativação da infecção latente pela diminuição da resposta imune. ^{24;25}

A presença do HPV, entre as lesões precursoras cervicais de alto grau, poderá ultrapassar os 85% de acordo com o método de detecção empregado. O subtipo 16 será encontrado em aproximadamente metade dos casos, seguindo-se dos demais subtipos de alto risco: 18 e 58 na América Latina, subtipo 6 e 18 na América do Norte e os subtipos 31 e 33 na África e Europa. ^{26;27}

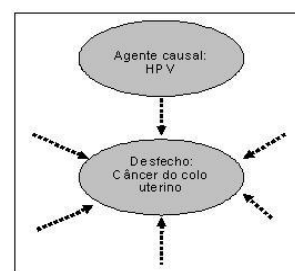
Entre os casos de câncer cervical, o HPV será encontrado em proporções que poderão alcançar os 100% onde se destacam os subtipos 16 e 18 em 70% dos casos, seguidos pelos subtipos 33, 45, 31, 58, 52 e 35. ²⁸

Os casos de ausência de alteração citológica e presença do HPV em fundo vaginal foi avaliada no ano de 2007. A prevalência média do vírus entre mulheres com citologia normal foi de 10,4%. Destacando-se a África com 22,1%, a América Central e México com 20,4% e a América do Norte com 11,3%. Os autores estimaram médias aproximadas de 291 milhões de mulheres como portadoras do HPV, nas quais 32% possuirão os subtipos 16, 18 ou ambos. ²³

Espera-se que a presença do HR-HPV em fundo vaginal indique a concomitância de alteração citológica precursora em apenas 30% dos casos e, quando utilizado o diagnóstico de qualquer HPV (quando são incluídos os subtipos não oncogênicos), esta proporção poderá aumentar para 60% dos casos.²³

Quanto à carga viral presente em fundo vaginal, estudo prospectivo com 2.000 mulheres infectadas pelo HPV e acompanhadas por sete anos concluiu que apenas a carga viral alta do subtipo 16 estará associada ao risco aumentado de lesão de alto grau no futuro. Outros subtipos virais de alto risco e os subtipos de baixo risco não foram associados ao desenvolvimento de lesão. Os autores destacam que não há *ponto de corte* para a carga viral denominada *de risco*, há grande variabilidade nos métodos de diagnóstico viral e das suas quantidades em fundo vaginal resultando em difícil aplicação na prática diária.²⁹

2.2.2 Lesões precursoras cervicais e o HPV



Pelo fato de ser encontrado em grande número de mulheres jovens, o diagnóstico positivo do HPV não poderá ter o mesmo *peso* quando comparado com as mulheres mais idosas. Entre estas, o diagnóstico do vírus de alto risco oncogênico poderá significar persistência viral e lesão precursora cervical.³⁰⁻³²

O entendimento da história natural do HPV no colo uterino é imprescindível, em nível populacional, para que se estabeleça um balanço entre o teste suficiente para prevenir o câncer cervical sem o alto custo e alta morbidade do *overscreening*.²⁰

A recomendação do início do rastreamento citológico cervical ocorrer, em nível populacional, após os vinte anos de idade será pelo fato da infecção pelo HPV ocorrer entre as adolescentes, atingir o pico na terceira década da vida e após há decréscimo no número de casos da infecção. Permanecem remanescentes apenas aqueles casos de persistência com alto risco de evolução das lesões até o alto grau.³³

Da mesma forma, entre as adolescentes, espera-se a regressão de lesões intraepiteliais de baixo grau quando da negativação do HPV no colo uterino. Em um estudo que incluiu 187 adolescentes com lesões intraepiteliais de baixo grau, o tempo médio de regressão da lesão foi, em 60% das vezes, no primeiro ano de observação e 90% em 36 meses. A análise multivariada do estudo mostrou que apenas o status do HPV se correlacionou com a regressão das lesões, não havendo relação com uso de contraceptivo, tabagismo e drogadicção, comportamento sexual ou presença de outra doença sexualmente transmitida.³²

Esta possibilidade de regressão das lesões intraepiteliais autoriza condutas menos agressivas entre as adolescentes evitando a cascata de eventos após o diagnóstico viral ou citológico positivo: desnecessários tratamentos ablativos ou destruidores do epitélio cervical entre lesões com potencial de regressão.³²

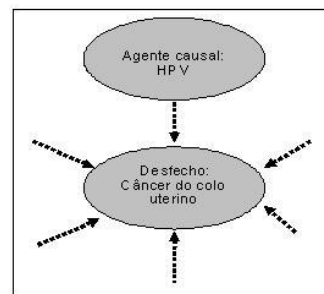
O risco de complicações na gestação futura foi abordado em publicação durante o ano de 2004 entre mulheres submetidas à conização, *leep* (*loop electrosurgical excision procedure*) ou ablação por laser no passado, procedimentos comuns para o tratamento de lesões precursoras cervicais.³⁴

Nesse artigo, concluiu-se que não houve aumento significativo do risco de trabalho de parto pré-termo ou nascimento prematuro; entretanto, o risco de rotura prematura das membranas (ROPREMA) foi significativamente aumentado entre as tratadas com conização a laser ou LEEP. Além disto, quando o tecido cervical excisado ultrapassou os 1,7cm, o risco de ROPREMA aumentou em três vezes.³⁴

Entretanto, durante o ano de 2008, publicação no periódico BJOG sobre os efeitos das conizações sobre o futuro reprodutivo das pacientes, concluiu que o risco de morte perinatal aumentou, entre as submetidas a uma conização, em 2,8 vezes. Resultado intimamente ligado ao aumento de 4,9 vezes do risco de recém-nascido prematuro extremo. Quando submetida a duas conizações no passado, há aumento do risco de nascimento prematuro em 10 vezes.³⁵

Da mesma forma, revisão da literatura que incluiu dezenove estudos retrospectivos e uma coorte prospectiva avaliou os efeitos dos tratamentos curativos para as lesões cervicais precursoras. O autor conclui que, tanto entre as submetidas à conização a frio (bisturi convencional) ou *leep*, houve significativamente mais mortalidade perinatal e parto pré-termo extremo.

2.2.3 Imunidade ao vírus HPV



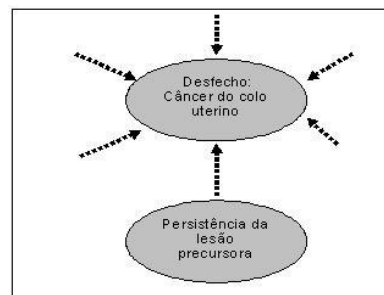
Já é bem conhecida a necessidade da infecção persistente do HPV de alto risco oncogênico no epitélio metaplásico do colo uterino para o processo de carcinogênese. Diversos fatores predisponentes foram implicados para evolução das lesões precursoras ou sua regressão, sendo fatores celulares e humorais.^{37;38}

Sabe-se que a detecção de anticorpos anti-HPV no epitélio cervical está inversamente relacionada à presença dos HPV^s de alto risco oncogênico além das lesões precursoras do colo. A IgA secretora anti-HPV poderá ser detectada entre 4 a 8 meses prévios ao diagnóstico das neoplasias intraepiteliais; entretanto a ausência de parâmetros uniformes para o diagnóstico humoral cervical, ainda tornam este método diagnóstico não prático na rotina oncológica.³⁹

Quanto à imunidade celular, sabe-se que nos tecidos subepiteliais da mucosa cervical existem linfócitos T precursoros que, sob estímulo adequado, iniciam sua diferenciação em linfócitos T *helper* ou T citotóxicos (CTL). Esta diferenciação será o elemento inicial que deflagrará a cascata de eventos celulares e moleculares que conduzem à regressão ou persistência da infecção pelo HPV. Caso o processo de diferenciação dos linfócitos T precursoros ocorrer em ambiente de mínimo estímulo inflamatório (comum na

infecção pelo vírus HPV) levará a resposta imunitária inadequada no epitélio cervical.⁴⁰

2.3 Persistência das lesões precursoras: imunidade celular



Os fatores que determinam quais pacientes terão persistência ou regressão da presença viral no colo uterino ainda é pouco entendida. Entretanto a persistência do HPV nos tecidos cervicais parece ter comportamento semelhante à persistência do vírus da hepatite B ou C no tecido hepático ou do *Helicobacter Pylori* no tecido gástrico, reconhecidamente agentes relacionados com a transformação neoplásica.⁴¹

O câncer cervical é o resultado da persistência do HPV sem a devida resposta imunitária celular e humoral, levando a um estado de imortalidade das células mutadas e sua expansão clonal.³⁹

O vírus HPV codifica duas classes de proteínas, as *E-proteins* e as *L-proteins*, que são componentes estruturais do capsídeo. A expressão destas proteínas é associada com o grau de diferenciação das células que serão infectadas no hospedeiro.^{37;38}

Os queratinócitos basais do epitélio cervical são células de revestimento com capacidade de mitose e, após infetados pelo HPV, é iniciada a produção das proteínas *early* do vírus. Este mecanismo, por não levar à lise

da célula, não despertará o sistema APC (*antigen-presenting cells*) ou células de Langerhans cervicais para apresentação dos antígenos virais ao sistema imunitário local. Além disto, por não haver viremia, há ausência ou discreto estímulo sistêmico à produção de anticorpos. ⁴²

As células de Langerhans, após ativação pelo mecanismo inflamatório, por exemplo, deflagram uma cascata de hiperexpressão, na superfície celular, de moléculas do complexo maior de histocompatibilidade (HLA) e a proliferação de células T citotóxicas nos linfonodos pélvicos e epitélio cervical. Esta hiperexpressão é mediada por citoquinas e interleucinas. ⁴²

Sabe-se que, nos casos de infecção persistente pelo HPV em superfícies cutâneas, há número reduzido de células de Langerhans e apresentando morfologia alterada além da distribuição errônea no epitélio por provável ação tóxica do vírus diretamente na célula de defesa. ⁴²

Casos de lesão cervical precursora com regressão espontânea, verifica-se a presença, no estroma do epitélio, de linfócitos T citotóxicos CD4 preferentemente quando comparado com os pares CD8; contrariamente, casos de evolução das lesões precursoras para alto grau ou câncer, há preferência dos CTL^s tipo CD8 e CD45^{RO+}. Quando avaliada a distribuição dos CTL^s no estroma epitelial, a formação de estrutura organizada tipo pseudo-folicular com raros CTL^sCD4 e abundantes CD8 estarão mais presentes em lesões precursoras de alto grau. ⁴³

Quando se avaliam os linfócitos T-CD4 em casos de câncer cervical, verifica-se que nos linfonodos pélvicos, linfócitos tumores infiltrados (TIL) e linfócitos periféricos sanguíneos (PBL^s), se encontram comumente como células reativas às proteínas E6 e E7 dos vírus HPV 16 e 18; entretanto,

são linfócitos subativados num contexto de baixa expressão das moléculas do HLA, onde se destaca as HLA-DQ e HLA-DP.⁴⁴

Quanto à correta ativação dos linfócitos T-CD4 no estroma da lesão levando à regressão da infecção pelo HPV, parece que, quando deflagrada por citocinas da classe Th1 e Th2, ocorreria resposta eficaz contra epítomos E2, E7 e principalmente E6 dos vírus HPV, conduzindo ao *cleaning* viral.^{45;46}

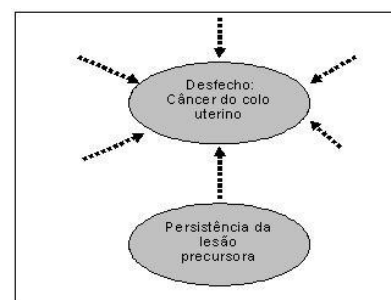
Outro grupo celular envolvido na resposta imune é o das células dendríticas, que existem no estroma cervical. Sabe-se que são células com a capacidade de captura e processamento de antígenos para futura apresentação e diferenciação dos linfócitos T e B locais; além disto, são células com capacidade migratória aos linfonodos pélvicos e secreção de citocinas para o início da cascata imune do colo.^{45;46}

Caso o queratinócito infectado pelo vírus HPV expresse moléculas reatogênicas do complexo HLA, principalmente da classe 1 na sua superfície, as células dendríticas, juntamente com as células do complexo APC (Langerhans), poderão ativar corretamente os linfócitos T-CD4 da lesão com possibilidade de regressão da infecção pelo HPV.^{45;46}

Entretanto se sabe que a disrupção dos genes sintetizadores das moléculas do complexo HLA-classe 1 no queratinócito é uma das peculiaridades dos vírus HPV de alto risco oncogênico. Além disto, se sabe que os efeitos protetivos inatos à infecção persistente pelo HPV poderão estar presentes entre pacientes que não expressam a molécula HLA-B7 na superfície dos queratinócitos, com maior chance de *cleaning* viral espontâneo.

Já os linfócitos tumor infiltrados (TIL) são células do sistema imune que, corretamente proliferados e infiltrados no estroma da lesão precursora cervical, poderão conduzi-la à regressão. Nos casos de lesões mediadas pelo HPV, verifica-se que os TIL^s estarão funcionalmente inibidos e sem a habilidade de expansão clonal, provavelmente pela mínima expressão da interleucina 2R^{-alfa}.⁴⁷

2.3.1 Persistência das lesões precursoras: imunidade humoral



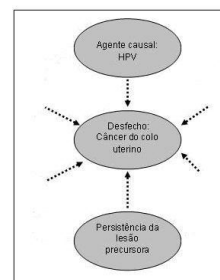
Quanto à imunidade humoral nos casos de câncer cervical, acredita-se que a imunoglobulina A secretora (IgA-S) e a IgG seriam ineficazes em impedir a expansão da infecção pelo HPV mesmo com a produção inicial de antígenos tumorais imunogênicos. O IgA-S tem sua expressão máxima em aproximadamente quatro a oito meses antes do diagnóstico da lesão precursora cervical e a presença de IgG ocorre principalmente nos casos de lesão precursora de baixo grau e regredindo conforme a evolução das atipias para o alto grau ou câncer. Fato esperado devido ao decréscimo da imunogenicidade das lesões precursoras conforme sua progressão até o câncer.⁴⁸⁻⁵⁰

Outra tática do HR-HPV para o escape da imunidade humoral é a integração com interrupção dos genes sintetizadores do sistema HLA, gerando

genótipos aberrantes na superfície celular mutante. A consequência será a dificuldade do reconhecimento imunitário humoral pelos TIL^s e persistência da célula transformada.³⁷

Da mesma forma, as variações genéticas do HLA entre as células infectadas pelo HR-HPV, poderão influenciar na resposta imunitária humoral, onde se destacam as portadoras da variação HLA-B7⁽⁺⁾ com tendência à persistência viral em oposição as HLA-B7⁽⁻⁾, onde há tendência ao *clearance* viral imunitário.³⁷

2.4 Vacinação anti-HPV



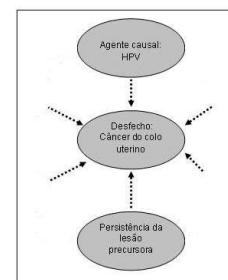
Durante os anos de 1991 a 1993, estudos desenvolvidos no Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos da América além das Universidades de Rochester, Georgetown e Queensland, resultaram na descoberta de pequenas *virus-like particles* ou VLP^s, derivadas das proteínas tardias (*late*) L1 e L2 do papiloma vírus humano. Além disto, tais VLP^s poderiam deflagrar respostas imunitárias na forma de anticorpos neutralizantes para o desenvolvimento futuro de vacinas.⁵¹

O princípio da vacinação contra as infecções pelo HPV parte do princípio que as respostas imunitárias, tão discretas após a infecção selvagem dos tecidos, poderia ser magnificada pela inoculação periférica dos VLP^s

associados a adjuvantes.⁵²

Os anos que se seguiram à descoberta das VLP^s dos HPV^s foram de intensa pesquisa médica visando à produção de uma vacina viável contra os subtipos responsáveis pelas lesões genitais e catalisada pelo enorme mercado comercial que se abriria em caso de sucesso na prevenção de doenças derivadas da infecção pelo HPV.⁵²

2.4.1 Desenvolvimento das vacinas anti-HPV



Durante o ano de 2006, o *Food and Drug Administration* dos Estados Unidos da América liberou para comercialização a primeira vacina visando à prevenção da infecção pelo HPV chamada comercialmente de Gardasil[®] e fabricada pela empresa farmacêutica multinacional *Merck*. Logo após, também foi liberada a vacina denominada de Cervarix[®] produzida pela concorrente *Glaxo*.⁵³

Durante o ano de 2009, a *World Health Organization* reconhece a importância do câncer do colo do útero e outras doenças relacionadas com o HPV e recomenda o uso da vacinação de rotina, desde que a prevenção do câncer cervical seja uma prioridade de saúde pública, a introdução da vacina seja programaticamente viável e o financiamento seja sustentável. Da mesma forma, deverá ser levada em consideração a eficácia *versus* custo da estratégia em cada país ou região.⁵⁴

São vacinas produzidas por técnica DNA molecular recombinante consistindo unicamente em VLP^s da proteína capsídica L1 do vírus HPV combinada com diferentes adjuvantes. Tanto o Gardasil[®] quanto o Cervarix[®] estão indicados em esquemas vacinais intramusculares de três doses, conservados sob refrigeração e possuindo apenas efeitos profiláticos e não terapêuticos.^{52;55}

A proposta da vacina Cervarix[®] é a proteção contra a infecção pelos vírus de alto risco oncogênico 16 e 18, ao passo que a Gardasil[®] é para a proteção contra os mesmos vírus além dos subtipos prevalentes nos condilomas genitais ou HPV 6 e 11.⁵⁶

Há diferenças entre as vacinas, pois o Gardasil[®] que contém L1-VLP^s da proteína capsídica dos HPV^s 6, 11, 16, 18 nas seguintes proporções 20, 40, 40, 20 microgramas; já a Cervarix[®] possui VLP^s contra os HPV^s 16 e 18 nas proporções 20, 20 microgramas. Outra diferença são os coadjuvantes: no Gardasil[®] há 225mcg de hidroxifosfato de alumínio e na Cervarix[®] há 500mcg de hidróxido de alumínio associado a 50mcg de lipídio A monofosforilado (MPL).⁵²

Os sais de alumínio, presentes em ambas as vacinas, induzirá a resposta tipo Th2 com a consequente resposta humoral vacinal; quanto ao lipídio A monofosforilado presente no Gardasil[®], há a vantagem de estimular o sistema Th1 que apresenta efeitos terapêuticos preferenciais pela resposta celular mediada. As escalas de uso do Gardasil[®] são de zero, dois e seis meses; já a Cervarix[®] é zero, um e seis meses.⁵⁵

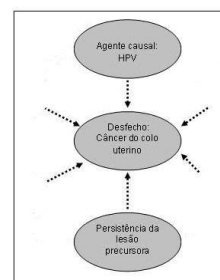
Quando uma L1-VLP dos HPV de alto risco oncogênico 16 ou 18 é depositada em músculo periférico, há inicialmente acesso as células do APC

do local além da drenagem aos linfonodos regionais e ativação da resposta imune. A associação de adjuvantes amplifica e modula a imunogenicidade intrínseca do antígeno.⁵⁵

Na maioria das vacinas, a imunidade protetiva é induzida pela ativação de linfócitos T-CD4/Th2 que auxiliam as células B a se diferenciarem em células plasmáticas e células B de memória. O *signal 1* da imunidade protetiva, mediada pelo adjuvante, é a ativação do receptor da célula T local. Concomitantemente, há a coestimulação de moléculas (ou *signal 2*) que resultam na produção de citocinas pró-inflamatórias nos APC^s do local da inoculação (ou *signal 3*).⁵⁷

Nos casos de infecções pelo HPV de alto risco oncogênico, os *sinais 2 e 3* serão gerados pelo reconhecimento dos produtos virais, ao passo que na vacinação, os sinais 2 e 3 serão pelo adjuvante.⁵⁷

2.4.2 Eficácia da vacinação Anti-HPV



A eficácia das vacinas comercialmente disponíveis foi testada em diversos estudos onde se destacam GSK-001/007 que utilizou a vacina comercializada pela Glaxo ou Cervarix[®] em 1.113 participantes com seguimento por quatro anos; o Merck-007, que utilizou a vacina comercializada pela Merck ou Gardasil[®] em 552 participantes com seguimento por cinco anos.

Dois grandes estudos multicêntricos e randomizados denominados de “PATRICIA” (*papilloma trial against câncer in young adults*) que utilizou o Cervarix[®] em 18.644 participantes com seguimento por quinze meses além do “FUTURE” (*females united to unilaterally reduces endo-ectocervical disease*) que utilizou o Gardasil[®] em 17.622 participantes divididas em duas fases ou “FUTURE 1” e “FUTURE 2” que, em conjunto, seguiram as participantes por seis anos.⁵²

Os estudos apresentam diferenças nas análises e nos recrutamentos das participantes. Quando se avaliam os grupos denominados de ATP (*according-to-protocol*), que são participantes idealmente recrutadas e tratadas, verifica-se que, no estudo “PATRICIA” eram aquelas soronegativas para os HPV^s 16/18 e, no estudo “FUTURE”, eram aquelas negativas para os mesmos vírus nas secreções genitais. No GSK001-007, o grupo ATP deveria ser soronegativo também para outros HPV^s de alto risco oncogênicos durante o recrutamento. Em todos os estudos, a vacinação do grupo ATP foi completa com as três doses preconizadas pelos fabricantes.^{52;56}

Outra diferença é verificada nos chamados *end-points* ou desfecho das vacinas; enquanto o estudo “PATRICIA” comparou, entre casos e controles, a possibilidade de lesões intraepiteliais de alto grau secundárias aos HPV^s 16 e 18, o estudo “FUTURE 1” fez a mesma comparação incluindo as lesões de baixo grau secundárias aos vírus 16 e 18 somadas às lesões genitais devidas aos subgrupos 6 e 11. Já o desfecho dos estudos GSK-001/007 e Merck-007 eram a infecção persistente pelos vírus cobertos pelas VLP^s vacinais.⁵²

Quanto ao número de parceiros sexuais relatados, sabidamente fator de risco para as infecções pelos HPV^s, o estudo “PATRICIA” recrutou voluntárias com histórico máximo de seis parceiros; já o estudo “FUTURE”, recrutou aquelas com histórico máximo de quatro parceiros.⁵²

Na avaliação da titulação de anticorpos em sangue periférico, verificam-se diferenças que impedem a comparação dos estudos em relação às quantidades necessárias para proteção eficaz. Nos estudos utilizando o Gardasil[®], a formação dos anticorpos foi avaliada pela ligação competitiva contra um tipo unitário de anticorpo pelo uso do método denominado de Luminex; já nos estudos com Cervarix[®], o uso do método ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) foi o titulador das quantidades periféricas de anticorpos.⁵²

Genericamente, a vacinação completa pelos produtos comerciais citados leva a formação de anticorpos específicos na grande maioria das participantes e suas titulações apresentam semelhante perfil: concentração máxima de anticorpos no mês seguinte à terceira dose, seguido de um declínio progressivo nas concentrações nos doze meses seguintes e estabilização das concentrações durante os diferentes seguimentos.^{56;58;59}

Da mesma forma, durante os seguimentos, ambas as vacinas apresentaram títulos periféricos maiores do que aqueles verificados após as infecções pelos diferentes HPV^s selvagens. Destaca-se na avaliação do esquema vacinal com Gardasil[®] que, durante o pico de anticorpos gerados na terceira dose vacinal, em 30% das pacientes houve título vacinal anti-HPV18 aproximando-se do limiar de detecção do método Luminex e muito próximo às quantidades geradas pela infecção selvagem pelos HPV^s.⁵⁶

A análise final do estudo “PATRICIA” foi publicada no periódico Lancet durante o ano de 2009 com os resultados obtidos no quarto ano de *seguimento* e que estratificou os desfechos de acordo com os grupos TVC ou *total vaccinal cohort*; o TVC-E ou *total vaccinal cohort to efficacy*; o ATP-E ou *according to protocol for efficacy* e TVC-naive ou *total vaccinal cohort naive*.⁵⁹

O grupo TVC incluiu mulheres que receberam ao menos uma dose da vacina, foram avaliadas ao menos uma vez no seguimento e, durante o recrutamento, não foi considerada a citologia cervical de base ou a prévia infecção pelo HPV. Já o grupo TVC-E incluiu mulheres que receberam ao menos uma dose da vacina e tinham citologia normal ou baixo grau durante o recrutamento.⁵⁹

Na avaliação em conjunto desses dois estratos, a proteção obtida contra os NIC2 foi de 31,5% e, contra o NIC3, foi de 33,4% quando considerados todos os subtipos virais associados às lesões. O melhor resultado obtido nestes dois grupos foi a proteção de 53% das mulheres contra NIC2 quando a lesão era secundária aos vírus 16 e 18, alvo da vacina utilizada no estudo.⁵⁹

O grupo ATP-E incluiu mulheres que receberam as três doses vacinais e possuíam citologia normal ou baixo grau durante o recrutamento. Quando avaliados os desfechos neste grupo, verifica-se a ocorrência de sessenta casos de NIC2 relacionados ao HPV 16 ou 18, sendo dois no braço vacina resultando em eficácia vacinal de 92%; já a ocorrência de doze casos de NIC3, sendo dois no braço vacina, resultou em eficácia vacinal de 80%.⁵⁹

Os autores destacam que, na avaliação dos sessenta casos de NIC2 diagnosticados no seguimento do grupo ATP-E, trinta e três deles

possuíam cepas virais não cobertas pela vacina utilizada. Quando se individualizam os dois casos de NIC2 no grupo ATP-E/braço vacinal, o primeiro era constituído das cepas virais cobertas pela vacina e o segundo caso de NIC2 apresentava o HPV-52 na sua origem. ⁵⁹

O grupo TVC-Naive é aquele constituído por mulheres que receberam ao menos uma dose da vacina, tinham citologia normal no recrutamento, eram soronegativas para HPV 16/18 e o HPV-DNA era negativo nas secreções genitais para todos os quatorze subtipos de HPV de alto risco oncogênico. Neste grupo, aproximadamente 90% das recrutadas receberam as três doses recomendadas pelo fabricante. ⁵⁹

O grupo contou com 10.885 mulheres que apresentaram, durante o seguimento do braço vacina, um caso de NIC2 relacionado ao HPV16/18 e quinze casos da mesma lesão precursora e relacionado aos subtipos não vacinais. A eficácia da vacina foi de 98% e 68% respectivamente. Na avaliação dos NIC3, no mesmo braço, a vacina apresentou eficácias de 100% e 87% quando comparadas às lesões devidas aos subtipos vacinais e não vacinais. ⁵⁹

A análise final dos estudos “FUTURE 1” e “FUTURE 2”, que utilizaram a vacina quadrivalente Gardasil[®], foi publicada durante os anos de 2010 e 2011 após quatro anos de seguimento entre participantes na Europa, América do Norte e América do Sul, além da Ásia. Os desfechos dos estudos foram as lesões precursoras do colo uterino, vulva e vagina (NIC, NIV, NIVA); as lesões neoplásicas do genital e os condilomas. ^{58;60}

As participantes foram agrupadas em grupos ATP, constituído por aquelas que receberam as três doses da vacina e eram negativas nas secreções genitais para o DNA do HPV16/18 e o grupo ITT ou *intention-to-*

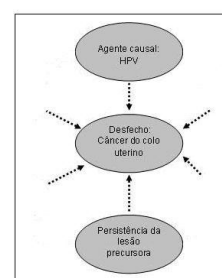
treat, constituído por participantes que receberam, ao menos, uma dose da vacina e com retorno para um *follow-up* no mínimo.^{58;60}

O acompanhamento dos títulos de anticorpos no sangue periférico mostra que houve titulações superiores no braço vacina quando comparados com o braço controle. Entre o segundo e quarto ano de acompanhamento, foram consideradas soropositivas mais de 90% das participantes para os subtipos virais HPV 6, 11 e 16. Curiosamente, neste mesmo período de avaliação, a soropositividade para o subtipo 18 foi verificada em apenas 48% das participantes.^{58;60}

Quando avaliado o desfecho *lesão cervical de alto grau ou pior* durante o quarto ano de seguimento, verifica-se que o grupo ATP apresentou eficácia vacinal de 84% ou um caso no braço vacina contra seis casos no braço controle. Na avaliação do grupo ITT, a eficácia foi de apenas 22% com vinte e um casos no braço vacina e vinte e sete casos no braço controle.^{58;60}

Quando avaliado o desfecho *lesão genital de baixo grau* verificou-se que a eficácia contra as NIC1 do grupo ATP foi de 30% e, no grupo ITT, foi de 20%. Quanto às demais lesões de baixo grau do genital, verifica-se que, no grupo ATP, a proteção contra NIV1, NIVA1 e condiloma, foram 75%, 48% e 83% respectivamente. No grupo ITT, a proteção foi inferior, com 32%, 31% e 62% respectivamente.^{58;60}

2.4.3 Críticas sobre vacinação anti-HPV



O uso da vacinação compulsória entre pré-adolescentes saudáveis que poderão desenvolver lesões lentamente evolutivas em médio a longo prazo, vem sendo alvo de críticas nos países que estão adotando a vacinação anti-HPV nas suas comunidades.⁶¹

Da mesma forma, o conhecimento de que grande parte das infecções pelos vírus HPV, incluindo os de alto risco oncogênico, apresentarão *clearing* espontâneo entre seis a doze meses da infecção inicial. Além disto, em uma avaliação de prevalência, diagnosticam-se até 10% de mulheres jovens infectadas pelo vírus e sem o desenvolvimento futuro de lesões.⁶²

É alvo de crítica também as publicações catalisadas pela indústria farmacêutica com ênfase aos resultados dos grupos de voluntários ATP que simulam um cenário ideal e dificilmente alcançado na clínica diária e que os resultados dos grupos de voluntários ITT, que mais se aproximam à realidade das comunidades, não recebe o devido destaque.⁵²

Da mesma forma tais publicações sugerem proteção eficaz após a dosagem de anticorpos no sangue periférico e, em alguns casos, a dosagem de anticorpos na secreção genital, mesmo sem o conhecimento da titulação mínima realmente eficaz contra novas infecções pelo HPV.^{52;63}

A ênfase dada à redução da incidência de lesões tipo baixo grau no colo uterino, entre mulheres jovens, e a ausência da abordagem da morbimortalidade do câncer cervical destacam a precocidade dos resultados para a tomada de decisões definitivas sobre a vacinação anti-HPV.^{61;62}

O fato da vacina não proteger contra todas as cepas virais responsáveis pelas infecções persistentes do colo uterino, não estar

estabelecida a proteção em longos períodos após a vacinação, ser de alto custo, logística complexa com três doses aplicadas na forma intramuscular e ser conservada sob refrigeração, também recebeu críticas na literatura médica.

54

Estudo publicado em 2010 e centrado na experiência canadense da vacinação compulsória destaca que a decisão governamental a favor da vacinação foi balizada por valores que vão além da evidência científica, de forma não transparente e apressada.⁶⁴

Destaca o autor que, além do custo elevado, o câncer cervical é a 11ª causa de morte naquele País e que os grupos em vacinação, meninas regularmente matriculadas nas escolas das províncias, não representam os grupos mais vulneráveis ao câncer cervical tipo imigrantes, pobres, aborígenes ou portadores de necessidades especiais. Conclui que a redução da iniquidade, principal objetivo das campanhas vacinais, provavelmente não será atingida no Canadá com o uso da vacina anti-HPV.⁶⁴

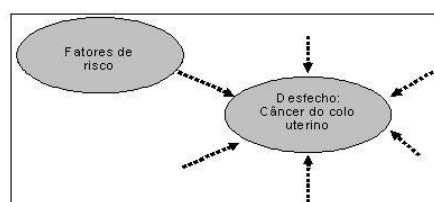
Legisladores entrevistados sobre a proposição de leis estaduais nos Estados Unidos da América sobre vacinação compulsória anti-HPV mostraram desconhecimento sobre a real eficácia da vacina e possíveis efeitos adversos; que o *lobby* da indústria farmacêutica influenciou nas decisões; que a forma injetável e em três doses não foi abordada convenientemente e que há conhecimento de que o custo médio de 320,00 dólares faz da vacina anti-HPV, a mais dispendiosa do esquema vacinal naquele País.⁶⁵

Estudo comparativo entre cobertura do rastreio citológico e vacinação anti-HPV no Japão, utilizou o modelo de Markov (comparações do

custo efetividade *versus* tempo) em diferentes cenários de aumento isolado da cobertura por citologia cervical ou associada à vacinação anti-HPV. ⁶⁶

O autor conclui que, com o aumento da cobertura por citologia cervical, entre 20% e 50%, o decréscimo de novos casos de câncer cervical seria de 45%; com o aumento da cobertura da citologia para 80%, o decréscimo nos novos casos seria de 63%. Quando adicionada a vacinação anti-HPV no cálculo, o custo da estratégia aumentaria em quatro vezes e o decréscimo na incidência do câncer cervical seria custo efetiva apenas em coberturas inferiores a 50%. ⁶⁶

2.5 Fatores de risco



A avaliação dos fatores de risco para o câncer cervical não poderá ser feita de forma unitária, visto que os diferentes tipos tumorais apresentarão fatores diferentes.

Por ser patologia mais prevalente, grande parte dos estudos centram-se na variante escamosa, apesar do adenocarcinoma cervical estar apresentando um aumento na incidência tanto relativa quanto absoluta entre os casos de câncer cervical. ⁶⁷

Tal fato poderá dever-se à difícil detecção precoce desta variante que se desenvolve preferentemente no canal cervical, local de difícil acesso à visão direta, à colposcopia ou à amostragem com as tradicionais espátulas de Ayre, preconizadas para coleta do exame de rastreio há mais de 40 anos. ^{68,69}

Da mesma forma o adenocarcinoma *in situ*, lesão precursora do adenocarcinoma, não possui consenso quanto à sua aparência histológica quando comparado com a neoplasia intraepitelial de grau três ou lesão precursora da neoplasia escamosa.⁷⁰ Vale destacar que, há menos de duas décadas, o adenocarcinoma do colo e do endométrio eram diagnosticados em conjunto como patologia única.⁷¹

Apesar de compartilharem a presença do HR-HPV em grande parte das peças de carcinoma escamoso e do adenocarcinoma cervical, verifica-se que a multiparidade e o tabagismo, intimamente relacionados com o carcinoma escamoso têm pouca ou nenhuma associação com o adenocarcinoma; Contrariamente, a obesidade, intimamente relacionada com o adenocarcinoma, tem pouca ou nenhuma associação com o carcinoma escamoso.^{72;73}

Metanálise que abordou comparativamente os fatores de risco para o desenvolvimento das duas variantes concluiu que, após a avaliação de 910 casos de adenocarcinoma com 5.649 casos de carcinoma epidermóide, apenas o tabagismo se apresentou diferentemente como fator de risco para a variante escamosa. Os demais itens pesquisados se distribuíram igualmente nas duas variantes, como o tempo de uso de anticoncepção oral, paridade e comportamento sexual.⁷⁴

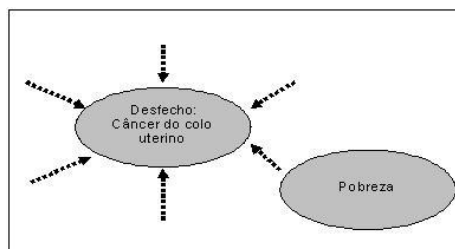
Da mesma forma, metanálise publicada durante o ano de 2007 e que avaliou os fatores de risco para as duas variantes prevalentes de câncer cervical, identificou o tabagismo associado significativamente com o subtipo escamoso; além disto, a participação rotineira no rastreamento cervical impactou na

redução do risco em ambas as variantes, porém com redução estatisticamente superior da variante escamosa quando comparada com o adenocarcinoma.⁷⁵

Quanto ao uso do contraceptivo oral (ACO), uma grande revisão sistemática que incluiu mais de 13.000 mulheres com câncer cervical das duas variantes mais prevalentes, concluiu que o risco relativo de desenvolver a doença entre usuárias de ACO, por mais de dez anos, foi de 2,2. O autor concluiu que, apesar da longa utilização do ACO estar relacionada ao câncer cervical, as implicações deste resultado na saúde pública não pode ser admitida.^{76;77}

Quanto à associação com o HPV de alto risco oncogênico, verifica-se que há discreta diferença entre os dois principais tipos tumorais cervicais. Quanto ao subtipo 18, presente em aproximadamente 15% dos casos escamosos será encontrado em 50% dos adenocarcinomas. Da mesma forma, grande parte dos adenocarcinomas possuirão o DNA dos subtipos 16 e 18 ao passo que, quando avaliada a neoplasia escamosa, há o diagnóstico dos demais subtipos virais em grande parte das peças de neoplasia estudadas.^{69;73}

2.6 Uma doença da pobreza



Em países *desenvolvidos*, o câncer cervical está presente, na maioria das vezes, entre mulheres de baixa escolaridade e renda além de grupos de imigrantes. São mulheres que, contrariamente àquelas afetadas pelo

câncer da mama, não possuem voz pública ou *lobby* político capaz de sensibilizar os sistemas de saúde locais. Além do mais, nessas comunidades, o colo do útero não é percebido como símbolo da feminilidade como a mama o será nos casos de mutilação, não provocando a mesma resposta emocional.⁷⁸

Quando pesquisados em *sites* da rede mundial de computadores os artigos médicos sobre câncer de mama ou colo uterino, há a proporção de quatro artigos publicados para as neoplasias mamárias para cada artigo abordando a neoplasia cervical.

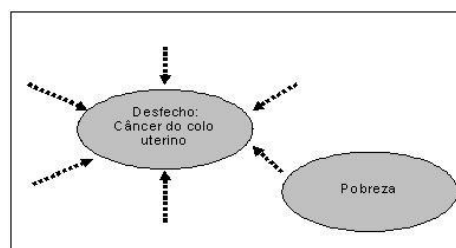
A incidência do câncer cervical pode ser quinze vezes maior quando comparados países ricos e pobres. Tal disparidade também será verificada quando se analisam incidências entre comunidades imigratórias alojadas nos grandes centros industrializados do primeiro mundo. Mulheres latino-americanas pobres que imigraram para os Estados Unidos da América carregam consigo alta incidência e mortalidade por câncer cervical.^{79;80}

Quando avaliado retrospectivamente os casos de câncer cervical de zonas urbanas na França, foi verificado que as excluídas sociais (definidas no estudo como as desempregadas ou moradoras de rua) tiveram menor participação em programas de rastreio, maior tempo para receber atenção médica após os primeiros sintomas da doença e estiveram mais presentes em atendimentos de urgência devidos à lesão cervical.⁸¹

Poucos anos de educação formal constitui risco para desenvolvimento do câncer cervical provavelmente pelo pouco acesso às informações sobre promoção à saúde, métodos de prevenção à doença, seja primária ou secundária e acesso aos tratamentos ainda na fase inicial da condição.⁸²

Sabe-se também que o número de gestações é fator de risco para as lesões cervicais. Em estudo na Costa Rica com 10.000 mulheres, verificou-se que, entre os casos de positividade para o HR-HPV, 44% dos casos de lesões precursoras ou câncer cervical podem ser atribuídos à multiparidade superior a três gestações e/ou tabagismo. ⁸³

2.6.1 Pobreza e doença



As relações entre pobreza e doença vêm sendo examinadas há muito. Já em 1951, após o término da segunda Grande Guerra, verificava-se que a diferença de expectativa de vida entre os países com maior e menor renda *per capita* poderia variar em até 30 anos. Naquela época, a expectativa de vida nos Estados Unidos da América era de 62 anos enquanto que, no Brasil era de 39 anos e na Índia de apenas 27 anos. ⁸⁴

Tanto a pobreza quanto a doença podem atuar sobre os indivíduos e as comunidades precipitando uma espiral descendente de perda do bem-estar social. ⁸⁵

Além da interação entre pobreza e doença, sabe-se que serão processos recíprocos que se sustentam nos indivíduos e nas comunidades, de difícil e lenta reversão e com risco de perpetuação entre as gerações. ⁸⁶

A pobreza está associada com a doença em diversas dimensões, onde se destacam a má nutrição, a deficiente moradia, o subemprego, o

analfabetismo além das conseqüentes estratégias de enfrentamento para sobrevivência.^{87;88}

A nutrição insuficiente com a conseqüente baixa imunidade, precipitando doenças, dificultando e alongando o processo de cura e reabilitação;

A deficiente moradia aumentando o risco de doenças diarréicas e respiratórias e com alta transmissibilidade entre os membros da família;

O subemprego ou o trabalho informal com baixa remuneração e risco de acidentes ocupacionais;

O analfabetismo, com desconhecimento dos meios de obtenção e conservação da saúde;

As conseqüentes estratégias de enfrentamento individual à pobreza catalisam o aumento da vulnerabilidade social. Aqui se destacam as doenças sexualmente transmissíveis na prostituição, os traumas por armas de fogo da violência urbana, as hepatopatias crônicas do alcoolismo ou drogas ilícitas, além de outras.^{88;89}

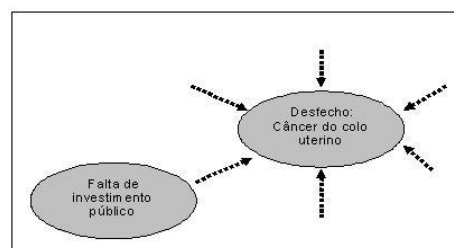
Atualmente no mundo vivem em pobreza extrema aproximadamente 1,2 bilhões de pessoas, quando se utiliza a antiga definição da sobrevivência diária com menos de um dólar. Para fins de exemplificação e quantificação, metade da população do mundo sobrevive com menos de dois dólares por dia.⁸⁹

Na moderna definição de pobreza, ou a *inacessibilidade às mínimas oportunidades de desenvolvimento individual conduzindo à exclusão do processo produtivo, da integração social e do acesso aos bens*, se encontra a realidade vivida nos países *em desenvolvimento*.²

Hart, em publicação no ano de 1971, destacou a *lei do cuidado inverso*, onde a disponibilidade do cuidado em saúde tende a variar inversamente à necessidade da população assistida. No caso das lesões cervicais, aquelas com maior risco para o desenvolvimento de lesões precursoras ou neoplásicas, são as de menor acesso aos serviços de saúde.⁹⁰

Quanto à utilização dos serviços de saúde entre habitantes de cinquenta países pobres avaliados de 1992 a 2002, verificou-se que o uso da terapia de reidratação oral foi 1,3 vezes maior entre os indivíduos ricos quando comparados com os pobres; a realização do pré-natal foi 3,1 vezes maior; o uso de contracepção 4,4 vezes maior e a assistência capacitada na hora do parto foi 4,8 vezes maior.⁸⁹

2.7 Falta de investimento público e iniquidade



Não se pode analisar pobreza como fator isolado num contexto local ou regional. A sua origem e manutenção está intimamente relacionada com relações internacionais entre países.

Globalização é definida como um processo econômico, social e cultural que se estabeleceu nas três últimas décadas do século XX e não poderá ser tomada como causadora ou mantenedora da pobreza nos países menos desenvolvidos; entretanto são países que não estão obtendo acesso aos aspectos potencialmente benéficos da globalização nos sistemas de

produção, nas finanças e nos mercados; são países expostos àqueles aspectos negativos da globalização.⁹¹

São países que se encontram marginais à globalização, exportando *commodities* (produtos brutos como os agrícolas ou o petróleo) com preços estipulados pelo mercado internacional e importando alta tecnologia e capitais voláteis e especulativos, também estipulados pelo mesmo mercado.⁹¹ Há um equilíbrio desfavorável aos países mais pobres com estagnação econômica, prejuízo social e ambiental além da consequente exaustão das reservas naturais.⁹²

É um processo que está produzindo resultados desiguais entre os países e no interior dos mesmos. Está criando riquezas, mas são muitos os que não participam dos benefícios gerados por esta riqueza. As desigualdades, inaceitáveis no ponto de vista moral e insustentáveis no ponto de vista político, vêm produzindo efeitos catastróficos entre países considerados *em desenvolvimento*.⁹³

Sobre a saúde, a globalização se manifesta pelas reformas setoriais orientadas ao mercado e preconizadas por organizações internacionais. Resultarão em mais iniquidades onde não há espaço para saúde pública ou para sua promoção; seu tema exclusivo é a atenção médica aos indivíduos e os respectivos esquemas de financiamento.⁹⁴

Além disto, a formação dos recursos humanos na área de saúde, também importados e pouco ajustados aos padrões culturais da nação ou aos sistemas nacionais de saúde, promove mais iniquidades na assistência à saúde pública.⁹⁴

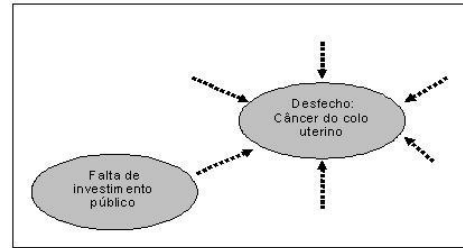
Um dos principais traços que exemplificam a saúde pública de um país são as iniquidades entre grupos e indivíduos. Iniquidade é a desigualdade no acesso e obtenção de saúde que, além de sistemáticas e relevantes, são injustas e desnecessárias.⁹⁵

Estudos têm mostrado que, ultrapassado certo limite de crescimento econômico de um país, um crescimento adicional da riqueza não irá se traduzir necessariamente em melhorias significativas das condições de saúde na região. A partir deste nível, o fator mais importante para exemplificar a saúde pública será a forma como as riquezas são distribuídas, ou obtenção da equidade.^{95,92}

A falta de equidade está presente quando se avalia a situação da saúde pública entre os países da América Latina e Caribe. Entre aqueles que desenvolveram reformas em saúde nos últimos anos, se percebe a existência de um *conflito conceitual* entre aumentar a cobertura em saúde da população e oferecimento de pacotes básicos de prestação; entre descentralização da saúde e desconcentração da atenção; entre reconhecimento da importância do recurso humano na saúde pública e o aumento do número de prestadores em serviços de saúde.⁹⁶

No Brasil, a renda dos 20% mais ricos é 26 vezes maior que a renda dos 20% mais pobres e 25% da população ativa economicamente vive com menos de dois dólares por dia.⁹⁵

2.7.1 Alocação de recursos para Saúde pública

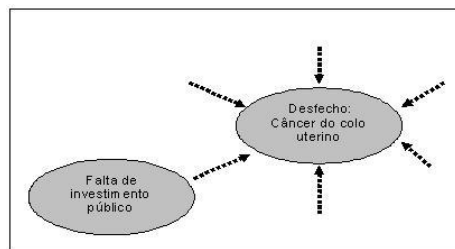


No ano de 2000, a ONU com seus países membros publicou a Declaração do Milênio que contemplava oito compromissos mundiais pelo desenvolvimento humano com visão integral. Seu quinto compromisso era a melhora da saúde materna.⁹⁷

Para atingir os objetivos do milênio seria necessário investir 0,7% das rendas internas dos países ricos na forma de ajuda externa. Entretanto em 2005, esta cifra atingiu 0,24%. Seria o investimento *per capita*, por parte dos países ricos, de 80 dólares por ano para contemplar os objetivos do milênio. Seria o correspondente a 1/5 dos gastos militares com a defesa destes mesmos países.⁸⁹

Exemplificando, o gasto militar em 2003 por parte dos países ricos foi de 953 bilhões de dólares, sendo que, aproximadamente metade deste valor, gasto pelos Estados Unidos da América. Para atingirmos os objetivos do milênio, em aproximadamente dez anos, o investimento seria de 760 bilhões, menos do que se gasta em um ano para a defesa dos referidos Países.⁸⁹

2.7.2 A saúde é prioridade?



Na constituição brasileira promulgada em 1988, existem disposições legais para que cada cidadão evite o risco de adoecer, tenha suas necessidades em saúde atendidas e trate de qualquer agravo independente da sua renda ou posição no mercado de trabalho. Além do mais o SUS, sistema único de saúde, foi concebido para enfrentar a pobreza e a desigualdade social.⁹⁸

Além disto, a constituição de 1988 estipula que os investimentos em saúde deverão ser balizados pela necessidade da atenção e não por densidade demográfica, presença da oferta de serviços ou cálculo de médias para financiamento.⁹⁹

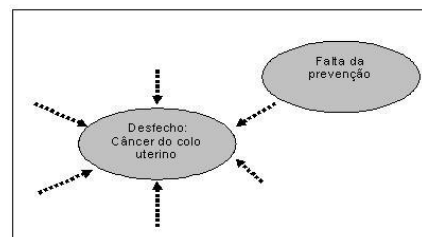
Quando se avalia o financiamento público da saúde no Brasil, o investimento público em 2005 foi de US\$ 153,00 *per capita*. Isso significa cerca de 10% da média de países como o Canadá, Japão e Austrália além dos membros da *Zona do Euro*; da mesma forma, investimento em saúde inferior ao verificado na Argentina, Chile e Uruguai.¹⁰⁰

Na avaliação retrospectiva dos investimentos em saúde no Brasil, verifica-se que a participação das receitas correntes da União no Produto Interno Bruto cresceu de 19,7% para 26,7% entre 1996 a 2004; neste mesmo período, a participação de investimentos do Ministério da Saúde decresceu de 9,6% para 7,5%.¹⁰⁰⁻¹⁰²

Uma tentativa de disponibilizar mais recursos para a área da saúde ocorreu na aprovação da Emenda Constitucional número 29 no ano de 2000 e que tramitou no congresso nacional até dezembro de 2011, quando finalmente foi aprovada e sancionada. Consiste em lei que disciplina os investimentos em saúde por parte dos entes federados e que prevê o investimento municipal e estadual de 15% e 12% respectivamente das receitas correntes; para a união, o investimento será do montante investido em saúde no ano anterior, somado à variação nominal do Produto Interno Bruto Nacional (PIB).⁹⁸

Entretanto é lei que já recebe críticas pela modificação do texto original de 2000, que previa o investimento federal anual de 10% do PIB. Pela regra aprovada, na possibilidade de estagnação do crescimento econômico, os investimentos em saúde permanecem iguais ao ano anterior com a possibilidade de prejuízos nas ações em saúde pública realizadas pelos entes federativos.

2.8 Rastreo populacional



Definida como *ação antecipada tendo por objetivo interceptar ou anular a evolução de uma doença*, a prevenção poderá ser aplicada em diversos momentos da história natural da uma enfermidade. Iniciando pelas primeiras medidas de higiene pessoal, preconizadas durante o século dez, até

as modernas campanhas de vacinação em grandes contingentes populacionais, que a prevenção das doenças vem ocupando destacado papel na saúde pública.¹⁰³

O sucesso de uma medida preventiva populacional passa necessariamente pela identificação do fator responsável pelo desfecho *doença* e sua remoção de todos os indivíduos susceptíveis. Tal medida preventiva deverá ser eficaz, ou aquela que impede o desfecho, além de efetiva, ou aquela que traz mais benefícios quando aplicada e aceita pela comunidade.¹⁰³

Desde a introdução do exame citológico cervical em forma de programa de rastreamento populacional, que a morbidade e a mortalidade do câncer da cérvix vêm decrescendo. Os estudos pioneiros de George *Papanicolaou* resultaram na publicação da monografia *Diagnosis of uterine cancer by the vaginal smear* em 1941, onde técnica simples de coleta de células cervicais para exame sob microscopia era sugerida como forma diagnóstica precoce de alterações epiteliais.¹⁰⁴⁻¹⁰⁶

A utilização do exame citológico cervical pela técnica convencional ou pela técnica de meio líquido, visando o rastreio populacional, continua recebendo distinção de *medida fortemente recomendada* pelas evidências científicas consistentes que apresenta.¹⁰⁷

Os programas de rastreio cervical poderão ser empregados na forma *oportunistica* ou *organizada* nos sistemas de saúde. O primeiro é aquele realizado na presença de sintomatologia ginecológica, geralmente na vigência de consulta diagnóstica e terapêutica. Já no programa organizado há o controle na realização dos exames por extratos e é realizado na ausência de sintomatologia ginecológica.¹⁰⁸

Sabe-se que a forma *oportunistica* facilita a distribuição irregular do exame, havendo a realização repetitiva em alguns extratos sociais (geralmente os de menor risco), rastreio na concomitância do planejamento familiar ou pré-natal e por fim o *overscreening*, onde o exame é realizado com maior frequência do que o desejado, onerando os sistemas de saúde. ^{109;110}

Os melhores resultados na morbimortalidade por câncer cervical, bem como na efetividade do exame, serão encontrados naqueles países que implementaram o sistema organizado nas coletas do exame citológico cervical. ^{109;111;112}

A incidência do câncer cervical antes e depois da introdução do rastreio citológico oportunístico ou organizado foi estudado comparativamente em dezessete centros por um período de quinze anos. Verificou-se uma queda mínima de 25% entre onze dos dezessete centros estudados com perfis de redução semelhantes: marcado decréscimo na incidência de câncer cervical nas faixas etárias dos 40 aos 60 anos e pouco impacto nas idades mais extremas. O autor justifica este comportamento, na mulher jovem, ao fato do câncer cervical ter rápida evolução e ser rastreio preferentemente oportunístico; entre as idosas, a baixa sensibilidade do teste seguido da baixa cobertura do rastreio são apontadas como determinantes para o baixo impacto. ^{113;114}

Quando se avaliam casos de câncer cervical e seu acompanhamento passado, em 50% das vezes nunca houve exame citológico prévio e em outros 10% o exame ocorreu há mais de cinco anos. ¹⁰⁷

A sensibilidade baixa para um exame citológico que, segundo a literatura médica, gira em torno dos 50% será compensada pelo longo tempo

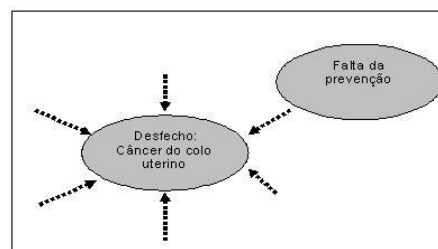
de evolução das lesões precursoras cervicais até o câncer. Possibilita comumente o diagnóstico da lesão durante o próximo exame e seu tratamento ainda na fase precoce. ¹¹⁵

Estima-se que uma cobertura de 80% entre mulheres de 35 a 59 anos seria suficiente para causar impacto na morbimortalidade já no quarto ano da implementação do programa. ¹¹⁶

A conduta para reduzir a incidência e a mortalidade por câncer cervical ainda reside no aumento do número de exames entre grupos de mulheres não participantes dos programas de rastreio ou rastreadas infrequentemente. ¹⁰⁷

Os fatores decisivos para o resultado satisfatório dos programas de rastreio, serão a associação do conhecimento da faixa etária de desenvolvimento das lesões precursoras e a proporção de pacientes rastreadas em cada grupo etário; a sensibilidade do método utilizado; o treinamento dos profissionais participantes do programa e, por fim, a capacidade de absorção de todos os casos suspeitos de lesão precursora após o rastreio inicial. ¹⁰⁹

2.8.1 O exame citológico cervical



O rastreamento populacional a partir da citologia cervical é baseado na premissa que as lesões do colo uterino são passíveis de esfoliação,

possuem desenvolvimento gradual e, na maioria das pacientes, evoluem de lesões precursoras até o câncer da cérvix. ¹¹⁷

Quanto à técnica de coleta do exame citológico cervical, tanto a forma tradicional, com a amostragem realizada com espátula de Ayre e *cytobrush*, quanto à citologia de meio líquido estão recomendadas. ¹¹⁸

Uma recente metanálise comparando as duas técnicas concluiu que a citologia líquida não é mais sensível ou mais específica para o diagnóstico da lesão precursora de alto grau quando comparada com a citologia convencional. Além disto, quando se utiliza o diagnóstico da atipia de significado indeterminado (Asc-US) para indicar a investigação cervical, a citologia de meio líquido apresenta menor especificidade. ¹¹⁸

No momento da preparação da lâmina de citologia convencional, apenas 20% das células coletadas serão depositadas na lâmina e de forma não randômica, obrigando a leitura de todo o esfregaço. ¹⁰⁵ Fato intrínseco de algumas lesões cervicais é a *resistência* à descamação durante a coleta, sugerindo que moléculas de adesão tecidual tipo as *e-caderinas* colaborem como responsáveis, contribuindo para os falso negativos do exame citológico cervical. ¹¹⁹

Os critérios morfológicos celulares serão a base para o diagnóstico das lesões cervicais na citologia; entretanto, a anormalidade morfológica poderá não ser suficientemente distinta a ponto de rápida identificação, podendo estar presente em raras células do esfregaço e ser passível de erro com alterações benignas celulares. ¹²⁰

Lâminas de citologia cervical, amostradas entre casos de lesão intraepitelial de alto grau, que possuam menos de cinquenta células

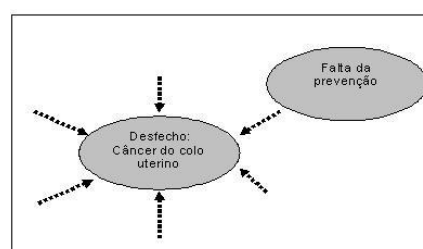
representativas da lesão, difusamente distribuídas e com a perda da hipercromasia nuclear, possuirão significativo erro diagnóstico associado. Estima-se que o diagnóstico falso negativo na citologia cervical deva-se a erros de leitura em 20 a 50% das vezes. ¹²¹⁻¹²³

Verifica-se que, mesmo em países com coberturas de coletas ultrapassando 85%, metade dos casos de câncer cervical ocorram em mulheres que não foram testadas nos últimos cinco anos e, entre as testadas, 12 a 23% possuam falhas no rastreamento. Estima-se que 2/3 das falhas do exame citológico cervical convencional sejam devidos a coleta inadequada e o restante, devido a erros laboratoriais. ¹²⁴⁻¹²⁷

O problema de erros na interpretação pode ser exemplificado pela falta de concordância nos diagnósticos entre os citologistas. Quando lâminas de citologia são submetidas a controle de qualidade por patologistas treinados, verifica-se que, somente aquelas com diagnóstico negativo ou lesão de baixo grau, apresentam concordância maior que 50%. ¹⁷

Da mesma forma, quando se avaliam lâminas inicialmente diagnosticadas como “alto grau”, em 53% das vezes a releitura encontrará uma lesão precursora de baixo grau, a atipia de significado indeterminado ou a normalidade. ¹²⁸

2.8.2 Não atendimento aos programas de rastreio



Em um estudo na Suécia que avaliou o motivo da não participação

em programas de rastreio, entre 500 mulheres consideradas como não respondedoras, foram as não usuárias de contracepção oral, aquelas que consultavam mais que cinco vezes ao ano ou nunca consultavam, aquelas que eram convidadas a participar do rastreio contrariamente à iniciativa própria e, por fim, aquelas que consultavam com diferentes médicos, contrariamente ao atendimento por profissional único.¹²⁹

Outro estudo sueco que comparou respondedoras e não respondedoras aos programas de rastreio cervical concluiu que barreiras de ordem prática como as econômicas e o tempo consumido para realização do exame e o mal entendimento do motivo do rastreio foram as responsáveis pela não participação.¹³⁰

Mesmo em programas de rastreio organizados, onde a participação é controlada por convites entre a população exposta ao risco de adoecer e em intervalos de tempo fixos que vão de 3 a 5 anos, verifica-se que a presença não ultrapassará 50%.^{111;131}

Quando avaliados os casos de câncer cervical entre mulheres que possuíam plano privado de saúde, verificou-se a ausência de participação no rastreio em 60% das doentes nos três anos antecedentes ao diagnóstico. Além disto, 75% dessas mulheres compareceram à consulta médica, geralmente com o generalista no mesmo período, definido como *oportunidade perdida* para o diagnóstico da lesão cervical.¹³²

No Brasil, quando se avaliam os motivos da não participação nos programas de rastreio, verificou-se, no estado de São Paulo, a prevalência significativa de mulheres entre 40 a 59 anos, com até quatro anos de escolaridade, renda mensal *per capita* inferior a quatro salários mínimos, com

posse de até nove bens duráveis e que se autorreferiram negras ou pardas.¹³³

Da mesma forma são mulheres que não participam de outros programas como do exame clínico das mamas e da mamografia rotineiramente. Entre os motivos apresentados para a não participação destacaram-se o embarço e o desconhecimento da necessidade do exame.

133

Inquérito domiciliar realizado entre 1172 mulheres no município de São Paulo mostrou que o recebimento do resultado do teste citológico e a realização mediante procura espontânea foi estatisticamente superior entre aquelas de maior escolaridade, pertencentes às classes sociais A e B e entre as maiores de 25 anos.¹³⁴

Quanto aos motivos alegados para a não realização do exame de rastreio, foram a ausência de queixas ginecológicas que *justificassem* a realização do exame, embarço e a indisponibilidade do acesso ao exame. O autor destaca que entre aquelas que demandaram o diagnóstico de forma espontânea, além do maior acesso aos serviços de saúde, têm melhor *status* socioeconômico, conhecem o motivo da realização do rastreio e retornam para o resultado do exame.¹³⁴

Entre pacientes portadoras de lesão precursora de alto grau cervical e câncer, um estudo transversal no município de São Paulo abordou as atitudes frente à prevenção entre 138 mulheres e apontou que a maioria desconheciam o motivo do exame, realizavam o rastreio de forma irregular e por demanda do profissional de saúde e consultavam o médico apenas para tratamento de condições patológicas.¹³⁵

O autor comparou as atitudes das mulheres portadoras de câncer

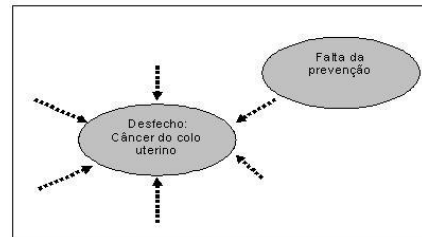
cervical com aquelas portadoras de lesão precursora e concluiu que a chance de rastreamento cervical inadequado é 3,2 vezes maior entre as primeiras. Entre os motivos alegados para a não realização do exame cervical destacou-se a desmotivação e o embaraço como as principais.¹³⁵

Outro estudo de base populacional no estado do Rio Grande do Sul mostrou que a não participação ao programa de rastreamento ocorreu entre mulheres na idade fértil, cor parda ou negra e de menor idade, renda e escolaridade. Da mesma forma a não participação ocorreu preferentemente entre aquelas que estavam vivendo sem companheiro no momento da entrevista.¹³⁶

O autor conclui que 57% das entrevistadas se encontravam em idade fértil e nunca tinham realizado o exame citológico cervical; apontam os motivos da falta de conhecimento sobre a necessidade do exame, concepção de fatalidade do câncer cervical e da impossibilidade de preveni-lo seguido da dificuldade na relação com o profissional atendente.¹³⁶

Uma revisão sistemática da literatura, centrada na cobertura do exame citológico no Brasil, mostra uma tendência ao aumento do número de mulheres submetidas a um exame citológico na vida que passou de aproximadamente 50% para 70% quando comparadas a década de 80 para o ano de 2003. Entretanto, ressalta o autor, que conclusões de abrangência nacional não podem ser admitidas, pois a maioria dos estudos utilizados para revisão da cobertura estão concentrados na região sul e sudeste brasileiras, local de maior urbanização e malha de saúde pública, não havendo estudos sobre o perfil da repetição do exame ou da situação em locais menos urbanizados.¹¹⁶

2.8.3 Rastreamento cervical no Brasil



O rastreamento das lesões cervicais no Brasil organizou-se na forma de um *programa* após a VI Conferência Mundial sobre a Mulher, ocorrida na China em setembro de 1995. Nesta ocasião, foi reconhecida a necessidade de um programa de âmbito nacional visando o controle do câncer cervical.¹³⁷

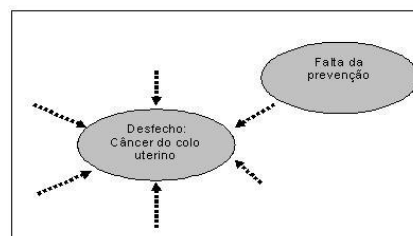
De janeiro de 1997 a junho de 1998 foi realizado o programa piloto denominado de *Viva Mulher* onde foram atendidas 124.440 mulheres em seis estados brasileiros.¹³⁷

Com base nesta experiência, o programa foi estendido para todo o território nacional na forma do *Programa Nacional de Controle do Câncer do Colo Uterino - Viva Mulher*. A primeira fase de intensificação em 1998 atendeu 3.000.000 de mulheres durante seis semanas.¹³⁸

No período de 1999 a 2002, o programa foi ampliado em todo o território nacional atingindo uma média de 8.000.000 de exames por ano. Durante o ano de 2002, realizou-se a segunda fase de intensificação onde foram priorizadas as faixas etárias de 35 a 49 anos e principalmente entre aquelas que nunca haviam participado do programa. Nesta ocasião foram coletados 3.800.000 novos exames.¹³⁹

Após o ano de 2003, o rastreamento citológico cervical e o seu seguimento começou a ser organizado na forma de níveis de competência onde a atenção deveria ocorrer na baixa, média e alta complexidade. Visando a padronização do laudo citológico, foi lançada a *Nomenclatura Brasileira para Laudos Citopatológicos Cervicais e Condutas Clínicas Preconizadas*. O sistema de informação sobre o colo do útero, também chamado de SISCOLO, foi modernizado até a sua versão atual já no ano de 2007. ¹³⁹

2.8.4 Programa Nacional de Controle do Câncer do Colo Uterino (PNCCU)



As diretrizes do PNCCU estão centradas na realização do exame citológico convencional, coletada com espátula de *Ayre* e escova tipo *cytobrush* em mulheres de 25 a 60 anos de idade, uma vez por ano e, após dois exames anuais consecutivos negativos, a cada três anos. ¹³⁹

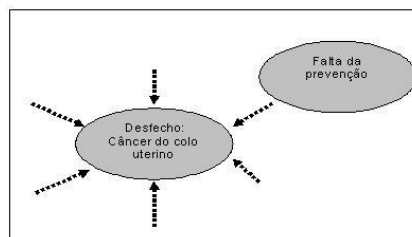
De acordo com o diagnóstico do exame citológico, a conduta adotada será aquela de repetição do exame citológico convencional em prazo de seis meses nos casos de atipias de significado indeterminado possivelmente não neoplásico (Asc-US de Bethesda) e lesão intraepitelial de baixo grau. ¹³⁹

Se dois exames citológicos subsequentes semestrais forem negativos, a paciente deverá retornar à rotina de rastreamento citológico. Porém, se o resultado de alguma citologia de repetição for sugestiva de lesão

igual ou mais grave que o diagnóstico inicial, a mulher deverá ser referida à Unidade de Média Complexidade para colposcopia e biópsia dirigida.¹³⁹

Casos de citologias com células escamosas atípicas de significado indeterminado quando não se pode excluir alto grau (Asc-H de Bethesda), as glandulares atípicas, as lesões intraepiteliais de alto grau, o adenocarcinoma *in situ* ou invasor e o carcinoma epidermóide deverão ser encaminhados à Unidade de Referência de Média Complexidade, para colposcopia e biópsia dirigida como conduta inicial.¹³⁹

2.8.5 Crítica ao PNCCU



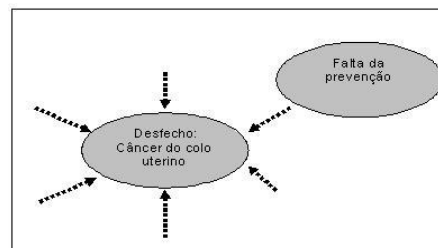
Quando se avalia o PNCCU, o principal ponto de questionamentos está nos casos de lesão intraepitelial de baixo grau, onde a conduta preconizada é a repetição do exame citológico em seis meses na Unidade Básica de Saúde.

Sabe-se que este diagnóstico será mais reprodutível do que as células escamosas atípicas (Asc-US) e apresentará até 30% de chance de biópsia compatível com NIC2 e NIC3, lesões potencialmente evolutivas até o câncer cervical.¹⁴⁰

A justificativa é a de que a maioria das pacientes portadoras de lesão de baixo grau haverá regressão espontânea e a colposcopia apresentará

baixa especificidade (aproximadamente 48%), levando a altas taxas de *sobrediagnóstico* e de *sobretratamento* entre casos passíveis de regressão. ¹³⁹

2.8.6 Situação atual do rastreio citológico no Brasil



O rastreio citológico no Brasil se dá na forma *oportunistica*, centrado em grupos etários de menor risco para o desenvolvimento do câncer cervical e preferentemente nos centros urbanos. ¹⁴¹

São exames concentrados na mulher jovem, muito associada consulta médica por patologias ginecológicas, pré-natal ou planejamento familiar e associado ao desconhecimento do exame e ao não recebimento do resultado, expresso pela quantidade de buscas ativas por carta, telefone ou uso dos agentes comunitários de saúde, daquelas portadoras de anormalidades. ¹⁴¹

Durante os anos de 2008 a 2010 no Brasil, verificou-se leve decréscimo dos casos de *citologia anterior ausente* de 13,3% em 2008; 13,1% em 2009 e, em 2010, 12,7%. A ausência de dados na requisição quanto à citologia anterior também apresenta queda de 7,5% em 2008 para 5,8% em 2010. ¹⁴²

Quando se avalia a razão entre exames citológicos em relação à população feminina de 25 a 69 anos no Brasil, verifica-se que, durante os anos

de 2007 a 2009, a população aderente aos programas de rastreio foi inferior a 20%, onde se destaca percentuais inferiores a 5% nos estados de Alagoas e Roraima em 2007, Amapá em 2008 e Maranhão e Pará em 2009. ¹⁴³

Por outro lado, os melhores resultados foram encontrados nos estados do Piauí em 2007 e 2008 com aderência de 20% e 15%. Em 2009, as maiores aderências foram diagnosticadas nos estados do Acre, Piauí e Rio Grande do Norte com cifras de 15%. Destacam-se em tais taxas brutas, a subnotificação, diferentes densidades populacionais e urbanização distintas nos diferentes estados citados. ¹⁴³

Na comparação entre os resultados *citologia de alto grau* com *histologia de alto grau*, verifica-se que a confirmação diagnóstica da lâmina citológica decresceu de 31% em 2007 para 26% em 2008 e, até julho de 2010, esta confirmação ocorreu apenas em 22% dos casos. ¹⁴⁴

Quando se avalia a periodicidade da realização do exame citológico no Brasil, durante os anos de 2007 e 2008, verifica-se que 47% dos exames coletados possuíam citologia no ano anterior à aferição. Aproximadamente 5% possuíam citologia no mesmo ano da aferição e, em apenas 8% dos casos, a coleta havia ocorrido no prazo de três anos conforme recomendado pelo Ministério da Saúde do Brasil. ¹⁴⁵

Entretanto, sabe-se que a necessidade real de repetição do exame em tempo inferior ao recomendado, como nos casos de citologia anterior indicando alteração de baixo grau, amostras rejeitadas ou extraviadas, não ultrapassará os 3,3% configurando a modalidade de coleta *oportunistica* do exame de rastreio cervical no Brasil. ¹⁴⁵

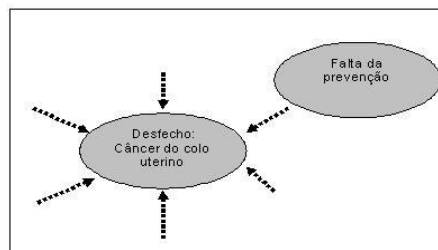
A oferta do exame citológico cervical se encontra *ofertado excessivamente*, com repetições desnecessárias em treze estados do Brasil durante o período de 2007 e 2008. Este fato implica em custos injustificados e piora da capacidade de *alcance* daquelas mulheres infreqüentemente avaliadas ou com ausência de participação nos programas de rastreio.¹⁴⁵

Porém será pela série histórica do desfecho *mortalidade por câncer do colo uterino* é que se situa o rastreio cervical no Brasil. Avaliando-se os períodos de 1994 a 1998 e de 2003 a 2007 a mortalidade por câncer cervical em relação ao total de mortes por câncer, apresentou leve queda de 7,2 para 6,8.⁴

Durante o período de 1997 a 2007 a mortalidade anual média por câncer cervical foi acima de 6 a cada 100.000 mulheres nos estados do Amazonas, Rio Grande do Sul e Rio de Janeiro; já taxas abaixo de 4 foram verificadas nos estados da Acre, Alagoas, Bahia, Pará, Paraíba, e Roraima.⁴

Quando se admite uma longevidade de 70 anos para a mulher brasileira, verifica-se que o câncer do colo uterino, no período de 1997 a 2007, ocasionou as maiores perdas de *anos potenciais de vida* nas faixas etárias dos 30 aos 59 anos, período recomendado para a maior atenção aos programas de rastreio.¹⁴⁶

2.8.7 Rastreio citológico cervical: estado da arte



A recomendação atual é para repetição do exame citológico cervical em mulheres de 25 a 60 anos de idade, uma vez por ano e, após dois exames anuais consecutivos negativos, a cada três anos. Deverá ser destacado, no momento da coleta, o tratamento prévio para lesões precursoras de alto grau cervical ou a possibilidade de imunossupressão, onde a repetição do exame será em intervalos menores.¹⁰⁷

Quando se avalia o custo benefício do intervalo para realização do exame de rastreio, não importando a idade, o exame anual nunca será custo efetivo. A prioridade dos programas de rastreio deverá ser centrada na realização nos extratos de maior risco, aí incluídas aquelas mulheres com raro ou ausente comparecimento.^{147;148}

As recomendações atuais são embasadas em níveis de evidência A (fortemente recomendada) ou B (recomendada) para emprego na população geral sendo custo efetivas.¹⁴⁷

Um grande estudo que contou com mais de 900.000 mulheres e que avaliou o risco de lesão precursora ou câncer cervical após três diagnósticos negativos na citologia, mostra que o risco matemático de se encontrar um caso de H-SIL será de 0,019 em três anos. Além disto para o diagnóstico de um caso adicional de câncer cervical nesta mesma situação, deve-se dispende aproximadamente 70.000 exames citológicos e 3.800 exames colposcópicos na faixa etária dos 30 aos 44 anos.¹⁴⁸

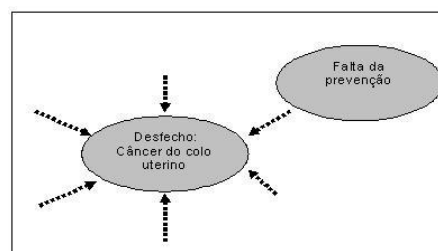
Da mesma forma, uma coorte que incluiu 10.500 mulheres que possuíam três exames citológicos prévios e que apresentaram 958 casos de câncer cervical no período de 1994 a 1999 concluiu que o risco de câncer cervical é baixo no primeiro ano após a realização do rastreio, aumenta

linearmente até o sexto ano da realização e após estabiliza. Haveria uma *exaustão da proteção* do exame negativo cervical. ^{149;150}

Destaca o autor que este comportamento não se aplica às variantes não escamosas do câncer cervical, onde a proteção não ultrapassará o terceiro ano da realização. Da mesma forma, o *efeito protetor* de três exames cervicais negativos não é aplicado aos casos diagnosticados no passado com lesão precursora, nas quais o rastreamento bianual estaria indicado. ¹⁵⁰

Quanto à idade como determinante da cessação do rastreamento, um grande estudo observacional na Holanda, avaliou o risco de adoecer por câncer cervical entre grupos de mulheres de 30 a 44 anos e de 45 a 54 anos, e possuidoras de três exames cervicais prévios e negativos. O autor concluiu que o risco de câncer cervical não se modificou com o avançar da idade, possuindo taxas de 41/100.000 mulheres jovens e 36/100.000 mulheres idosas. Sugere que não haja cessação do rastreamento com o avançar da idade e que seja mantido o intervalo preconizado de três anos. ¹⁵¹

2.8.8 Novas tecnologias para o rastreamento cervical



A adição de novas tecnologias ao exame citológico convencional ou de meio líquido visa o aumento da sensibilidade do rastreamento, ou a capacidade de identificar a lesão precursora ou neoplásica entre aquelas que a

possuem, bem como a especificidade do exame, ou a capacidade de excluir corretamente aquelas pacientes que não possuem a lesão.

Quanto à genotipagem do vírus HPV presente em fundo vaginal visa incrementar o valor preditivo positivo do teste, diagnosticar a infecção persistente por subtipo viral único ou a possibilidade de diversos subtipos, além de apontar os casos de cura da infecção. Entretanto, além do alto custo e da alta complexidade laboratorial do teste, as condutas clínicas frente aos diversos resultados não são consensuais. Da mesma forma, para o diagnóstico da infecção persistente exigirá a rotineira repetição do exame, não oferecendo uma clara conduta clínica para a paciente portadora crônica da infecção.¹⁵²

Quanto ao diagnóstico do mRNA resultante da expressão dos genes E6 e E7 após a integração celular ao HPV de alto risco, foi proposto como teste de alta sensibilidade para o diagnóstico da lesão precursora ou neoplásica cervical. Identifica apenas aqueles casos de integração viral às células epiteliais sem o falso positivo da genotipagem viral. Entretanto o alto custo e a alta complexidade laboratorial somada à instabilidade do mRNA o fazem teste de difícil execução e aplicabilidade clínica.¹⁵³

Quanto ao diagnóstico da carga viral do HPV em fundo vaginal, visa o incremento da sensibilidade do teste, pois há associação entre cargas elevadas e a presença de lesão precursora de alto grau ou sua evolução até o câncer. Entretanto, a falta de consenso quanto ao *ponto de corte* que diagnostique *carga elevada*, o alto custo e alta complexidade laboratorial somado ao conhecimento da validade do teste apenas para o subtipo 16 do HPV o fazem teste de difícil aplicabilidade clínica.^{29;154}

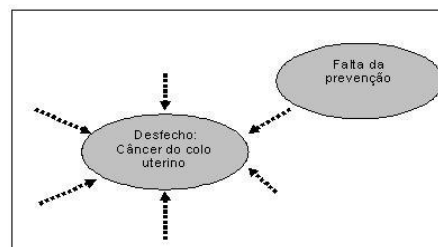
O diagnóstico da integração do HPV à célula epitelial cervical, também chamada forma não epissômica, é comum nos casos de lesão precursora de alto grau e câncer. Sua identificação se dá pela reação em cadeia da polimerase (PCR) utilizando métodos específicos para integração. Entretanto, da mesma forma que o diagnóstico da carga viral, é método de difícil execução e alto custo e com a possibilidade do falso positivo, onde lesões precursoras de baixo grau apresentam positividade para integração. Além disto, estudo recente entre casos de lesão precursora de alto grau apontando frequências de integração variáveis (de acordo com o subtipo viral), colocam a integração viral como método passível de falso negativo. ^{155;156}

Os marcadores de metilação do DNA vêm sendo apontados como forma de diagnóstico precoce das lesões precursoras cervicais. Sua proposta é da alta especificidade visto a ausência da metilação entre casos de normalidade cervical. A especificidade do teste poderá chegar aos 97% quando testados os três alvos de metilação possíveis (DAPK1, RARB e Twist1). Da mesma forma, a metilação associada à integração viral foi apontada como marcador prognóstico de evolução da lesão precursora. Entretanto a baixa sensibilidade do teste, que se aproxima dos 60%, o coloca paralelo à citologia *Papanicolaou* associado ao alto custo na sua implementação. ^{157;158}

As anormalidades cromossômicas são comuns quando avaliados os casos de câncer cervical. A mudança comumente vista será a presença de duas ou mais cópias no braço *q* do cromossoma 3, ocorrendo em 77% dos carcinomas escamosos. Sabe-se que esta aneuploidia é derivada do ganho do *TERC* (*human-telomerase gene RNA component*) encontrada nos tumores. A utilização da anormalidade cromossômica no rastreamento populacional ocorreria

pelo diagnóstico do TERC nas citologias cervicais coletadas na forma convencional ou meio líquido. Entretanto, alto custo e alta complexidade na execução do teste o afastam do uso rotineiro de rastreo. ^{159;160}

2.8.9 Anticorpo *anti-p16^{ink4a}*



A proteína 16 inibidora da quinase ciclino-dependente 4a (CDK), e sua relação com lesões precursoras ou neoplásicas cervicais vêm sendo abordado há duas décadas. Sua proposta é o aumento da sensibilidade e da especificidade do exame citológico coletado da forma tradicional ou de meio líquido. ¹⁶¹

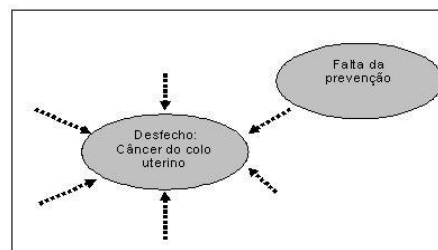
Desde o estudo pioneiro de Sano, o qual verificou em 1998 a positividade difusa do marcador entre casos de câncer cervical e lesões precursoras de alto grau¹⁶², estudos abordando a utilização do anticorpo *anti-p16^{ink4a}* foram realizados com importante incremento da *performance* do exame citológico. ^{117;163-175}

Em nosso meio, a utilização do anticorpo anti-p16^{ink4a} entre citologias convencionalmente coletadas (não meio líquido) e comparadas com os resultados histológicos, mostrou sensibilidade e especificidade superiores ao exame citológico corado pela técnica de *Papanicolaou*. Os autores sugerem que o uso do marcador monoclonal poderá ser uma alternativa para o

incremento na *performance* da citologia cervical coletada na forma convencional.¹⁶¹

Metanálise durante o ano de 2009 que incluiu 61 estudos de *anti-p16^{ink4a}* em citologia ou histologia concluiu que a positividade para o marcador é proporcional à gravidade da lesão precursora cervical. O diagnóstico falso positivo foi encontrado em apenas 12% dos casos. Entre casos de Asc-US e L-SIL, o marcador esteve positivo em 45% das vezes e entre os H-SIL, a positividade foi de 89%. Entretanto sua utilização na prática citológica diária esbarra na falta de consenso quanto ao diagnóstico da positividade indicadora de lesão histológica, visto a positividade encontrada entre casos de esfregaços atróficos ou contendo células metaplásicas.¹⁷⁶

2.8.10 Testes “rápidos” de rastreio



O distanciamento dos grandes centros urbanos, somado a complexidade logística na coleta, transporte, preparo e interpretação do exame citológico contribuem para as baixas coberturas do rastreio cervical. A tentativa de realizar o diagnóstico definitivo nas próprias comunidades vem sendo abordado nos estudos tipo rastreio “rápido”.^{177;178}

Os chamados testes “rápidos” de rastreio vêm sendo propostos há aproximadamente dez anos, onde se destaca o projeto START (*Screening Technologies to Advance Rapid Testing*), patrocinados pela fundação Bill and

Mellinda Gates que incentiva, entre outros, projetos na área da saúde pública.

177;178

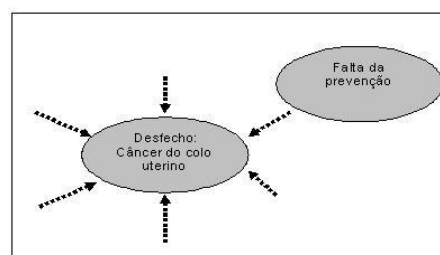
O teste Qiagen[®] foi proposto como diagnóstico *rápido* da presença de 14 subtipos de HR-HPV em amostras coletadas do fundo vaginal, interpretação e resultado em aproximadamente três horas e teste realizado no local do rastreio. Estudo realizado na China que avaliou a *performance* do teste Qiagen entre 2.530 mulheres apontou sensibilidade e especificidade para o diagnóstico de NIC2 de 90% e 84% para as amostras coletadas da cérvix pelo examinador. Quanto à autocoleta do fundo vaginal, o teste apresentou sensibilidade de 81% e especificidade de 82% para o diagnóstico da NIC2. O autor destaca a *performance* do teste similar à tradicional captura híbrida para o diagnóstico da lesão precursora de alto grau.¹⁷⁹

Quanto ao *E6 striptest*[®], também proposto como forma de diagnóstico *rápido* da oncoproteína E6 do HR-HPV em fundo vaginal. O teste consiste em uma tira de nitrocelulose impregnada com a proteína PDZ 88, sabidamente ávida por conjugação com a oncoproteína E6 dos HR-HPV. Após a coleta do fundo vaginal pelo examinador ou do fundo vaginal por autocoleta, a tira de nitrocelulose é lavada com anticorpos monoclonais anti-E6. A leitura se faz em uma plataforma imunocromatográfica pela formação de diferentes “bandas” na tira de nitrocelulose.¹⁸⁰

O anticorpo monoclonal *anti-p16^{ink4a}* também foi proposto como forma de diagnóstico *rápido* da lesão precursora cervical pelo teste denominado de *Cervatec Assay*[®] que utiliza a técnica ELISA na forma de autocoleta para o diagnóstico. Em um estudo na China com 319 participantes que estudou a *performance* do teste para o diagnóstico da NIC3, a

sensibilidade foi de 90% com especificidade de 46,9%. Na mesma amostra, a captura híbrida obteve sensibilidade e especificidade de 85% e 35,4% respectivamente. O autor conclui que o anticorpo monoclonal, na forma de teste rápido, é promessa futura para os países *em desenvolvimento*.^{181;182}

2.8.11 Autocoleta do exame citológico cervical



A necessidade de exposição do genital para o exame especular pélvico vem sendo apontado como um dos mais importantes limitadores para o aumento da abrangência do rastreo cervical. Comunidades de imigrantes, principalmente muçulmanas e asiáticas, aborígenes e quilombolas além das excluídas sociais, estão entre os grupos de menor realização do rastreo cervical. Por outro lado, a exclusão do exame especular pélvico poderá resultar em alta aceitabilidade nestas comunidades com incremento na cobertura do rastreo.^{82;183}

Há aproximadamente quinze anos, Morrison e Moscicki sugeriram o modelo de autocoleta do exame de rastreo e utilizaram o diagnóstico do HPV como indicador da presença de lesão cervical precursora ou neoplásica.^{184;185}

Os estudos que seguiram foram, na maioria, a partir do diagnóstico do HPV por diferentes dispositivos de autocoleta. Foram utilizados os *cottonswab*^{186;187}, *dacronswab*¹⁸⁸⁻¹⁹⁰, tampões vaginais^{191;192}, o auto lavado

cérvicovaginal ^{184;193} entre outros.

Os resultados dos estudos sugerem que o diagnóstico do HPV pela autocoleta e pela coleta realizada mediante exame especular se equivalem; os índices Kappa variaram de 0,54, ou índice moderado até 0,82, ou índice adequado. Quanto ao diagnóstico de lesões precursoras ou neoplásicas a partir do diagnóstico do HR-HPV na autocoleta, há sensibilidade semelhante à citologia convencional (não meio líquido) e especificidade inferior. ^{190;194;195}

Quanto ao diagnóstico de lesões precursoras cervicais de alto grau a partir da autocitologia, há carência de estudos na literatura. Brink utilizou a instilação e aspiração de cinco mililitros de solução salina em fundo vaginal, às cegas, com o dispositivo denominado de Mermaid[®]. O autor conclui que o método possui sensibilidade inferior à citologia convencional devido à contaminação de células vaginais no lavado. ¹⁹⁶

Da mesma forma, a autocitologia cervical foi estudada na Tailândia entre duzentas mulheres que utilizaram o dispositivo de Kato[®] que consiste em um *autoswab* que se encontra protegido das células vaginais durante a inserção. Já no fundo vaginal, a extremidade do dispositivo é exposta e a sequência de movimentos rotatórios realiza a coleta da celularidade local. ¹⁹⁷

O autor obteve 96% de citologias consideradas como satisfatórias e a concordância na leitura das lâminas pelo método proposto, comparada com a citologia convencional, foi considerada como moderada ou índice *kappa* de 0,43. Entretanto foi estudo limitado pelo pequeno número de alterações citológicas diagnosticadas e a ausência da colposcopia ou biópsia diagnóstica no seguimento. ¹⁹⁷

Estudo realizado entre não participantes do programa organizado

de rastreio na Finlândia avaliou a resposta ao envio de carta convite solicitando o comparecimento, comparado com o envio de um *kit* contendo o dispositivo de Pantarhei® (dispositivo de autolavado do fundo vaginal) visando o diagnóstico do HR-HPV pela captura híbrida. ¹⁹⁸

O autor conclui que a participação, após o recebimento do *kit*, foi estatisticamente superior quando comparado com o recebimento de carta convite para o comparecimento no rastreio habitual ou 29,8% contra 26,2%. ¹⁹⁸

O custo para detecção das lesões precursoras de alto grau, entre não participantes do programa Holandês de rastreio, foi avaliado em estudo que comparou o comparecimento após carta convite ou o envio de kit contendo o *viba-brush*® visando o diagnóstico do HR-HPV por PCR para mulheres de 30 a 50 anos. ¹⁹⁹

O dispositivo de *viba-brush*® consiste em uma escova maleável indicada para citologia cervical ou testes moleculares, podendo ser usada na forma de autocoleta. O autor conclui que o custo para detecção da lesão de alto grau, pela técnica de autocoleta comparada com o rastreio habitual, se mostrou equivalente; além disto, destaca a alta eficácia na detecção das lesões de alto grau a partir do HR-HPV quando utilizado o *viba-brush*® no domicílio e o posterior envio para técnica do PCR. ²⁰⁰

Durante os anos de 2005 e 2006, duas publicações abordaram a coleta “às cegas” pelo examinador do exame cervical com o Dispositivo de *Fournier*®. Consiste em um autoswab similar ao dispositivo de Kato® que se encontra protegido das células vaginais durante a inserção e, após a localização no fundo vaginal, realiza a coleta da celularidade local. Sua principal diferença reside na capacidade do destacamento completo da

extremidade porosa e o acondicionamento de toda a amostra para posterior testes citológicos e/ou moleculares.^{201;202}

Na figura 2 se encontra o exemplo do dispositivo citado.

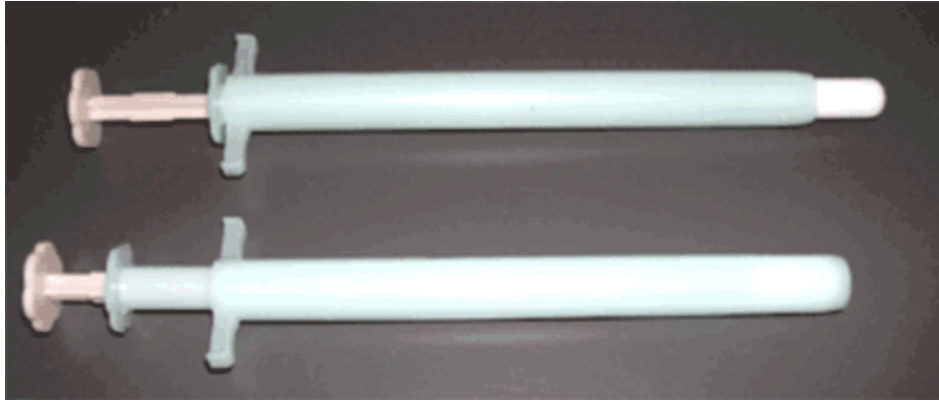


Figura 2: Exemplo do dispositivo de *Fournier*[®]

O estudo de Knesel utilizou o dispositivo de *Fournier*[®] entre noventa e cinco mulheres com diferentes perfis de risco para o câncer cervical. Foram descritos os achados citológicos e moleculares obtidos pelo método convencional e pelo dispositivo proposto. Entre as coletas realizadas “às cegas”, apenas dois casos foram insatisfatórios para avaliação citológica.²⁰²

O autor conclui que investigações posteriores deverão abordar a coleta “às cegas” em estudos que envolvam maior número de casos precursores ou neoplásicos cervicais, confirmados por histologia.²⁰²

O estudo de Castle utilizou o dispositivo de *Fournier*[®] para o diagnóstico do HPV a partir da coleta “às cegas” comparativamente à coleta convencional, realizada com o exame especular. Encontraram adequada concordância comparativa dos métodos no diagnóstico do HPV. O índice Kappa foi de 0,66. Das cento e trinta e cinco mulheres estudadas, sessenta e

uma foram diagnosticadas como portadoras do HPV pelo método convencional, havendo concordância com a coleta “às cegas” em 80% das vezes.²⁰¹

3 Justificativa

Ante ao exposto, admite-se que o rastreamento das lesões precursoras ou neoplásicas cervicais permanece com importantes limitações entre os países *em desenvolvimento*. Destaca-se a dificuldade no acesso à saúde pública, a baixa abrangência do rastreamento oportunístico além da necessidade de exposição do genital.

Entre as alternativas para o enfrentamento dessas limitações, os dispositivos de autocoleta cervical vêm apresentando resultados promissores. Entretanto, o uso dos dispositivos têm se limitado ao diagnóstico do vírus HPV como indicador da presença de lesão cervical precursora ou neoplásica, com alto custo e baixa especificidade. A autocoleta, utilizando o diagnóstico citológico pode representar uma alternativa de melhor especificidade e baixo custo para o aumento da cobertura do rastreamento cervical.

Propõe-se a avaliação da *performance* do dispositivo de autocoleta de *Fournier*[®] no diagnóstico citológico das lesões cervicais precursoras ou neoplásicas do colo uterino.

4 Objetivo geral

Avaliar a *performance* do dispositivo de coleta cérvicovaginal de *Fournier*[®] para o diagnóstico citológico das lesões cervicais precursoras ou neoplásicas.

5 Objetivo específico

Avaliar a adequação das amostras citológicas derivadas do dispositivo a partir de coletas realizadas às cegas pelo examinador em ambulatório de patologia cervical.

Avaliar a sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo do dispositivo de *Fournier*[®] no diagnóstico citológico de lesões cervicais precursoras ou neoplásicas a partir da técnica laboratorial de *Papanicolaou*.

Avaliar a sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo do dispositivo de *Fournier*[®] no diagnóstico citológico de lesões cervicais precursoras ou neoplásicas a partir da imunocitoquímica com *anti-p16^{ink4a}*.

Comparar a sensibilidade e a especificidade da citologia *Papanicolaou* coletada às cegas com o dispositivo proposto com a citologia coletada mediante exame especular.

6 Referências

- (1) Castellsague X. Natural history and epidemiology of HPV infection and cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2008;110:S4-S7.
- (2) Palacio-Mejia LS, Rangel-Gomez G, Hernandez-Avila M, Lazcano-Ponce E. Cervical cancer, a disease of poverty: mortality differences between urban and rural areas in Mexico. *Salud Publica Mex* 2003;45 Suppl 3:S315-S325.
- (3) World Health Organization. Cancer Mondial - Globocan 2008. *www-dep iarc fr* [serial online] 2008.
- (4) Instituto Nacional do Cancer. Estimativa 2010 - Incidência de Cancer no Brasil. http://www.inca.gov.br/estimativa/2010/index.asp?link=tbregioes_consolidado.asp&ID=1 [serial online] 2010.
- (5) American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG practice bulletin. Diagnosis and treatment of cervical carcinomas. Number 35, May 2002. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Int J Gynaecol Obstet* 2002;78:79-91.
- (6) Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. The Female Genital Tract in Robbins Pathologic Basis of Disease. In: Saunders, Elsevier, eds. *Pathologic Basis of Disease*. Eighth ed. 2009;1021-1024.
- (7) Pecorelli S, Denny L, Ngan N, Hacker N, Bermudez A et.al. Meeting Report: The new FIGO staging system for cancers of the vulva, cervix, endometrium and sarcomas. *Gynecologic Oncology* 115 (2009) 325–328- journal homepage: www.elsevier.com/locate/ygyno
- (8) Shope R. Infections papillomatosis of rabbits. *J Exp Med* 1933;58:609.
- (9) Stanley M. HPV - immune response to infection and vaccination. *Infect Agent Cancer* 2010;5:19.
- (10) Schiffman M, Castle PE. Human papillomavirus: epidemiology and public health. *Arch Pathol Lab Med* 2003;127:930-934.
- (11) Campo MS, Roden RB. Papillomavirus prophylactic vaccines: established successes, new approaches. *J Virol* 2010;84:1214-1220.
- (12) Negri G, Egarter-Vigl E, Kasal A, Romano F, Haitel A, Mian C. p16INK4a is a useful marker for the diagnosis of adenocarcinoma of the cervix uteri and its precursors: an immunohistochemical study with immunocytochemical correlations. *Am J Surg Pathol* 2003;27:187-193.

- (13) Tringler B, Gup CJ, Singh M et al. Evaluation of p16INK4a and pRb expression in cervical squamous and glandular neoplasia. *Hum Pathol* 2004;35:689-696.
- (14) Zielinski GD, Snijders PJ, Rozendaal L et al. The presence of high-risk HPV combined with specific p53 and p16INK4a expression patterns points to high-risk HPV as the main causative agent for adenocarcinoma in situ and adenocarcinoma of the cervix. *J Pathol* 2003;201:535-543.
- (15) Moscicki AB, Schiffman M, Kjaer S, Villa LL. Chapter 5: Updating the natural history of HPV and anogenital cancer. *Vaccine* 2006;24 Suppl 3:S3-42-S3/51.
- (16) Bosch FX, Lorincz A, Munoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol* 2002;55:244-265.
- (17) Schiffman M. Integration of human papillomavirus vaccination, cytology, and human papillomavirus testing. *Cancer* 2007;111:145-153.
- (18) Brown DR, Shew ML, Qadadri B et al. A longitudinal study of genital human papillomavirus infection in a cohort of closely followed adolescent women. *J Infect Dis* 2005;191:182-192.
- (19) Winer RL, Kiviat NB, Hughes JP et al. Development and duration of human papillomavirus lesions, after initial infection. *J Infect Dis* 2005;191:731-738.
- (20) Woodman CB, Collins S, Winter H et al. Natural history of cervical human papillomavirus infection in young women: a longitudinal cohort study. *Lancet* 2001;357:1831-1836.
- (21) Plummer M, Schiffman M, Castle PE, Maucort-Boulch D, Wheeler CM. A 2-year prospective study of human papillomavirus persistence among women with a cytological diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance or low-grade squamous intraepithelial lesion. *J Infect Dis* 2007;195:1582-1589.
- (22) Clifford GM, Gallus S, Herrero R et al. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. *Lancet* 2005;366:991-998.
- (23) de Sanjose S., Diaz M, Castellsague X et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2007;7:453-459.
- (24) Munoz N, Mendez F, Posso H et al. Incidence, duration, and determinants of cervical human papillomavirus infection in a cohort of Colombian women with normal cytological results. *J Infect Dis* 2004;190:2077-2087.

- (25) Wellings K, Collumbien M, Slaymaker E et al. Sexual behaviour in context: a global perspective. *Lancet* 2006;368:1706-1728.
- (26) Clifford GM, Smith JS, Aguado T, Franceschi S. Comparison of HPV type distribution in high-grade cervical lesions and cervical cancer: a meta-analysis. *Br J Cancer* 2003;89:101-105.
- (27) Smith JS, Lindsay L, Hoots B et al. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: a meta-analysis update. *Int J Cancer* 2007;121:621-632.
- (28) Clifford GM, Smith JS, Plummer M, Munoz N, Franceschi S. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. *Br J Cancer* 2003;88:63-73.
- (29) Gravitt PE, Kovacic MB, Herrero R et al. High load for most high risk human papillomavirus genotypes is associated with prevalent cervical cancer precursors but only HPV16 load predicts the development of incident disease. *Int J Cancer* 2007;121:2787-2793.
- (30) Fuchs K, Weitzen S, Wu L, Phipps MG, Boardman LA. Management of cervical intraepithelial neoplasia 2 in adolescent and young women. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 2007;20:269-274.
- (31) Moore K, Cofer A, Elliot L, Lanneau G, Walker J, Gold MA. Adolescent cervical dysplasia: histologic evaluation, treatment, and outcomes. *Am J Obstet Gynecol* 2007;197:141-146.
- (32) Moscicki AB, Shiboski S, Hills NK et al. Regression of low-grade squamous intra-epithelial lesions in young women. *Lancet* 2004;364:1678-1683.
- (33) Dunne EF, Unger ER, Sternberg M et al. Prevalence of HPV infection among females in the United States. *JAMA* 2007;297:813-819.
- (34) Sadler L, Saftlas A, Wang W, Exeter M, Whittaker J, McCowan L. Treatment for cervical intraepithelial neoplasia and risk of preterm delivery. *JAMA* 2004;291:2100-2106.
- (35) Ortoft G, Henriksen T, Hansen E, Petersen L. After conisation of the cervix, the perinatal mortality as a result of preterm delivery increases in subsequent pregnancy. *BJOG* 2010;117:258-267.
- (36) Arbyn M, Kyrgiou M, Simoons C et al. Perinatal mortality and other severe adverse pregnancy outcomes associated with treatment of cervical intraepithelial neoplasia: meta-analysis. *BMJ* 2008;337:a1284.
- (37) Hildesheim A, Wang SS. Host and viral genetics and risk of cervical cancer: a review. *Virus Res* 2002;89:229-240.

- (38) Wang SS, Hildesheim A. Chapter 5: Viral and host factors in human papillomavirus persistence and progression. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003;35-40.
- (39) Sheu BC, Chang WC, Lin HH, Chow SN, Huang SC. Immune concept of human papillomaviruses and related antigens in local cancer milieu of human cervical neoplasia. *J Obstet Gynaecol Res* 2007;33:103-113.
- (40) al-Saleh W, Giannini SL, Jacobs N et al. Correlation of T-helper secretory differentiation and types of antigen-presenting cells in squamous intraepithelial lesions of the uterine cervix. *J Pathol* 1998;184:283-290.
- (41) Moss SF, Blaser MJ. Mechanisms of disease: Inflammation and the origins of cancer. *Nat Clin Pract Oncol* 2005;2:90-97.
- (42) Giannini SL, Hubert P, Doyen J, Boniver J, Delvenne P. Influence of the mucosal epithelium microenvironment on Langerhans cells: implications for the development of squamous intraepithelial lesions of the cervix. *Int J Cancer* 2002;97:654-659.
- (43) Monnier-Benoit S, Mauny F, Riethmuller D et al. Immunohistochemical analysis of CD4+ and CD8+ T-cell subsets in high risk human papillomavirus-associated pre-malignant and malignant lesions of the uterine cervix. *Gynecol Oncol* 2006;102:22-31.
- (44) Piersma SJ, Welters MJ, van der Hulst JM et al. Human papilloma virus specific T cells infiltrating cervical cancer and draining lymph nodes show remarkably frequent use of HLA-DQ and -DP as a restriction element. *Int J Cancer* 2008;122:486-494.
- (45) Evans EM, Man S, Evans AS, Borysiewicz LK. Infiltration of cervical cancer tissue with human papillomavirus-specific cytotoxic T-lymphocytes. *Cancer Res* 1997;57:2943-2950.
- (46) Welters MJ, van der LP, van den Eeden SJ et al. Detection of human papillomavirus type 18 E6 and E7-specific CD4+ T-helper 1 immunity in relation to health versus disease. *Int J Cancer* 2006;118:950-956.
- (47) Sheu BC, Lin RH, Ho HN, Huang SC. Down-regulation of CD25 expression on the surface of activated tumor-infiltrating lymphocytes in human cervical carcinoma. *Hum Immunol* 1997;56:39-48.
- (48) Bard E, Riethmuller D, Meillet D et al. High-risk papillomavirus infection is associated with altered antibody responses in genital tract: non-specific responses in HPV infection. *Viral Immunol* 2004;17:381-389.
- (49) Bierl C, Karem K, Poon AC et al. Correlates of cervical mucosal antibodies to human papillomavirus 16: results from a case control study. *Gynecol Oncol* 2005;99:S262-S268.

- (50) Hagensee ME, Koutsky LA, Lee SK et al. Detection of cervical antibodies to human papillomavirus type 16 (HPV-16) capsid antigens in relation to detection of HPV-16 DNA and cervical lesions. *J Infect Dis* 2000;181:1234-1239.
- (51) McNeil C. Who invented the VLP cervical cancer vaccines? *J Natl Cancer Inst* 2006;98:433.
- (52) Schiller JT, Castellsague X, Villa LL, Hildesheim A. An update of prophylactic human papillomavirus L1 virus-like particle vaccine clinical trial results. *Vaccine* 2008;26 Suppl 10:K53-K61.
- (53) Rowhani-Rahbar A, Mao C, Hughes JP et al. Longer term efficacy of a prophylactic monovalent human papillomavirus type 16 vaccine. *Vaccine* 2009;27:5612-5619.
- (54) Brotherton JM, Gertig DM. Primary prophylactic human papillomavirus vaccination programs: future perspective on global impact. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2011;9:627-639.
- (55) Stanley M, Gissmann L, Nardelli-Haeffliger D. Immunobiology of human papillomavirus infection and vaccination - implications for second generation vaccines. *Vaccine* 2008;26 Suppl 10:K62-K67.
- (56) Einstein MH, Baron M, Levin MJ et al. Comparison of the immunogenicity and safety of Cervarix and Gardasil human papillomavirus (HPV) cervical cancer vaccines in healthy women aged 18-45 years. *Hum Vaccin* 2009;5:705-719.
- (57) Stanley MA. Prognostic factors and new therapeutic approaches to cervical cancer. *Virus Res* 2002;89:241-248.
- (58) Dillner J, Kjaer SK, Wheeler CM et al. Four year efficacy of prophylactic human papillomavirus quadrivalent vaccine against low grade cervical, vulvar, and vaginal intraepithelial neoplasia and anogenital warts: randomised controlled trial. *BMJ* 2010;341:c3493.
- (59) Paavonen J, Naud P, Salmeron J et al. Efficacy of human papillomavirus (HPV)-16/18 AS04-adjuvanted vaccine against cervical infection and precancer caused by oncogenic HPV types (PATRICIA): final analysis of a double-blind, randomised study in young women. *Lancet* 2009;374:301-314.
- (60) Castellsague X, Munoz N, Pitisuttithum P et al. End-of-study safety, immunogenicity, and efficacy of quadrivalent HPV (types 6, 11, 16, 18) recombinant vaccine in adult women 24-45 years of age. *Br J Cancer* 2011;105:28-37.
- (61) Haug CJ. Human papillomavirus vaccination--reasons for caution. *N Engl J Med* 2008;359:861-862.

- (62) Bosch FX, Burchell AN, Schiffman M et al. Epidemiology and natural history of human papillomavirus infections and type-specific implications in cervical neoplasia. *Vaccine* 2008;26 Suppl 10:K1-16.
- (63) Natunen K, Lehtinen J, Namujju P, Sellors J, Lehtinen M. Aspects of prophylactic vaccination against cervical cancer and other human papillomavirus-related cancers in developing countries. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2011;2011:675858.
- (64) Mah CL, Deber RB, Guttmann A, McGeer A, Krahn M. Another look at the human papillomavirus vaccine experience in Canada. *Am J Public Health* 2011;101:1850-1857.
- (65) Colgrove J, Abiola S, Mello MM. HPV vaccination mandates--lawmaking amid political and scientific controversy. *N Engl J Med* 2010;363:785-791.
- (66) Yamamoto N, Mori R, Jacklin P et al. Introducing HPV vaccine and scaling up screening procedures to prevent deaths from cervical cancer in Japan: a cost-effectiveness analysis. *BJOG* 2011.
- (67) Gien LT, Beauchemin MC, Thomas G. Adenocarcinoma: a unique cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2010;116:140-146.
- (68) Bray F, Carstensen B, Moller H et al. Incidence trends of adenocarcinoma of the cervix in 13 European countries. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:2191-2199.
- (69) Sherman ME, Wang SS, Carreon J, Devesa SS. Mortality trends for cervical squamous and adenocarcinoma in the United States. Relation to incidence and survival. *Cancer* 2005;103:1258-1264.
- (70) Wang SS, Sherman ME, Silverberg SG et al. Pathological characteristics of cervical adenocarcinoma in a multi-center US-based study. *Gynecol Oncol* 2006;103:541-546.
- (71) The Bethesda System for reporting cervical/vaginal cytologic diagnoses: revised after the second National Cancer Institute Workshop, April 29-30, 1991. *Acta Cytol* 1993;37:115-124.
- (72) Appleby P, Beral V, Berrington de GA et al. Carcinoma of the cervix and tobacco smoking: collaborative reanalysis of individual data on 13,541 women with carcinoma of the cervix and 23,017 women without carcinoma of the cervix from 23 epidemiological studies. *Int J Cancer* 2006;118:1481-1495.
- (73) Castellsague X, Diaz M, de SS et al. Worldwide human papillomavirus etiology of cervical adenocarcinoma and its cofactors: implications for screening and prevention. *J Natl Cancer Inst* 2006;98:303-315.

- (74) Berrington de GA, Sweetland S, Green J. Comparison of risk factors for squamous cell and adenocarcinomas of the cervix: a meta-analysis. *Br J Cancer* 2004;90:1787-1791.
- (75) Comparison of risk factors for invasive squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the cervix: collaborative reanalysis of individual data on 8,097 women with squamous cell carcinoma and 1,374 women with adenocarcinoma from 12 epidemiological studies. *Int J Cancer* 2007;120:885-891.
- (76) Green J, Berrington de GA, Smith JS et al. Human papillomavirus infection and use of oral contraceptives. *Br J Cancer* 2003;88:1713-1720.
- (77) Smith JS, Green J, Berrington de GA et al. Cervical cancer and use of hormonal contraceptives: a systematic review. *Lancet* 2003;361:1159-1167.
- (78) Cohen MM. Why is there no progress against cervical cancer? *CMAJ* 1996;154:1867-1869.
- (79) ACOG Committee on Practice Bulletins--Gynecology. ACOG Committee Opinion No. 425: health care for undocumented immigrants. *Obstet Gynecol* 2009;113:251-254.
- (80) Shavers VL, Brown ML. Racial and ethnic disparities in the receipt of cancer treatment. *J Natl Cancer Inst* 2002;94:334-357.
- (81) Dalmon C, Guillot E, Rodrigues A et al. Access to preventative care, screening and treatment of women in vulnerable socio-economic groups presenting with cervical cancer. *Bull Cancer* 2009;96:961-969.
- (82) Lazcano-Ponce EC, Castro R, Allen B, Najera P, Onso de Ruiz PA, Hernandez-Avila M. Barriers to early detection of cervical-uterine cancer in Mexico. *J Womens Health* 1999;8:399-408.
- (83) Hildesheim A, Herrero R, Castle PE et al. HPV co-factors related to the development of cervical cancer: results from a population-based study in Costa Rica. *Br J Cancer* 2001;84:1219-1226.
- (84) Winslow CE. The cost of sickness and the price of health. World Health Organization. 1951. *Bull World Health Organ* 2006;84:153-158.
- (85) Pryer J, Rogers S, Rahman A. Work disabling illness and coping strategies in Dhaka slums, Bangladesh. Chronic Poverty Research Center.
- (86) Kyegombe N. Health and Chronic Poverty. Background Paper for the Chronic Poverty Report 2004-5.
- (87) Grant U. Health and Poverty Linkages: Perspectives of the chronically poor. Linking Health and Chronic Poverty. 2009.

- (88) Hulme and Lawson D. Health, health care, poverty and wellbeing: an overview. 2010.
- (89) Buss PM. Globalization, poverty and health. *Cien Saude Colet* 2007;12:1575-1589.
- (90) Hart JT. The inverse care law. *Lancet* 1971;1:405-412.
- (91) Gore C. Globalization, the International Poverty Trap and Chronic Poverty in the Least Developed Countries. 2002.
- (92) Berthelemy JC. Relationships between health, development and poverty reduction. *C R Biol* 2008;331:903-918.
- (93) Halonen T, Mkapa BW. A fair globalization: creating opportunities for all. *The World Commission on the Social Dimension of Globalization* [serial online] 2004; Accessed May 22, 2010.
- (94) Merhy EE. *Saúde: A cartografia do trabalho vivo em ato*. 3a ed. São Paulo: 2007.
- (95) Buss PM, Pellegrini FA. Iniquities in health in Brazil, our more serious illness: commentaries on the reference document and works of the Commission on Social Determinants of Health. *Cad Saude Publica* 2006;22:2005-2008.
- (96) Infante A, de IM, I, Lopez-Acuna D. Reform of health systems in Latin America and the Caribbean: situation and trends. *Rev Panam Salud Publica* 2000;8:13-20.
- (97) United Nations Millennium Declaration - Resolution adopted by the General Assembly. 8-9-2000.
- (98) Assembléia Nacional Constituinte de 1988. *Constituição da Republica Federativa do Brasil*. 1988.
- (99) IPEA, Texto para Discussão 1376. A Constituição de um Modelo de Atenção à Saúde Universal: Uma Promessa não Cumprida pelo SUS? 2009.
- (100) dos Santos NR. The evolution of the Brazilian National Health System, strategic courses of action and strategies to understand these actions. *Cien Saude Colet* 2007;12:429-435.
- (101) ABRASCO, CEBES, ABRES, rede UNIDA, AMPASA. Forum da Reforma Sanitaria Brasileira: Reafirmando Compromissos com a Saude dos Brasileiros. 2006.
- (102) Ministerio da Saúde do Brasil, Serie A: Manuais e Normas Técnicas. Comissão Intergestores Tripartite do SUS: Pactos pela vida, em defesa do SUS e da gestão. 2006.

- (103) La Vecchia C, Franceschi S, Decarli A, Fasoli M, Gentile A, Tognoni G. Pap smear and the risk of cervical neoplasia: quantitative estimates from a case-control study. *Lancet* 1984;2:779-782.
- (104) Papanicolaou GN, Traut HF. The diagnostic value of vaginal smears in carcinoma of the uterus. 1941. *Arch Pathol Lab Med* 1997;121:211-224.
- (105) Felix JC, Amezcua C. In vitro adjuncts to the pap smear. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2002;29:685-99, vii.
- (106) Sawaya GF. Papanicolaou testing: when does more become less? *Am J Med* 2005;118:159-160.
- (107) ACOG Committee on Practice Bulletins--Gynecology. ACOG Practice Bulletin no. 109: Cervical cytology screening. *Obstet Gynecol* 2009;114:1409-1420.
- (108) Gustafsson L, Sparen P, Gustafsson M, Wilander E, Bergstrom R, Adami HO. Efficiency of organised and opportunistic cytological screening for cancer in situ of the cervix. *Br J Cancer* 1995;72:498-505.
- (109) Miller AB, Sankaranarayanan R, Bosch FX, Sepulveda C. Can screening for cervical cancer be improved, especially in developing countries? *Int J Cancer* 2003;107:337-340.
- (110) Sepulveda C, Prado R. Effective cervical cytology screening programmes in middle-income countries: the Chilean experience. *Cancer Detect Prev* 2005;29:405-411.
- (111) Ronco G, Giubilato P, Naldoni C et al. Extension of organised cervical cancer screening programmes in Italy and their process indicators: 2007 activity. *Epidemiol Prev* 2009;33:41-56.
- (112) Ronco G, van BM, Becker N et al. Process performance of cervical screening programmes in Europe. *Eur J Cancer* 2009;45:2659-2670.
- (113) Gustafsson L, Ponten J, Zack M, Adami HO. International incidence rates of invasive cervical cancer after introduction of cytological screening. *Cancer Causes Control* 1997;8:755-763.
- (114) Gustafsson L, Ponten J, Bergstrom R, Adami HO. International incidence rates of invasive cervical cancer before cytological screening. *Int J Cancer* 1997;71:159-165.
- (115) Nanda K, McCrory DC, Myers ER et al. Accuracy of the Papanicolaou test in screening for and follow-up of cervical cytologic abnormalities: a systematic review. *Ann Intern Med* 2000;132:810-819.
- (116) Martins LF, Thuler LS, Valente JG. Coverage of PAP smears in Brazil and its determinig factors: a systematic literature review. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2005;27:485-492.

- (117) Trunk MJ, Ienbach-Hellweg G, Ridder R et al. Morphologic characteristics of p16INK4a-positive cells in cervical cytology samples. *Acta Cytol* 2004;48:771-782.
- (118) Arbyn M, Bergeron C, Klinkhamer P, Martin-Hirsch P, Siebers AG, Bulten J. Liquid compared with conventional cervical cytology: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol* 2008;111:167-177.
- (119) Felix JC, Lonky NM, Tamura K et al. Aberrant expression of E-cadherin in cervical intraepithelial neoplasia correlates with a false-negative Papanicolaou smear. *Am J Obstet Gynecol* 2002;186:1308-1314.
- (120) Keating JT, Ince T, Crum CP. Surrogate biomarkers of HPV infection in cervical neoplasia screening and diagnosis. *Adv Anat Pathol* 2001;8:83-92.
- (121) 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;52:358-362.
- (122) Renshaw AA, Prey MU, Hodes L, Weisson M, Haja J, Moriarty AT. Cytologic features of high-grade squamous intraepithelial lesion in conventional slides: what is the difference between cases that perform well and those that perform poorly? *Arch Pathol Lab Med* 2005;129:733-735.
- (123) Smith PA, Turnbull LS. Small cell and 'pale' dyskaryosis. *Cytopathology* 1997;8:3-8.
- (124) Bergeron C, Debaque H, Ayivi J, Amaizo S, Fagnani F. Cervical smear histories of 585 women with biopsy-proven carcinoma in situ. *Acta Cytol* 1997;41:1676-1680.
- (125) Cohn DE, Herzog TJ. New innovations in cervical cancer screening. *Clin Obstet Gynecol* 2001;44:538-549.
- (126) Sato S, Mikino H, Matsunaga G, Yajima A. False negative rate in mass screening for cervical cancer. *Acta Cytol* 1998;42:836-837.
- (127) Schneider V, Henry MR, Jimenez-Ayala M, Turnbull LS, Wright TC. Cervical cancer screening, screening errors and reporting. *Acta Cytol* 2001;45:493-498.
- (128) Stoler MH, Schiffman M. Interobserver reproducibility of cervical cytologic and histologic interpretations: realistic estimates from the ASCUS-LSIL Triage Study. *JAMA* 2001;285:1500-1505.
- (129) Eaker S, Adami HO, Sparen P. Reasons women do not attend screening for cervical cancer: a population-based study in Sweden. *Prev Med* 2001;32:482-491.

- (130) Eaker S, Adami HO, Sparen P. Attitudes to screening for cervical cancer: a population-based study in Sweden. *Cancer Causes Control* 2001;12:519-528.
- (131) Giorgi RP, Esposito G, Brezzi S, Brachini A, Raggi P, Federici A. Estimation of Pap-test coverage in an area with an organised screening program: challenges for survey methods. *BMC Health Serv Res* 2006;6:36.
- (132) Kinney W, Sung HY, Kearney KA, Miller M, Sawaya G, Hiatt RA. Missed opportunities for cervical cancer screening of HMO members developing invasive cervical cancer (ICC). *Gynecol Oncol* 1998;71:428-430.
- (133) Amorim VM, Barros MB, Cesar CL, Carandina L, Goldbaum M. Factors associated with women's failure to submit to Pap smears: a population-based study in Campinas, Sao Paulo, Brazil. *Cad Saude Publica* 2006;22:2329-2338.
- (134) Pinho AA, Franca J, I, Schraiber LB, D'Oliveira AF. Coverage and factors involved in submitting to the Papanicolaou test in the Municipality of Sao Paulo. *Cad Saude Publica* 2003;19 Suppl 2:S303-S313.
- (135) Brenna SM, Hardy E, Zeferino LC, Namura I. Knowledge, attitudes, and practices related to the Pap smear among women with cervical cancer. *Cad Saude Publica* 2001;17:909-914.
- (136) Cesar JA, Horta BL, Gomes G et al. Factors associated with non-participation in screening for cervical cancer in Southern Brazil. *Cad Saude Publica* 2003;19:1365-1372.
- (137) Rede Câncer. Cancer do Colo do utero. *Rede Cancer* [serial online] 2010.
- (138) Instituto Nacional do Cancer, Ministério da Saúde do Brasil. Programa Nacional de Controle do Câncer do Colo Uterino. *INCA* [serial online] 2002.
- (139) Ministério da Saúde do Brasil. Controle dos Cânceres do Colo do Útero e Mama. <http://bvsmms.saude.gov.br> [serial online] 2006; Caderno de Atenção Basica numero 13.
- (140) Neto AR, Ribalta JCL, Focchi J, Baracat EC. Avaliação dos Metodos Empregados no Programa Nacional de Combate ao Cancer do Colo Uterino do Ministerio da Saude. *RBGO* 2001;23:209-216.
- (141) Thuler LCS, Zardo LM, Zeferino LC. Perfil dos Laboratórios de Citopatologia do Sistema Único de Saúde. *J Bras Patol Med Lab* 2007;43:103-114.
- (142) Instituto Nacional do Cancer. Percentual de Citologia Anterior. www.inca.gov.br/painel/p2/ [serial online] 2010.

- (143) Instituto Nacional do Cancer. Razão entre Exames Citopatológicos e Mulheres da População. *www.inca.gov.br/painel/p1/* [serial online] 2010.
- (144) Instituto Nacional do Cancer. Razão entre a Lesão de Alto-Grau e Carcinoma Invasor. *www.inca.gov.br/painel/p4/* [serial online] 2010.
- (145) Instituto Nacional do Cancer, Ministério da Saúde do Brasil. Informativo Trimestral (número 1) do Instituto Nacional do Câncer. 2010.
- (146) Instituto Nacional do Cancer. Atlas de Mortalidade por Câncer Número médio de anos potenciais de vida perdidos por câncer de colo do útero, por 1.000 mulheres, Brasil, entre 1997 e 2007. *www.mortalidade.inca.gov.br/prepararModelo06.action* [serial online] 2007.
- (147) Kulasingam SL, Myers ER, Lawson HW et al. Cost-effectiveness of extending cervical cancer screening intervals among women with prior normal pap tests. *Obstet Gynecol* 2006;107:321-328.
- (148) Sawaya GF, McConnell KJ, Kulasingam SL et al. Risk of cervical cancer associated with extending the interval between cervical-cancer screenings. *N Engl J Med* 2003;349:1501-1509.
- (149) Coldman A, Phillips N, Kan L, Matisic J, Benedet L, Towers L. Risk of invasive cervical cancer after three consecutive negative Pap smears. *J Med Screen* 2003;10:196-200.
- (150) Coldman A, Phillips N, Kan L, Matisic J, Benedet L, Towers L. Risk of invasive cervical cancer after Pap smears: the protective effect of multiple negatives. *J Med Screen* 2005;12:7-11.
- (151) Rebolj M, van BM, Lynge E et al. Incidence of cervical cancer after several negative smear results by age 50: prospective observational study. *BMJ* 2009;338:b1354.
- (152) Meijer CJ, Snijders PJ, Castle PE. Clinical utility of HPV genotyping. *Gynecol Oncol* 2006;103:12-17.
- (153) Castle PE, Dockter J, Giachetti C et al. A cross-sectional study of a prototype carcinogenic human papillomavirus E6/E7 messenger RNA assay for detection of cervical precancer and cancer. *Clin Cancer Res* 2007;13:2599-2605.
- (154) Lorincz AT, Castle PE, Sherman ME et al. Viral load of human papillomavirus and risk of CIN3 or cervical cancer. *Lancet* 2002;360:228-229.
- (155) Pett M, Coleman N. Integration of high-risk human papillomavirus: a key event in cervical carcinogenesis? *J Pathol* 2007;212:356-367.
- (156) Vinokurova S, Wentzensen N, Kraus I et al. Type-dependent integration frequency of human papillomavirus genomes in cervical lesions. *Cancer Res* 2008;68:307-313.

- (157) Kalantari M, Calleja-Macias IE, Tewari D et al. Conserved methylation patterns of human papillomavirus type 16 DNA in asymptomatic infection and cervical neoplasia. *J Virol* 2004;78:12762-12772.
- (158) Turan T, Kalantari M, Calleja-Macias IE et al. Methylation of the human papillomavirus-18 L1 gene: a biomarker of neoplastic progression? *Virology* 2006;349:175-183.
- (159) Heselmeyer-Haddad K, Janz V, Castle PE et al. Detection of genomic amplification of the human telomerase gene (TERC) in cytologic specimens as a genetic test for the diagnosis of cervical dysplasia. *Am J Pathol* 2003;163:1405-1416.
- (160) Heselmeyer-Haddad K, Sommerfeld K, White NM et al. Genomic amplification of the human telomerase gene (TERC) in pap smears predicts the development of cervical cancer. *Am J Pathol* 2005;166:1229-1238.
- (161) Rocha AS, Bozzetti MC, Kirschnick LS, Edelweiss MI. Antibody anti-p16(INK4a) in cervical cytology. *Acta Cytol* 2009;53:253-262.
- (162) Sano T, Oyama T, Kashiwabara K, Fukuda T, Nakajima T. Immunohistochemical overexpression of p16 protein associated with intact retinoblastoma protein expression in cervical cancer and cervical intraepithelial neoplasia. *Pathol Int* 1998;48:580-585.
- (163) Agoff SN, Lin P, Morihara J, Mao C, Kiviat NB, Koutsky LA. p16INK4a expression correlates with degree of cervical neoplasia: a comparison with Ki-67 expression and detection of high-risk HPV types. *Mod Pathol* 2003;16:665-673.
- (164) Bibbo M, Klump WJ, DeCecco J, Kovatich AJ. Procedure for immunocytochemical detection of P16INK4A antigen in thin-layer, liquid-based specimens. *Acta Cytol* 2002;46:25-29.
- (165) Bibbo M, DeCecco J, Kovatich AJ. p16INK4A as an adjunct test in liquid-based cytology. *Anal Quant Cytol Histol* 2003;25:8-11.
- (166) Kanao H, Enomoto T, Ueda Y et al. Correlation between p14(ARF)/p16(INK4A) expression and HPV infection in uterine cervical cancer. *Cancer Lett* 2004;213:31-37.
- (167) Keating JT, Cviko A, Riethdorf S et al. Ki-67, cyclin E, and p16INK4 are complimentary surrogate biomarkers for human papilloma virus-related cervical neoplasia. *Am J Surg Pathol* 2001;25:884-891.
- (168) Klaes R, Benner A, Friedrich T et al. p16INK4a immunohistochemistry improves interobserver agreement in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol* 2002;26:1389-1399.

- (169) Murphy N, Ring M, Killalea AG et al. p16INK4A as a marker for cervical dyskaryosis: CIN and cGIN in cervical biopsies and ThinPrep smears. *J Clin Pathol* 2003;56:56-63.
- (170) Murphy N, Ring M, Heffron CC et al. p16INK4A, CDC6, and MCM5: predictive biomarkers in cervical preinvasive neoplasia and cervical cancer. *J Clin Pathol* 2005;58:525-534.
- (171) Negri G, Vittadello F, Romano F et al. p16INK4a expression and progression risk of low-grade intraepithelial neoplasia of the cervix uteri. *Virchows Arch* 2004;445:616-620.
- (172) Pientong C, Ekalaksananan T, Swadpanich U et al. Immunocytochemical detection of p16INK4a protein in scraped cervical cells. *Acta Cytol* 2003;47:616-623.
- (173) Saqi A, Pasha TL, McGrath CM, Yu GH, Zhang P, Gupta P. Overexpression of p16INK4A in liquid-based specimens (SurePath) as marker of cervical dysplasia and neoplasia. *Diagn Cytopathol* 2002;27:365-370.
- (174) Wang JL, Zheng BY, Li XD, Angstrom T, Lindstrom MS, Wallin KL. Predictive significance of the alterations of p16INK4A, p14ARF, p53, and proliferating cell nuclear antigen expression in the progression of cervical cancer. *Clin Cancer Res* 2004;10:2407-2414.
- (175) Wentzensen N, Bergeron C, Cas F, Eschenbach D, Vinokurova S, von Knebel DM. Evaluation of a nuclear score for p16INK4a-stained cervical squamous cells in liquid-based cytology samples. *Cancer* 2005;105:461-467.
- (176) Tsoumpou I, Arbyn M, Kyrgiou M et al. p16(INK4a) immunostaining in cytological and histological specimens from the uterine cervix: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Treat Rev* 2009;35:210-220.
- (177) Stewart DE, Gagliardi A, Johnston M et al. Self-collected samples for testing of oncogenic human papillomavirus: a systematic review. *J Obstet Gynaecol Can* 2007;29:817-828.
- (178) Weigl BH, Boyle DS, de los ST, Peck RB, Steele MS. Simplicity of use: a critical feature for widespread adoption of diagnostic technologies in low-resource settings. *Expert Rev Med Devices* 2009;6:461-464.
- (179) Qiao YL, Sellors JW, Eder PS et al. A new HPV-DNA test for cervical-cancer screening in developing regions: a cross-sectional study of clinical accuracy in rural China. *Lancet Oncol* 2008;9:929-936.
- (180) Peck RB, Schweizer J, Weigl BH et al. A magnetic immunochromatographic strip test for detection of human papillomavirus 16 E6. *Clin Chem* 2006;52:2170-2172.

- (181) Balasubramanian A, Hughes J, Mao C et al. Evaluation of an ELISA for p16INK4a as a screening test for cervical cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009;18:3008-3017.
- (182) Mao C, Balasubramanian A, Yu M et al. Evaluation of a new p16(INK4A) ELISA test and a high-risk HPV DNA test for cervical cancer screening: results from proof-of-concept study. *Int J Cancer* 2007;120:2435-2438.
- (183) Dzuba IG, Diaz EY, Allen B et al. The acceptability of self-collected samples for HPV testing vs. the pap test as alternatives in cervical cancer screening. *J Womens Health Gend Based Med* 2002;11:265-275.
- (184) Morrison EA, Goldberg GL, Hagan RJ, Kadish AS, Burk RD. Self-administered home cervicovaginal lavage: a novel tool for the clinical-epidemiologic investigation of genital human papillomavirus infections. *Am J Obstet Gynecol* 1992;167:104-107.
- (185) Moscicki AB. Comparison between methods for human papillomavirus DNA testing: a model for self-testing in young women. *J Infect Dis* 1993;167:723-725.
- (186) Chang CC, Tseng CJ, Liu WW et al. Clinical evaluation of a new model of self-obtained method for the assessment of genital human papilloma virus infection in an underserved population. *Chang Gung Med J* 2002;25:664-671.
- (187) Lorenzato FR, Singer A, Ho L et al. Human papillomavirus detection for cervical cancer prevention with polymerase chain reaction in self-collected samples. *Am J Obstet Gynecol* 2002;186:962-968.
- (188) Gravitt PE, Lacey JV, Jr., Brinton LA et al. Evaluation of self-collected cervicovaginal cell samples for human papillomavirus testing by polymerase chain reaction. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10:95-100.
- (189) Kahn JA. Self-testing for human papillomavirus using a vaginal swab: placing prevention of cervical cancer in the patient's hands. *Ann Oncol* 2004;15:847-849.
- (190) Petignat P, Faltin DL, Bruchim I, Tramer MR, Franco EL, Coutlee F. Are self-collected samples comparable to physician-collected cervical specimens for human papillomavirus DNA testing? A systematic review and meta-analysis. *Gynecol Oncol* 2007;105:530-535.
- (191) Coutlee F, Hankins C, Lapointe N. Comparison between vaginal tampon and cervicovaginal lavage specimen collection for detection of human papillomavirus DNA by the polymerase chain reaction. The Canadian Women's HIV Study Group. *J Med Virol* 1997;51:42-47.
- (192) Fairley CK, Chen S, Tabrizi SN, Leeton K, Quinn MA, Garland SM. The absence of genital human papillomavirus DNA in virginal women. *Int J STD AIDS* 1992;3:414-417.

- (193) Nobbenhuis MA, Helmerhorst TJ, van den Brule AJ et al. Primary screening for high risk HPV by home obtained cervicovaginal lavage is an alternative screening tool for unscreened women. *J Clin Pathol* 2002;55:435-439.
- (194) Agorastos T, Dinas K, Lloveras B et al. Self-sampling versus physician-sampling for human papillomavirus testing. *Int J STD AIDS* 2005;16:727-729.
- (195) Wright TC, Jr., Denny L, Kuhn L, Pollack A, Lorincz A. HPV DNA testing of self-collected vaginal samples compared with cytologic screening to detect cervical cancer. *JAMA* 2000;283:81-86.
- (196) Brink AA, Meijer CJ, Wiegerinck MA et al. High concordance of results of testing for human papillomavirus in cervicovaginal samples collected by two methods, with comparison of a novel self-sampling device to a conventional endocervical brush. *J Clin Microbiol* 2006;44:2518-2523.
- (197) Pengsaa P, Sriamporn S, Kritpetcharat O et al. A comparison of cytology with Pap smears taken by a gynecologist and with a self-sampling device. *Asian Pac J Cancer Prev* 2003;4:99-102.
- (198) Virtanen A, Anttila A, Luostarinen T, Nieminen P. Self-sampling versus reminder letter: effects on cervical cancer screening attendance and coverage in Finland. *Int J Cancer* 2011;128:2681-2687.
- (199) Bais AG, van Kemenade FJ, Berkhof J et al. Human papillomavirus testing on self-sampled cervicovaginal brushes: an effective alternative to protect nonresponders in cervical screening programs. *Int J Cancer* 2007;120:1505-1510.
- (200) Bais AG, van Kemenade FJ, Berkhof J et al. Human papillomavirus testing on self-sampled cervicovaginal brushes: an effective alternative to protect nonresponders in cervical screening programs. *Int J Cancer* 2007;120:1505-1510.
- (201) Castle PE, Aftab A, Saint-Jean G, Mendez L. Detection of carcinogenic human papillomavirus in specimens collected with a novel self-sampling device. *J Clin Microbiol* 2006;44:2158-2159.
- (202) Knesel BW, Dry JC, Wald-Scott C, Aftab A. Preliminary evaluation of a cervical self-sampling device with liquid-based cytology and multiparameter molecular testing. *J Reprod Med* 2005;50:256-260.

7 Artigo 1 em inglês

Assessment of the *Fournier*[®] cervical specimen self-sampling device using the *Papanicolaou* method

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-graduação em Medicina: Ciências Médicas

Alexandre da Silva Rocha*, Pedro Guilherme Schaeffer**, Luise Meurer***,
Carolina Rigatti Hartmann**, Maria Isabel Albano Edelweiss***

*Obstetrician and Gynecologist, MsC, PhD Student at the Universidade Federal do Rio Grande do Sul / Brasil

**Pathologist, Department of Pathology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre

***Associate Professor, Department of Pathology, UFRGS, PhD

Corresponding author:
Alexandre da Silva Rocha
rochagin@hotmail.com.br
Rua Frei Germano n° 200/503B
Bairro São José CEP 91530-060
Porto Alegre / RS
Brasil

Abstract

Introduction: Communities of socially excluded immigrant women, especially Muslim, Asian, Aboriginal, and Maroon, are among the groups of women with low rates of cervical screening. The exclusion of the pelvic speculum examination may result in a higher acceptance of cervical screening among these communities and an increase in screening coverage.

Aim: To assess the performance of the Fournier® cervical specimen self-sampling device for the cytological diagnosis of precursor or neoplastic lesions in the uterine cervix using the *Papanicolaou* method.

Methods: A case-control study was conducted at the Cervical Pathology Outpatient Clinic. Liquid-based cytology slides were obtained by the Fournier® device and stained using the *Papanicolaou* method. The slides were analyzed by two pathologists, blinded for the colposcopic and histological results, and compared to Pap smears that were obtained using the traditional method of speculum examination.

Results: The sample collection resulted in the identification of 68 patients who were considered free from precursor or neoplastic cervical lesions. There were 35 cases of low-grade lesions, 13 cases of high-grade lesions, and 3 cases of squamous cell carcinoma. According to the first and second pathologists, the sensitivities of the device for identifying precursor or neoplastic cervical lesions were 50,0% and 60,0%; the specificities of the method were 81,8% and 73,8%. According to the first and second pathologists, the positive predictive values of the diagnostic test were 0.67 and 0.63, and the negative predictive values were 0.68 and 0.71, respectively.

Conclusion: The results revealed that the sensitivity and specificity of the Fournier® device was comparable to those demonstrated by Pap smears that were obtained using the traditional method with speculum examination.

1. Introduction

The reduction of the morbidity and mortality of cervical cancer depends on an increase in the number of tests among groups of women who do not participate in screening programs or who are infrequently screened;¹ however, the requirement of exposing the genital area for speculum examination has been identified as one of the most important limiting factors against increasing the scope of cervical screening.¹⁻³

Communities of socially excluded immigrant women, especially Muslim, Asian, Aboriginal, and Maroon, are among the groups of women with low rates of cervical screening. However, the exclusion of the pelvic speculum examination may result in a higher acceptance of cervical screening among these communities and an increase in screening coverage.^{3;4}

Approximately twenty years ago, Morrison and Moscicki proposed a self-sampling model for screening tests.^{5;6} Later studies assessed different blind sampling devices for the detection of high-risk oncogenic human papillomavirus (HPV) as an indicator for precursor or neoplastic cervical lesions. The results of these studies were similar. The sampling devices demonstrated a comparable sensitivity and a lower specificity when they were compared to conventional cytology, and these results were mainly due to the prevalence of non-persistent HPV infections in young women.⁷⁻⁹

Two studies that were published in 2005 and 2006 analyzed blind sampling of the vaginal fundus using the Fournier[®] device. The study by Knesel et al. employed hybrid capture to identify lesions on the uterine cervixes of 88 women who were subjected to speculum examination and sample collection

using the Fournier[®] device. Similar results were obtained using both methods for the diagnosis of viral infection; however, no control colposcopic or histological evaluations were included in the follow-up.¹⁰

The study by Castle et al. employed the same methodology in a study of 137 women and obtained similar results. The agreement between the diagnostic methods was 83% or Kappa 0.66; however, the cytology samples that were obtained in a conventional manner were considered to be the gold standard for the diagnosis of lesions with no colposcopic or histological confirmation.¹¹

There are few publications in the literature that address the cytological diagnosis of precursor or neoplastic cervical lesions from blind sampling of the vaginal fundus. This study aimed to compare the results of a cytological analysis of *Papanicolaou* smears that were collected using the Fournier[®] device with the results of a cytological analysis of samples that were collected using the traditional method with speculum examination.

2. Methods

This study consisted of a case-control investigation that was conducted at the Cervical Pathology Outpatient Clinic located at the District Health Management 06 headquarters in the municipality of Porto Alegre, Rio Grande do Sul, in collaboration with the Unified Health System (Sistema Único de Saúde - SUS), which provides universal health care in Brazil.

Patients with clinical or cytological suspicion of precursor or neoplastic cervical lesions who attended any of the eleven basic health units of

the region were referred to the Cervical Pathology Outpatient Clinic for diagnostic clarification between January 2008 and October 2009.

According to the census data that were obtained from the Brazilian Institute of Geography and Statistics (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE), a total of 188,613 inhabitants lived in the area in 2007, and approximately 53% of the inhabitants were women. The average family income in the region ranges from 2.60 to 7.54 regional minimum wages, and the majority of families live in states of social vulnerability. Cervical cancer is the fourth most common type of cancer among women in this region.¹²

First, the medical history of all of the patients was reviewed, and the initial cervical cytology was confirmed. Next, patients were invited to participate in the study and were presented with the informed consent form. Upon signing the consent form, patients were included in the study after filling out a standard form that addressed their clinical and epidemiological characteristics.

Prior to the routine colposcopic examination, a blind cell sample collection from the vaginal fundus was performed using the Fournier[®] device and stored in PreservCyt conservation medium (Cytoc Corporation, Marlborough, MA, USA) for subsequent plating and staining using the *Papanicolaou* method.

Figure 1 shows a Fournier's device example.

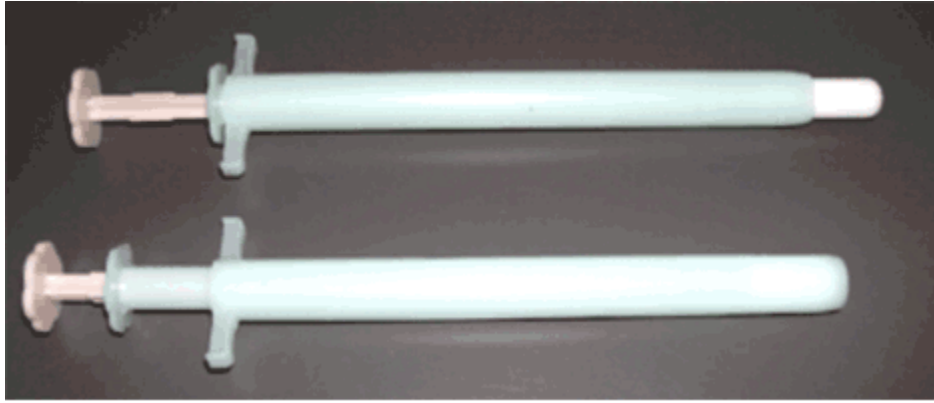


Figure 1: Example of Fournier® device

All of the samples were collected by the author of this paper (ASR) in the following standardized manner to prevent measurement bias: insertion of the device until the vaginal fundus was reached, exposure of the porous extremity of the device, six 360 degree rotations at the vaginal fundus, and retraction of the porous extremity into the body of the device. Finally, the device was withdrawn from the vaginal fundus, and the extremity was stored for later evaluation.

Colposcopy was performed using a DFV® colposcope with binocular image magnification that was fixed seven times and the following solutions: 5% acetic acid, Schiller's iodine-iodide solution, and 0.9% saline.

The smear of the liquid-based cytology slides was performed in a standardized manner using cito-spin centrifuges (Citopar Laboratory, Paraná, Brazil) with subsequent staining using the *Papanicolaou* method. The slides were analyzed by two pathologists (MIAE and PGS) who were specialized in gynecological cytology and blinded to the results of the colposcopic and histological analyses.

The patients who were included in this study underwent an initial gynecological assessment and had a recent conventional cytology sample

collected and stained using the *Papanicolaou* method. The cytological diagnosis was initially made by staff pathologists at the city of Porto Alegre.

The 2001 Bethesda Classification System was used for the analysis of the cytology slides that were obtained from liquid-based medium or conventional methods.^{13;14}

The classification of the International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy, which was approved in 2002 and recommended by the Brazilian Association of Genitoscopy, was used for the colposcopic evaluations.¹⁵

Based on the initial cytological evaluation and colposcopy, a diagnostic biopsy of the uterine cervix was performed according to the consensus of the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, which was published in 2001 and revised in 2006.^{13;16}

Patients with cytology results that were consistent with high-grade intraepithelial lesions or cancer and satisfactory colposcopy that was compatible with high-grade lesions or low-grade lesions were referred for early cervical biopsy.

In the cases of Low-grade Squamous Intraepithelial Lesions (L-SIL), Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance (Asc-US), Atypical Squamous Cells - with the inability to exclude high-grade squamous intraepithelial lesion (Asc-H), Atypical Glandular Cells (AGC), and normal colposcopy or colposcopy with metaplastic alterations were monitored at six month intervals and biopsied if the cytocolposcopic assessment worsened. In this group, the presence of a satisfactory colposcopy that was compatible with low or high-grade lesions on an initial evaluation was followed by early cervical

biopsy.

Cases of unsatisfactory colposcopy were excluded from the study.

Biopsies were performed under local infiltration anesthesia with 2% lidocaine without a vasoconstrictor using a Baliu[®] type drill. The fragments were preserved in 10% formaldehyde and analyzed using standard staining with hematoxylin and eosin. Diagnoses that were based on biopsy specimens followed Richart's criteria: absence of precursor lesions, low-grade intraepithelial lesions or CIN 1 (low-grade cervical intraepithelial neoplasia), high-grade intraepithelial lesions or CIN 2/3 (high-grade cervical intraepithelial neoplasia), and invasive carcinoma (CA).¹⁷ (Annex f)

Patients who presented with an intact hymen, the absence of or inability to expose the cervix, a history of cervical conization, pregnancy or vaginitis/cervicitis (assessed by clinical and microscopic evaluation), and patients who were considered to be incapable of participating or who did not agree to participate in the study were excluded.

Figure 2 shows a flowchart of the process of acquiring cases and controls.

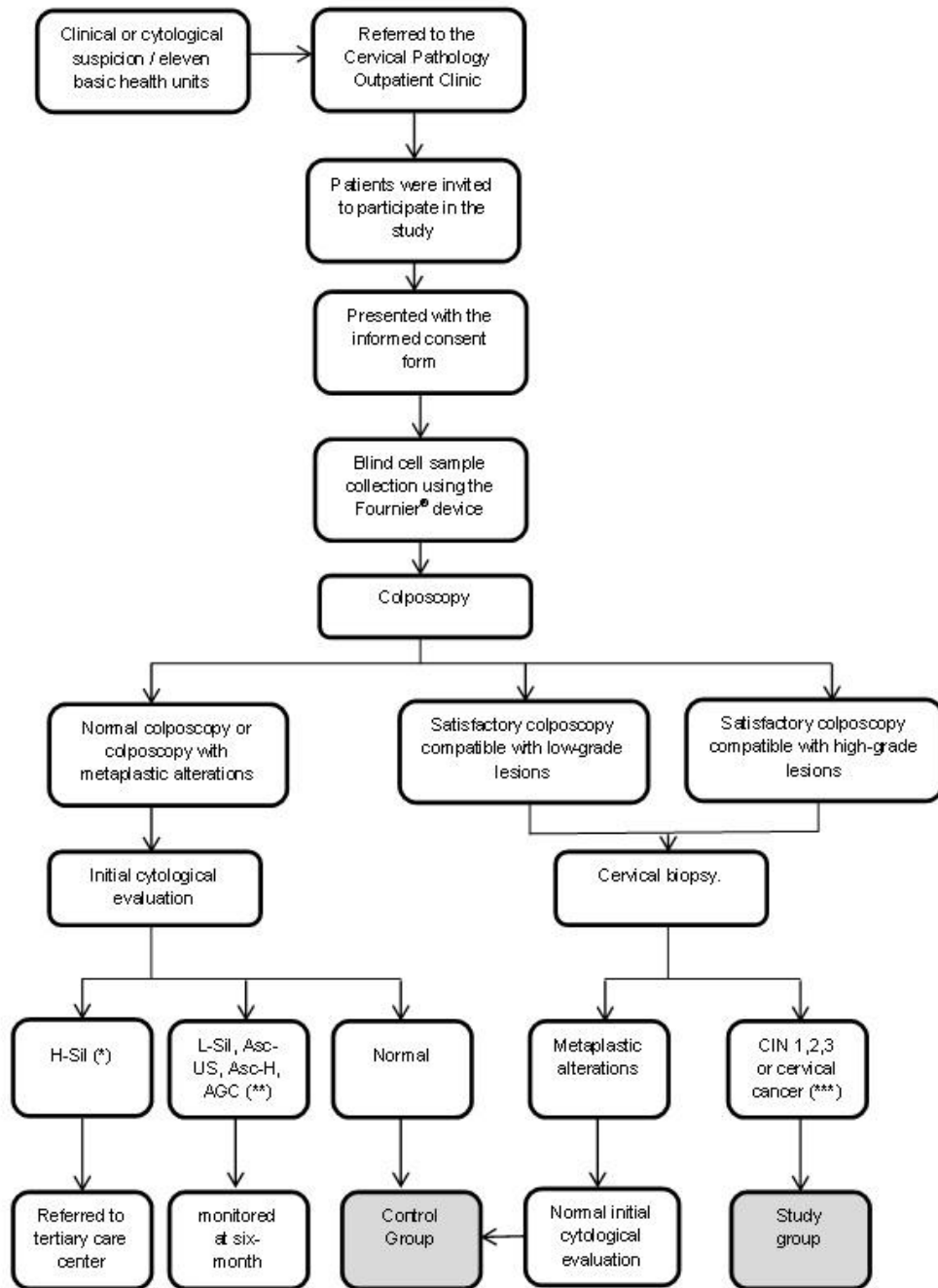


Figure 2: Flowchart of the process of acquiring cases and controls.

(*) High-grade squamous intraepithelial lesion

(**) Low-grade squamous intraepithelial lesion, atypical squamous cells of undetermined significance, atypical squamous cells with the inability to exclude high-grade squamous intraepithelial lesion, and cervical glandular atypia

(***) Intraepithelial neoplasia grades 1, 2, and 3

3. Sample Size Calculation

The sample size calculation was based on previous studies that analyzed the performance of self-sampling or blind sampling of the vaginal fundus for the screening of cervical lesions. Belinson, Holanda, and Nobbenhuis determined that the positive diagnosis of high-risk oncogenic HPV (HR-HPV) was a predictor for precursor or neoplastic cervical lesions; therefore, the sample size calculation was based on studies by these authors. There are few studies in the literature that have addressed cytological screening using blind sample collection.¹⁸⁻²⁰

Considering an 80% sensitivity for the diagnosis of cervical lesions from HR-HPV positivity, the sample size calculation resulted in 58 cases. Considering a mean specificity of 70% for the diagnosis of a normal cervix from HR-HPV negativity, the statistical package indicated 76 controls.

The PEPI[®] 6.0 statistical package (*Computer Programs for Epidemiologists*) was used with alpha parameters of 95% and a beta error of 10%.

4. Statistical Analysis

The clinical and epidemiological characteristics of the sample were based on the quantitative and categorical variables. The quantitative variables with symmetrical distributions were described as the mean and standard deviation, whereas the quantitative variables with asymmetrical distributions were described as the median and interquartile range.

The categorical variables were described as the absolute frequency and percentage.

The SPSS 16.0 statistical software (*Statistical Package for the Social Sciences*) was used to calculate the statistical significance based on the *p*-value.

Student's *t*-test was used for the variables with a normal distribution, and the "U" test (*Mann-Whitney-Wilcoxon*) was used for the calculations of asymmetrical variables.

Pearson's chi-squared test was used for the analysis of the categorical variables.

To calculate the sensitivity and specificity of the Fournier[®] device in diagnosing cervical lesions, the presence of disease was determined by cervical biopsy results that indicated the presence of CIN 1, CIN 2/3, or cervical carcinoma. The absence of disease was determined by a negative initial cytology result and normal colposcopy or colposcopy with metaplastic findings.

Among the cytological samples that were collected using the Fournier[®] device and stained using the *Papanicolaou* method, the samples that indicated cytological alterations, which were consistent with low-grade lesions, high-grade lesions, or cervical cancer, were considered to be positive diagnostic tests. The samples that were collected using the Fournier[®] device and indicated no cytological alterations using *Papanicolaou* staining were considered to be negative diagnostic tests.

5. Ethical Review

Ethical approval was obtained from the Research Ethics Committee of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

A random sample from the batch of Fournier[®] devices was tested microbiologically negative at the laboratory Steriliza, Porto Alegre/ RS.

6. Results

The sample collection resulted in the identification of 68 patients who were considered free from precursor or neoplastic cervical lesions. There were 35 cases of low-grade lesions, 13 cases of high-grade lesions, and 3 cases of squamous cell carcinoma.

Biopsies were refused in 9 cases after an initial suspect colposcopic diagnosis.

Table 1 outlines the main sociodemographic variables that were assessed by the investigators during the sampling of cases and controls.

The significant differences in age are noteworthy and revealed that women with cervical lesions were significantly younger than women with no cervical lesions.

Family income, the number of lifetime sexual partners, the number of sexual partners within the past year, history of sexually transmitted diseases, age at first sexual intercourse and the number of pregnancies were demonstrated to be equally distributed among the groups with and without cervical lesions.

Combination oral contraceptive pills were the most common contraceptive method cited, comprising 54% (n=71) of the sample. No

contraception was reported in 16% (n=21) of cases. Notably, there was a poor adherence to the use of condoms, which was reported in 7% of cases (n=10). The various contraceptive methods were equally distributed among the groups with and without cervical lesions.

Regarding the gynecological complaints that were reported for referral to the Cervical Pathology Outpatient Clinic, the most common complaint was bleeding after sexual intercourse, which occurred in 14% of cases (n=19), followed by dyspareunia, vulvar condylomatosis, and genital condylomatosis in a partner. The various gynecological complaints were equally distributed among the groups with and without cervical lesions.

Referrals to the Cervical Pathology Outpatient Clinic were based on an altered initial cytological examination (*Papanicolaou*) in 38% of cases (n=48); the remaining cases were referred due to the clinical suspicion of lesions or gynecological complaints.

Three patients were seropositive for the human immunodeficiency virus (HIV), and a cervical investigation in this group resulted in two histological diagnoses of cervical lesions and one diagnosis of normality.

Table 1: Sociodemographic variables of the sample cases and controls (n=119)

Variable	Result of Investigation	No cervix lesion (n= 68)	CIN 1 ⁽²⁾ , CIN 2/3 ⁽³⁾ , CA ⁽⁴⁾ (n= 51)	<i>P-value</i>
Years of life		37,3 ± 13,1	29,0 ± 9,0	<u><0,01</u>
Family Income (minimum wage / month)		2,4 ± 0,7	2,5 ± 0,7	0,37
Sexual debut		16,9 ± 2,6 years	16,1 ± 2,3 years	0,08

Sex partner (life)				
2 ou <	29 (42,6%)	20 (39,2%)		
3 ou >	39 (57,4%)	31 (60,8%)		0,71
Sex partner (last 12 months)	1,0 ± 0,4	1,1 ± 0,5		0,10
Pregnancy (median and interquartile range)	2 (1-3)	2 (1 – 3)		0,10
STD ⁽¹⁾	8 (11,9%)	10 (19,6%)		0,21

- (1) Sexually transmitted disease
(2) Low-grade squamous intraepithelial lesion
(3) High-grade squamous intraepithelial lesion
(4) Cervical squamous cell carcinoma

Table 2 presents the results of the cervical investigation, which was performed at the clinic according to the initial cytological diagnoses. The initial Pap smears were collected at the basic health units and performed on the samples of 107 patients who were included in the study and who comprised 90% of the sample population.

Among the patients who attended the Cervical Pathology Outpatient Clinic who underwent an initial cytology exam (n=107), 40,2% had altered results. Among these patients, biopsies confirmed histological lesions in 65,3% of cases. Among the patients with an initial negative cytology, biopsies were able to detect histological lesions in 34,7% of cases.

Importantly, among the patients who attended the outpatient clinic and who had an initial negative cytology (n=64), 17 patients presented with cervical lesions and 37 patients had no alterations according to the colposcopic examination; therefore, these patients were not referred for biopsy.

There were seven cases in which the patients refused biopsy and had an initial positive cytology. Among these cases, the colposcopy results were consistent with low-grade alterations in five cases and high-grade alterations in two cases.

The diagnostic sensitivity of the initial *Papanicolaou* cytology that was collected at the basic health units and triggered the process of the cervical investigation was 65,3% and its specificity was 81,0%.

Table 2: Evaluation of the initial *Papanicolaou* smears presented at the time of colposcopy.

Initial Pap smear \ Result of Investigation	No biopsy (n= 54)	Biopsy without lesion ¹ (n= 14)	Biopsy with lesion ² (n= 51)
Normal ³	37 (78,7%)	10 (90,9%)	17 (34,7%)
Lesion Suspect ⁴	10 (21,3%)	1 (9,1%)	32 (65,3%)

(1) Cervical biopsy that indicated chronic squamous metaplasia

(2) Cervical biopsy that indicated low-grade squamous intraepithelial lesion (CIN 1), high-grade squamous intraepithelial lesion (CIN 2-3), or squamous cell carcinoma

(3) Normal initial *Papanicolaou* smear or the presence of reactive alterations

(4) Initial *Papanicolaou* smear that was consistent with L-SIL, H-SIL, or cervical carcinoma

Table 3 shows the performance of the Fournier[®] device in detecting cervical lesions according to the results of the cervical investigation.

Liquid-based cytology, which was obtained with the Fournier[®] device, resulted in the identification of 50% of the cervical lesions according to the first pathologist and 60% of the lesions according to the second pathologist. Among the cases that presented with chronic reparative alterations of the cervix

(squamous metaplasia) and those cases that underwent biopsy due to suspected lesions based on colposcopy (n=13), cytological abnormalities were observed in 3 cases according to the second pathologist.

Regarding the cases of normal cervical investigation, including cases that were not biopsied and cases with biopsies that were negative for precursor or neoplastic lesions, the use of the Fournier[®] device resulted in negative cytology according to the pathologists in 68,3% and 70,5% of cases.

In cases of suspected cervical lesions based on colposcopy and the absence of histological confirmation (refusal), Pap smears that were obtained with the Fournier[®] device presented a similar profile: good agreement between the pathologists and a focus on the cytological diagnosis of normality.

The kappa index, which measures the agreement between the diagnoses that were obtained by the two pathologists, resulted in a value of 0.71 or an adequate index.

The analysis of the performance of the Fournier[®] device according to the first and second pathologists resulted in a sensitivity of 50,0% and 60,0%, respectively, whereas the specificity of the method was 81,8% and 73,8%, respectively. According to the first and second pathologists, the positive predictive values of the diagnostic test were 0.67 and 0.63, and the negative predictive values were 0.68 and 0.71, respectively.

Table 3: Performance of the Fournier[®] device for detecting cervical lesion.

<i>Fournier</i> [®] cytology	Result of investigation		
	No biopsy	Biopsy without lesion ¹	Biopsy with lesion ²

Pathologist 1 (n=116)	Normal ³	41 (77,4%)	13 (100%)	25 (50,0%)
	Lesion suspect ⁴	12 (22,6%)	0	25 (50,0%)
Pathologist 2 (n=115)	Normal	38 (73,1%)	10 (76,9%)	20 (40,0%)
	Lesion Suspect	14 (26,9%)	3(23,1%)	30 (60,0%)

(1) Cervical biopsy that indicated chronic squamous metaplasia

(2) Cervical biopsy that indicated low-grade squamous intraepithelial lesion, high-grade squamous intraepithelial lesion, or squamous cell carcinoma

(3) Normal Fournier® cytology or the presence of reactive alterations

(4) Fournier® cytology was consistent with low-grade cytological alterations, high-grade alterations, or invasive cervical carcinoma

7. Discussion

The approach to cervical screening with the use of devices that do not require speculum examination aims to provide an alternative to traditional screening, which requires the exposure of the genital area. Additionally, in settings with a minimal logistic structure for sample collection, this method offers an efficient and cost-effective alternative to traditional collection methods.

The sensitivities for the diagnosis of cytological alterations in cases of women with precursor or neoplastic cervical lesions were 50% and 60% according to the first and second pathologists, respectively. The specificities of the method, which were determined by detecting the presence of lesions among women with no cervical lesions, were 81,8% and 73,8% according to the first and second pathologists, respectively.

The sensitivity of the *Papanicolaou* smear is approximately 50% with significant variations from 30% to 87%.²¹ The meta-analysis that evaluated the

performance of the *Papanicolaou* smear among eleven studies included over 58,000 women in África and Índia and demonstrated a sensitivity of 57% with variations from 38% to 76%. In addition, the study revealed an adequate specificity of 93% with variations from 89% to 97%.²²

The kappa index for the inter observer variations in the analysis of the cytology samples that were obtained through blind sample collection from the vaginal fundus was found to be adequate at 0.71.

Blind sample collection from the vaginal fundus did not result in a decreased sensitivity or specificity of the method. This finding is most likely due to the capacity of the device to selectively collect cellularity from the vaginal fundus and cervix without contaminating the sample with vaginal cells during insertion and removal from the vaginal canal.

Furthermore, the porous extremity of the device can be fully inserted into the vaginal canal, thereby sheltering the entire sample collected and enabling the sampling of a sufficient number of cells for the correct diagnosis of cervical cytology.

However, it should be noted that this study was conducted in an outpatient setting with bias control in which all of the samples were collected by the author. Moreover, the patients who were included in the study had been pre-selected based on the absence of vaginitis, menstruation, and sperm in the vaginal fundus. In addition, the cytological diagnoses that were performed by experienced pathologists contributed to the good performance of the Fournier[®] device that was reported in this study.

Regarding the routine use of the Fournier[®] device as a substitute for traditional cervical cytology, further studies are needed to measure the

sensitivity of this method in a non-ambulatory or research setting.

The performance of the Fournier[®] device for diagnosing cervical abnormalities may be affected by the following: an incomplete sample collection in which the device does not reach the vaginal fundus; the presence of secretions that obscure epithelial cellularity; and a cytological diagnosis that is performed by a cytotechnologist and not a pathologist.

Aknowledgments:

Special thanks to Dr. Erin Kobetz who kindly welcomed the authors of this study to the University of Miami during 2007 and who donated a batch of self-sampling Fournier[®] devices for this study.

Conflict of interest statement: The authors declare that there were no personal or commercial conflicts of interest in the development of this study.

Reference List:

- (1) ACOG Practice Bulletin no. 109: Cervical cytology screening. *ObstetGynecol* 2009;114:1409-1420.
- (2) ACOG Committee Opinion No. 425: health care for undocumented immigrants. *ObstetGynecol* 2009;113:251-254.
- (3) Dzuba IG, Diaz EY, Allen B et al. The acceptability of self-collected samples for HPV testing vs. the pap test as alternatives in cervical cancer screening. *J Womens Health Gend Based Med* 2002;11:265-275.
- (4) Lazcano-Ponce EC, Castro R, Allen B, Najera P,onso de Ruiz PA, Hernandez-Avila M. Barriers to early detection of cervical-uterine cancer in Mexico. *J Womens Health* 1999;8:399-408.
- (5) Morrison EA, Goldberg GL, Hagan RJ, Kadish AS, Burk RD. Self-administered home cervicovaginal lavage: a novel tool for the clinical-epidemiologic investigation of genital human papillomavirus infections. *Am J ObstetGynecol* 1992;167:104-107.
- (6) Moscicki AB. Comparison between methods for human papillomavirus DNA testing: a model for self-testing in young women. *J InfectDis*1993;167:723-725.
- (7) Agorastos T, Dinas K, Lloveras B et al. Self-sampling versus physician-sampling for human papillomavirus testing. *Int J STD AIDS* 2005;16:727-729.
- (8) Petignat P, Faltin DL, Bruchim I, Tramer MR, Franco EL, Coutlee F. Are self-collected samples comparable to physician-collected cervical specimens for human papillomavirus DNA testing? A systematic review and meta-analysis. *GynecolOncol* 2007;105:530-535.
- (9) Wright TC, Jr., Denny L, Kuhn L, Pollack A, Lorincz A. HPV DNA testing of self-collected vaginal samples compared with cytologic screening to detect cervical cancer. *JAMA* 2000;283:81-86.
- (10) Knesel BW, Dry JC, Wald-Scott C, Aftab A. Preliminary evaluation of a cervical self-sampling device with liquid-based cytology and multiparameter molecular testing. *J Reprod Med* 2005;50:256-260.
- (11) Castle PE, Aftab A, Saint-Jean G, Mendez L. Detection of carcinogenic human papillomavirus in specimens collected with a novel self-sampling device. *J ClinMicrobiol* 2006;44:2158-2159.

- (12) Conferência Municipal de Saúde do Município de Porto Alegre 2010. Plano Municipal de Saúde do Município de Porto Alegre - Ano 2010-2013. 2011
- (13) Wright TC, Jr., Cox JT, Massad LS, Twiggs LB, Wilkinson EJ. 2001 Consensus Guidelines for the management of women with cervical cytological abnormalities. *JAMA* 2002;287:2120-2129.
- (14) Wright TC, Jr., Cox JT, Massad LS, Carlson J, Twiggs LB, Wilkinson EJ. 2001 consensus guidelines for the management of women with cervical intraepithelial neoplasia. *Am J ObstetGynecol* 2003;189:295-304.
- (15) Walker P, Dexeus S, De PG et al. International terminology of colposcopy: an updated report from the International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy *ObstetGynecol* 2003;101:175-177.
- (16) Wright TC, Jr., Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, Solomon D. 2006 consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical cancer screening tests. *Am J ObstetGynecol* 2007;197:346-355.
- (17) Crum CP. Symposium part 1: Should the Bethesda System terminology be used in diagnostic surgical pathology?: Point. *Int J GynecolPathol* 2003;22:5-12.
- (18) Belinson JL, Qiao YL, Pretorius RG et al. Shanxi Province cervical cancer screening study II: self-sampling for high-risk human papillomavirus compared to direct sampling for human papillomavirus and liquid based cervical cytology. *Int J GynecolCancer* 2003;13:819-826.
- (19) Holanda F, Jr., Castelo A, Veras TM, de Almeida FM, Lins MZ, Dores GB. Primary screening for cervical cancer through self sampling. *Int J GynaecolObstet* 2006;95:179-184.
- (20) Nobbenhuis MA, Helmerhorst TJ, van den Brule AJ et al. Primary screening for high risk HPV by home obtained cervicovaginal lavage is an alternative screening tool for unscreened women. *J ClinPathol* 2002;55:435-439.
- (21) Nanda K, McCrory DC, Myers ER et al. Accuracy of the *Papanicolaou* test in screening for and follow-up of cervical cytologic abnormalities: a systematic review. *Ann Intern Med* 2000;132:810-819.
- (22) Arbyn M, Sankaranarayanan R, Muwonge R et al. Pooled analysis of the accuracy of five cervical cancer screening tests assessed in eleven studies in Africa and India *Int J Cancer* 2008;123:153-160.

8 Artigo 2 em inglês

Cervical Cytological Screening: Assessment of the Fournier[®] self-sampling device in a cervical pathology outpatient clinic

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-graduação em Medicina: Ciências Médicas

Alexandre da Silva Rocha*, Pedro Guilherme Schaeffer**, Maria Isabel Albano
Edelweiss***

*Obstetrician and Gynecologist, MsC, PhD Student at the Universidade Federal do Rio Grande do Sul / Brasil

**Pathologist, Department of Pathology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre

***Associate Professor, Department of Pathology, UFRGS, PhD

Address for correspondence:
Alexandre da Silva Rocha
rochagin@hotmail.com.br
Rua Frei Germano n° 200/503B
Bairro São José CEP 91530-060
Porto Alegre / RS
Brazil

Abstract

Introduction: Cervical cancer remains associated with high rates of morbidity and mortality due to the difficulties screening programs have in “reaching” all of the patients with precursor cervical lesions. Healthcare systems without effective systems for avoiding opportunistic screening and the need to expose the genitalia have been reported as factors limiting screening.

Aim: To test the performance of the Fournier[®] device in the cytological diagnosis of cervical precursor or neoplastic lesions in “blind” physician-collected samples from the bottom of the vagina using colposcopy with cervical biopsy as the gold standard.

Method: This was a case-control study performed at a cervical pathology outpatient clinic from January 2008 to October 2009. Liquid-based cytology slides obtained with the device in question were stained using the *Papanicolaou* method and anti-p16^{INK4a} immunocytochemistry and were analyzed by two pathologists blind to the histological and colposcopic diagnoses.

Results: The sensitivity for diagnosing low-grade intraepithelial lesions using the *Papanicolaou* technique was 41,1% and 52,9%, and the sensitivity was 68.7% and 75.0% for high-grade lesions and cervical cancer, as determined by examiner 1 and 2, respectively. When using the anti-p16^{INK4a} immunocytochemistry, the sensitivity for diagnosing low-grade intraepithelial lesions was 57,1% and 48,8%, and the sensitivity was 87.5% and 93.7% for high-grade lesions and cancer, as determined by examiner 1 and 2, respectively. The specificity was 91,0% and 89,5% with the *Papanicolaou* technique and 75,0% and 54.4% with the anti-p16^{INK4a} immunohistochemistry, as determined by examiner 1 and 2, respectively.

Conclusions: These results show that when used with “blind” physician-collected cytology in an outpatient setting, the Fournier[®] device achieved a sensitivity and specificity comparable to those obtained by the Pap test traditionally collected during a speculum examination.

1. Introduction

Insufficiently organized public healthcare systems and the necessity of exposing the genitalia have been reported as the most significant factors limiting the expansion of cervical screening. Communities of socially excluded immigrants (mostly Muslim and Asian), indigenous women and women living in maroon communities are some of the less frequently screened groups. Offering an alternative to the pelvic speculum examination might increase the screening coverage.^{1;2}

Developed countries with organized healthcare systems screen women in the high-risk age groups and emphasize diagnosis at the precursor stage of cervical lesions followed by eradication. These measures have achieved promising reductions in cervical cancer morbidity and mortality.³⁻⁵ By contrast, developing countries are still performing irregular opportunistic screening during family planning or prenatal visits, which results in performing exams more often than necessary (over-screening) and financially burdening healthcare systems.^{3;5;6}

Approximately 20 years ago, Morrison and Moscicki suggested a self-sampling model for screening tests.^{7;8} Subsequent publications have reported on diagnosing oncologic high-risk human papillomavirus (HPV) using self-sampling and “blind” physician-sampling to detect precursor or neoplastic cervical lesions. The results found have been similar: the sensitivity is comparable to and the specificity is lower than conventional cytology, mainly due to the large prevalence of non-persistent HPV infections in young women.⁹⁻

In 2005 and 2006, two studies investigated “blind” sampling from the bottom of the vagina using the Fournier[®] device. The study by Knesel used the hybrid capture assay to diagnose cervical lesions in 88 women subjected to a speculum examination and collection using the Fourier[®] device. The viral results were similar by both methods, but the study lacked colposcopic or histological controls for the follow up.

The study by Castle applied the same methods as Knesel to 137 women and found similar results. In addition, it found 83% overall test agreement and a kappa value of 0.66. However, it used conventional cytology without colposcopic or histological confirmation as the gold standard for diagnosis.¹³

There are no studies in the literature that have investigated the cytological diagnosis of precursor or neoplastic lesions in “blindly” collected samples from the bottom of the vagina using colposcopy and cervical biopsy as the gold standard. This study sought to assess the performance of the Fournier[®] device for diagnosing cervical lesions using liquid-based cytology with *Papanicolaou* and anti-p16^{INK4a} immunocytochemistry staining.

2. Methods

This was a case-control study performed at a cervical pathology outpatient clinic located at the seat of Healthcare Management District No. 6 of Porto Alegre Municipality, Rio Grande do Sul, Brazil. The clinic is affiliated with the Unified Healthcare System (Sistema Único de Saúde - SUS), which is the Brazilian universal public healthcare system.

A total of 350 patients from any of the 11 regional primary healthcare units who had clinical or cytological findings suggestive of precursor or neoplastic cervical lesions were referred to the pathology outpatient clinic for a definitive of diagnosis between January 2008 and October 2009.

According to census data provided by the Brazilian Institute of Geography and Statistics (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE) in 2007, the clinics catchment area contains 188,613 residents, of which approximately 53% are female. The average family income in the region ranges from 2.60 to 7.54 regional minimum wages, and the majority of families live in states of social vulnerability. Cervical cancer is the fourth most frequent form of cancer among local females.¹⁴

After reviewing the clinical records and initial cervical cytology, all of the patients were invited to participate in the study. After they signed the informed consent form, inclusion in the study depended on them completing a standard form that assessed their clinical and epidemiological characteristics.

Before the standard colposcopy, samples were “blindly” collected from the bottom of the vagina using the Fournier[®] device and stored in preservation medium (*PreservCyt Solution*, Cytoc corporation – USA) for later processing and staining by the *Papanicolaou* technique and by anti-p16^{INK4a} antibodies using the labeled streptavidin biotin (LSAB) method.

Figure 1 shows the Fournier[®] self-sampling device.

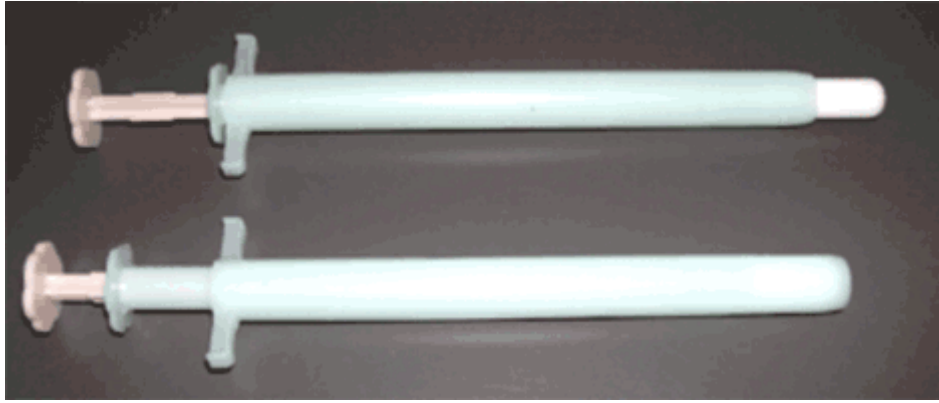


Figure 1: The Fournier[®] self-sampling device

To avoid sampling bias, all of the samples were collected by a single author (ASR) according to a standardized procedure: insertion to the bottom of the vagina, exposure of the porous tip of the device, completion of six 360° rotations at the bottom of the vagina, and retraction of the porous tip into the device body. Finally, the device was removed from the bottom of the vagina, and the tip was processed for assessment at a later stage.

The colposcopy was performed using DFV[®] binocular magnification equipment with 7x fixed magnification and standard solutions: 5% acetic acid, Schiller iodine solution, and 0.9% saline.

Preparation of the liquid-based cytology slides was performed in a standardized manner using Cytospin centrifuges (Citopar Laboratory / Paraná – Brazil) and subsequent staining by the two methods. The slides were analyzed by two pathologists who are experts in gynecological cytology (MIAE and PGS) and who were blinded to the colposcopic and histological results.

The patients who were referred to the cervical pathology outpatient clinic had been previously subjected to an initial gynecological assessment and conventional Pap smear. The cytological diagnosis was initially made by staff pathologists at the city of Porto Alegre.

The liquid-based cytological slides stained by the *Papanicolaou* technique were classified according to 2001 Bethesda guidelines.^{15;16}

The cytological classification of the anti-p¹⁶INK4a immunohistochemistry slides followed Bibbo et. al, Pientong et. al and Sahebali et. al and was based on the characteristic brown staining of the cell nucleus and/or cytoplasm by the monoclonal biomarker.¹⁷⁻¹⁹ The colposcopic classification approved in 2002 by the International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy and recommended by the Brazilian Genitoscopy Association was used.²⁰

According to the initial cytological and colposcopic assessment, a cervical diagnostic biopsy was performed following the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology consensus from 2001 revised in 2006.^{15;21}

The patients with cytology compatible with a high-grade intraepithelial lesion or cancer and a satisfactory colposcopy compatible with high-grade lesion were referred for early cervical biopsy.

The patients with L-SIL, Asc-US, Asc-H, AGC and normal or metaplastic colposcopy were followed-up at six-month intervals and subjected to biopsy when the cytological or colposcopic picture worsened. In this group, a satisfactory colposcopy compatible with low- or high-grade lesion at the initial assessment was followed-up by early cervical biopsy.

The patients with unsatisfactory colposcopy results were excluded from the study.

The biopsies were performed under local infiltrative anesthesia with 2% lidocaine and without vasoconstrictor using the Baliu-type drill; the specimens were preserved in 10% formalin and stained with standard

hematoxylin-eosin. The diagnosis of the biopsy samples was performed by a pathologist in the Porto Alegre Municipality network of providers according to Richart's criteria: absence of precursor lesion, low-grade intraepithelial histological lesion or CIN 1, high-grade intraepithelial histological lesion or CIN 2/3, and invasive carcinoma (ICC).²² (annex F)

The patients presenting with the following conditions were excluded: intact hymen, missing or inaccessible cervix, history of cervical conization, pregnancy, presence of vaginitis or cervicitis (according to clinical-microscopic assessment), lack decisional competence, and not consenting to participate in the study.

Figure 2 depicts the flowchart for selecting the cases and controls.

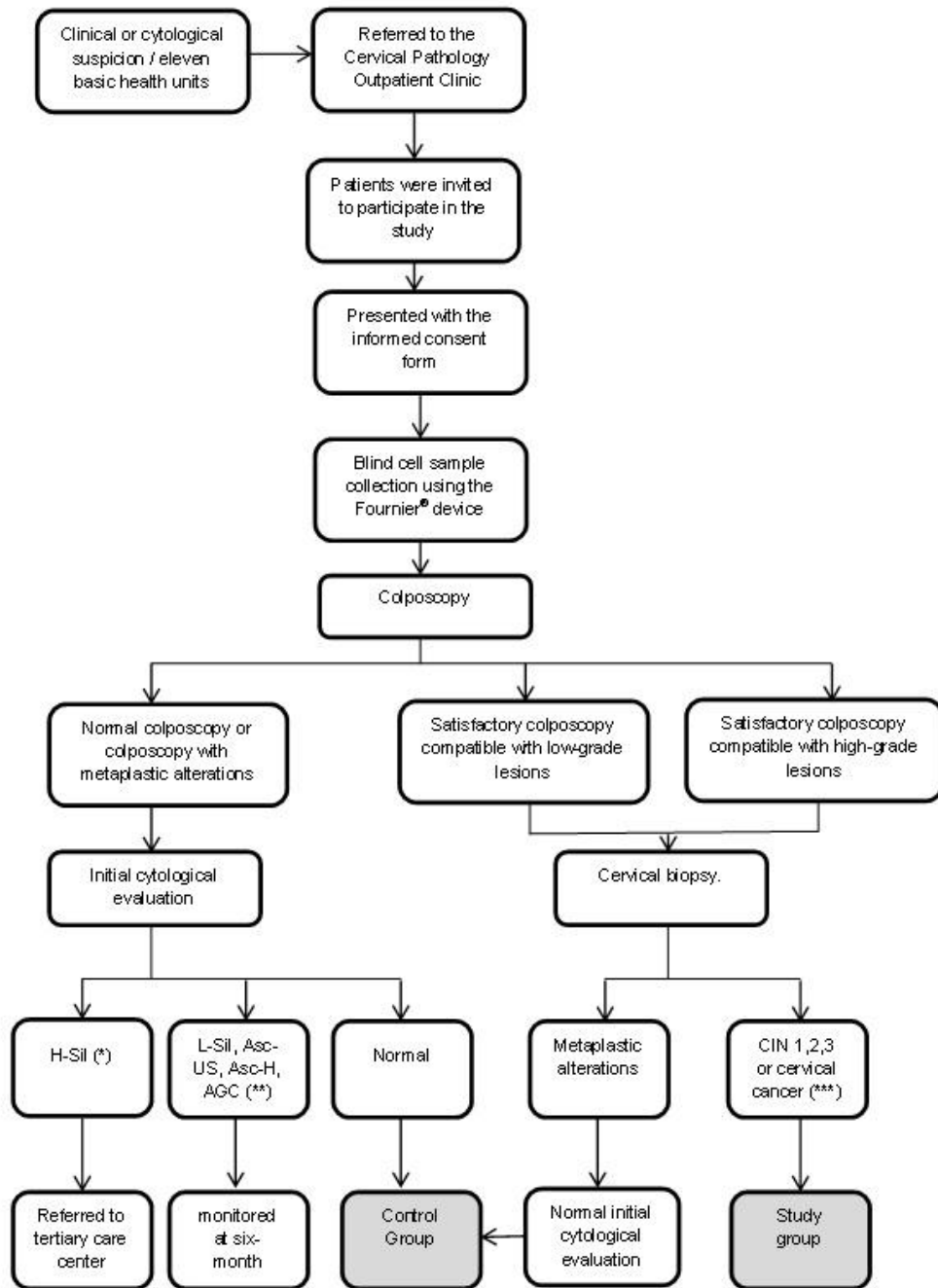


Figure 2: Flowchart for selecting the cases and controls

(*) High-grade squamous epithelial lesion

(**) Low-grade squamous epithelial lesions; atypical squamous cells of undetermined significance; atypical squamous cells, cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion; atypical glandular cells

(***) Cervical intraepithelial neoplasia grades 1, 2, 3

3. Sample Size

The sample size was based on previous studies that investigated the performance of self-sampling or “blind” physician-sampling from the bottom of the vagina. In this regard, it is worth mentioning the studies by Belinson et.al, Holanda et.al and Nobbenhuis et.al, which used a positive diagnosis of oncogenic high-risk HPV (HR-HPV) as a predictor for high-grade or neoplastic cervical lesions. There are no studies in the literature on cytological screening of cervical lesions in blindly collected samples from the bottom of the vagina stained using *Papanicolaou* method or immunocytochemistry.²³⁻²⁵

Assuming an 80% sensitivity for the diagnosis of cervical lesions based on positive HR-HPV findings, the required sample size was 62 cases; assuming an average 70% specificity for diagnosing a normal cervix based on negative HR-HPV findings, the Statistical Package indicated that 81 controls were required.

The PEPI® 6.0(*Computer Programs for Epidemiologists*) statistical package was used with an alpha of 95% and a beta of 10%.

4. Statistical Analysis

The clinical-epidemiological characteristics of the sample were described with quantitative and categorical variables. The quantitative variables with symmetric distributions are expressed as the mean and standard deviation; the variables with asymmetric distributions are expressed as the median and

interquartile range. The categorical variables are described as absolute frequencies and percentages.

The SPSS 13.0 (*Statistical Package for the Social Sciences*) statistical package was used to calculate the statistical significance.

Student's T-test was used for the variables with normal distributions, and the Mann-Whitney U-test (*Wilcoxon-Mann-Whitney*) was used for the variables with asymmetric distribution. Pearson's Chi-squared test was used for categorical values.

To calculate the sensitivity and specificity of the Fournier[®] device for diagnosing "blindly" sampled cervical lesions, the assessments resulting in a biopsy positive for CIN 1, CIN 2/3, or cervical carcinoma were rated as *disease present*. The assessments resulting in negative initial conventional cytology and normal or metaplastic colposcopy findings were rated as *disease absent*.

The samples obtained with the investigated device exhibiting lesions compatible with low-degree intraepithelial lesion, high-grade intraepithelial lesion, and cervical cancer in the liquid-based cytology stained by the *Papanicolaou* technique were rated as *positive diagnostic test*.

The samples obtained with the investigated device with 10 or more cells in the total smear exhibiting the typically brown-hued positivity of anti-p16^{INK4a} immunocytochemical cytology were rated as *positive diagnostic test*. Three categories were established in this case: 1) weak cytoplasmic positivity, 2) strong cytoplasmic positivity, and 3) nuclear positivity.

The samples collected with the Fournier[®] device exhibiting a lack of precursor alterations in the *Papanicolaou* stain, a lack of positivity, or less than 10 immunopositive cells in the total smear in the immunocytochemistry were

rated as *negative diagnostic test*.

5. Ethical Review

Ethical approval was obtained from the Research Ethics Committee of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

A random sample from the batch of Fournier[®] devices was tested microbiologically negative at the laboratory Steriliza, Porto Alegre/ RS.

6. Results

The sample selection process identified 68 patients as free from precursor or neoplastic cervical lesions and 51 patients as presenting with precursor or neoplastic cervical lesions, of which 35 were cases of low-grade histological lesion and 16 high-grade and cancer. Eight patients refused a biopsy after a colposcopy suggestive of positive diagnosis.

Table 1 describes the main sociodemographic variables assessed during the sampling of cases and controls.

Patient age differed significantly between the groups, and low-grade intraepithelial lesions were more frequent in the younger patients.

Average family income did not differ significantly between the groups; however, it is worth noting that the typical low family income of this population combined with families containing three or more children resulted in 38% of the families receiving less than 2.5 times the regional minimum wage per month.

No significant difference was found between groups for age at onset of sexual activity and number of reported sexual partners up to the moment of inclusion in the study. However, it is worth noting that the average age at onset of sexual activity was 16 years old and that about 50% reported more than three sexual partners.

Table 1: The sociodemographic variables in the sample of cases and controls

Result of Investigation	Without cervix lesion (n=68)	CIN 1 ⁽³⁾ , (n=35)	CIN 2/3 ⁽⁴⁾ or CA ⁽⁵⁾ (n= 16)	p-value
Variable				
Years of life	37,3 ± 13,1	27,1 ± 8,2	33,1 ± 9,6	<0,01
Minimum wage per month ⁽¹⁾	2,4 ± 0,7	2,6 ± 0,8	2,3 ± 0,6	0,22
Sexual debut (Years)	16,9 ± 2,6	16,0 ± 2,0	16,1 ± 3,0	0,22
Sex partner (life)				
2 or <	29 (42,6%)	12 (34,3%)	8 (50,0%)	0,53
3 or >	39 (57,4%)	23 (65,7%)	8 (50,0%)	
Pregnancy (life)				
0 or 1	22 (32,4%)	19 (54,3%)	5 (31,2%)	0,17
2	17 (25%)	8 (22,9%)	3 (18,8%)	
3 or >	29 (42,6%)	8 (22,9%)	8 (50,0%)	
Tobacco use	14 (20,6%)	8(22,9%)	6 (37,5%)	0,36
STD (past) ⁽²⁾	8 (11,9%)	6 (17,1%)	4 (25,0%)	0,40

- (1) Regional minimum wages (1 regional minimum wage ~ US\$ 300.00)
- (2) Sexually Transmitted Diseases
- (3) Low-grade cervical intraepithelial lesion
- (4) High-grade cervical intraepithelial lesion
- (5) Squamous cell carcinoma

Table 2 describes the performance of the Fournier[®] device in the

diagnosis of cervical lesions in liquid-based cytology stained using the *Papanicolaou* technique.

In patients with normal cervix, the investigated device exhibited normal cytology in 81,8% of cases according to examiner 1 and in 73.8% of cases according to examiner 2.

A false-negative diagnosis, normal cytology found in cases with high-grade intraepithelial lesions and cancer, occurred in 31.2% of the cases according to examiner 1 and in 25% of the cases according to examiner 2.

The sensitivity for diagnosing low-grade lesions using *Papanicolaou* cytology in the samples “blindly” collected using the Fournier® device was 41,1% according to examiner 1 and 52,9% according to examiner 2; for high-grade lesions, it was 68.7% and 75.0% for the two examiners, respectively.

The specificity of the investigated diagnostic method, or its capacity to correctly establish a normal diagnosis in patients without lesions, was 81,8% according to examiner 1 and 73.8% according to examiner 2.

Table 2: The performance of the Fournier® device in the diagnosis of cervical lesions using liquid-based cytology stained with the *Papanicolaou* technique.

<i>Pap smear with Fournier® Device</i>	Result of investigation	Normal	Biopsy with low grade lesion ¹	Biopsy with high-grade lesion ²	total
Pathologist 1 (n=116)	Normal ³	54 (81,8%)	20 (58,8%)	5 (31,2%)	79
	Lesion suspect ⁴	12 (18,2%)	14 (41,2%)	11 (68,8%)	37
Pathologist 2 (n=115)	Normal	48 (73,8%)	16 (47,1%)	4 (25,0%)	68
	Lesion suspect	17 (26,2%)	18 (52,9%)	12 (75,0%)	47

- (1) Cervical biopsy resulting in CIN 1
- (2) Cervical biopsy resulting in CIN 2, CIN 3, or squamous cell carcinoma
- (3) *Papanicolaou* cytology obtained by the Fournier® device exhibiting normal results or reactive alterations
- (4) *Papanicolaou* cytology obtained by the Fournier® device compatible with L-SIL, H-SIL or cervical cancer

Table 3 describes the performance of the Fournier® device in the diagnosis of cervical lesions in liquid-based cytology stained using anti-p16^{INK4a} immunocytochemistry.

Slides exhibiting the typical brownish color in the nucleus or cytoplasm in more than 10 cells from the total smear were rated as positive; cases with no or less than 10 cells were rated as negative.

The use of additional cytomorphological criteria for the antibody-marked cells was allowed to ensure an accurate diagnosis of the cytological slides.

In the patients with normal cervixes, the cytological investigation performed with the tested device resulted in a normal diagnosis in 75% of the cases according to examiner 1 and in 54.4% of cases according to examiner 2.

The sensitivity for low-grade lesions when using anti-p16^{INK4a} cytology collected using the Fournier® device was 57,1% according to examiner 1 and 48,8% according to examiner 2; for high-grade lesions, it was 87.5% and 93.7% for the two examiners, respectively.

The specificity of the investigated diagnostic method (the rate of normal diagnoses in cases without lesions) was 75,0% according to examiner 1 and 54.4% according to examiner 2.

Table 3: The performance of the Fournier® device in the diagnosis of cervical lesions in liquid-based cytology stained using anti-p16^{INK4a} immunocytochemistry

Cytology Fournier® Anti-p16 ^{ink4a}		Result of investigation	Normal	Biopsy with low-grade lesion ¹	Biopsy with high-grade lesion ²
		Pathologist 1 (n=119)	(-) or < 10 cells (+) ³	51 (75,0%)	15 (42,9%)
	> 10 cells (+) ⁴	17 (25,0%)	20 (57,1%)	14 (87,5%)	
Pathologist 2 (n=119)	(-) or < 10 cells (+)	37 (54,4%)	13 (37,1%)	1 (6,2%)	
	> 10 cells (+)	31 (45,6%)	22 (62,9%)	15 (93,8%)	

(1) Cervical biopsy resulting in CIN 1

(2) Cervical biopsy resulting in CIN 2, CIN 3, or squamous cell carcinoma.

(3) Absence of immunopositive cells or less than 10 positive cells in the total smear

(4) More than 10 cells positively stained in the nucleus and/or cytoplasm

Table 4 describes the performance of the Fournier® device in the diagnosis of cervical lesions in liquid-based cytology stained using anti-p16^{INK4a} immunocytochemistry.

The slides exhibiting “strong” brownish staining in the cytoplasm or nucleus were rated as *positive*.

This analysis aimed to exclude the slides exhibiting light staining of the cytoplasm by the biomarker that might contribute to diagnostic error and increase interobserver variability in the cytology analysis.

The use of additional cytomorphological criteria for antibody-marked cells in the nucleus or the cytoplasm was allowed to ensure accurate diagnosis of the cytological slides.

Strong cytoplasmic or nuclear positivity was minimal in the group of patients diagnosed with normal cervixes. Approximately 10% of the slides

analyzed by both examiners were rated positive according to this novel diagnostic criterion.

The sensitivity of this new diagnostic criterion for high-grade lesions was 66,6% and 58,8% according to examiner 1 and 2, respectively, and the specificity was 91,0% and 89,5%, respectively.

Table 4: The performance of the Fournier® device in the diagnosis of cervical lesions in anti-p16^{INK4a} immunocytochemistry using “strong” cytoplasmic or nuclear positivity as criteria

Cytology Fournier® Anti-p16 ^{INK4a}		Result of investigation	Normal	Biopsy with low-grade lesion ¹	Biopsy with high-grade lesion ²
Pathologist 1 (n=119)	Weak cytoplasm or negative ³	61 (89,7%)	29 (82,9%)	2 (12,5%)	
	Strong cytoplasm or nucleus ⁴	7 (10,3%)	6 (17,1%)	14 (87,5%)	
Pathologist 2 (n=118)	Weak cytoplasm or negative	60 (89,6%)	20 (57,1%)	6 (37,5%)	
	Strong cytoplasm or nucleus	7 (10,4%)	15 (42,9%)	10 (62,5%)	

(1) Cervical biopsy resulting in CIN 1

(2) Cervical biopsy resulting in CIN 2, CIN 3, or squamous cell carcinoma.

(3) Anti-p16^{INK4a} cytology exhibiting absence of positive cells or “weak” cytoplasmic positivity

(4) Anti-p16^{INK4a} cytology exhibiting “strong” cytoplasmic labeling or nuclear positivity

Table 5 describes the performance of the Fournier® device in sampling cervical cells based on the presence of endocervical cells in *Papanicolaou*-stained cytological slides.

The presence of endocervical cells was compared between the different groups of patients according to the histological results. This

comparison sought to assess the quality of the blindly collected cytological samples as a factor determining the accuracy of cervical abnormality diagnosis.

An investigation of the presence or absence of endocervical cells in smears was performed in 97,0% of the slides assessed by examiner 1 and in 79,8% of the slides assessed by examiner 2.

Endocervical cells were found in most of the cytological slides analyzed by both examiners; they were most common in the patients with a precursor or neoplastic cervical lesion with a proportion superior to 75%.

Table 5: An assessment of the performance of the Fournier® device according to the presence or absence of endocervical cells in smears

Endocervical cells in cytological slides	Result of investigation	Normal	Biopsy with low-grade lesion ¹	Biopsy with high-grade lesion ²
	Pathologist 1 (n=116)	With cells ³	45 (68,2%)	29 (85,3%)
	Without cells ⁴	21 (31,8%)	5 (14,7%)	3 (18,8%)
Pathologist 2 (n=95)	With cells	35 (66,0%)	22 (78,6%)	11 (78,6%)
	Without cells	18 (34,0%)	6 (21,4%)	3 (21,4%)

(1) Cervical biopsy resulting in CIN 1

(2) Cervical biopsy resulting in CIN 2, CIN 3, or squamous cell carcinoma.

(3) Presence of endocervical cells in smear

(4) Absence of endocervical cells in smear

7. Discussion:

Cervical screening performed using devices that do not require a speculum examination seeks to offer an alternative to the traditional screening technique that requires exposing the genitalia in settings equipped with minimal logistical support for performing sample collection.

The present study showed that using the Fournier[®] device in the cytological diagnosis of cervical precursor or neoplastic lesions did not reduce the sensitivity or the specificity of the diagnostic method.

The sensitivity for diagnosing low-grade intraepithelial lesions using the *Papanicolaou* technique was 41,1% and 52,9%, and the sensitivity was 68.7% and 75.0% for high-grade lesions and cervical cancer, as determined by examiner 1 and 2, respectively. When using the anti-p16^{INK4a} immunocytochemistry, the sensitivity for diagnosing low-grade intraepithelial lesions was 57,1% and 48,8%, and the sensitivity was 87.5% and 93.7% for high-grade lesions and cancer, as determined by examiner 1 and 2, respectively.

The specificity was 91,0% and 89,5% with the *Papanicolaou* technique and 75,0% and 54.4% with the anti-p16^{INK4a} immunohistochemistry, as determined by examiner 1 and 2, respectively.

The change in the definition of positive in the anti-p^{16INK4a} cytology when applying the criteria of nuclear or “strong” cytoplasmic staining exhibited appropriate agreement with the diagnosis of high-grade lesions, and the sensitivity was 66,6% and 58,8%, as determined by examiner 1 and 2, respectively,.

Similarly, the specificity of this novel diagnostic method increased when using the novel criteria for positive anti-p16^{INK4a} immunocytochemistry, reaching levels of 91,0% and 89,5%, as determined by examiner 1 and 2, respectively.

However, the use of these novel anti-p16^{INK4a} immunocytochemistry criteria might result missing a significant number of cases of low-grade intraepithelial lesions.

The capacity of the Fournier[®] “blind” sampling device to reach the cervix rather than merely the bottom of the vagina was assessed by the presence of endocervical cells in the cytological smears.

The presence of endocervical cells was verified in most of the cytological slides analyzed by the examiners; it mainly corresponded to patients with cervical precursor or neoplastic lesions.

The authors conclude that the use of the Fournier[®] device for the cytological diagnosis of cervical precursor or neoplastic lesions exhibits sensitivity and specificity similar to those of conventional cytology using the *Papanicolaou* stain.

The sensitivity of conventional cytology is approximately 50% and ranges from 30% to 87%.²⁶ A meta-analysis assessing the performance of *Papanicolaou* cytology in 11 studies encompassing more than 58,000 women in Africa and India found 57% sensitivity (ranging from 38% to 76%) and a significant 93% specificity (ranging from 89 to 97%).²⁷

However, it is worth noting that the present study was performed in an outpatient setting while controlling for sampling bias by having all of the samples collected by this author ASR. In addition, the patients included in the

study were pre-selected and did not exhibit vaginitis, menstruation, or sperm in the bottom of the vagina. Certainly, the cytological diagnosis performed by expert pathologists too contributed significantly to the good performance that was found.

Regarding the routine use of the Fournier[®] device as a substitute for traditional cervical cytology, studies assessing its sensitivity in non-outpatient or experimental settings are still lacking.

Incomplete collection when the device does not reach the bottom of the vagina, the presence of secretions obscuring the epithelial cellularity, and cytological diagnosis performed by cytotechnicians rather than by pathologists might impact the performance of the device when diagnosing cervical abnormalities.

Aknowledgments:

A special acknowledgment to Dr. Erin Kobetz, who kindly received these authors at the University of Miami in 2007 and who donated the batch of Fournier[®] self-sampling devices used in the present study.

Conflict of interest: The authors declare there was no personal or commercial conflict of interest in the performance of the present study

Reference list:

- (1) Dzuba IG, Diaz EY, Allen B et al. The acceptability of self-collected samples for HPV testing vs. the pap test as alternatives in cervical cancer screening. *J Womens Health Gend Based Med* 2002;11:265-275.
- (2) Lazcano-Ponce EC, Castro R, Allen B, Najera P,onso de Ruiz PA, Hernandez-Avila M. Barriers to early detection of cervical-uterine cancer in Mexico. *J Womens Health* 1999;8:399-408.
- (3) Miller AB, Sankaranarayanan R, Bosch FX, Sepulveda C. Can screening for cervical cancer be improved, especially in developing countries? *Int J Cancer* 2003;107:337-340.
- (4) Ronco G, Giubilato P, Naldoni C et al. Extension of organised cervical cancer screening programmes in Italy and their process indicators: 2007 activity. *Epidemiol Prev* 2009;33:41-56.
- (5) Ronco G, van BM, Becker N et al. Process performance of cervical screening programmes in Europe. *Eur J Cancer* 2009;45:2659-2670.
- (6) Gustafsson L, Sparen P, Gustafsson M, Wilander E, Bergstrom R, Adami HO. Efficiency of organised and opportunistic cytological screening for cancer in situ of the cervix. *Br J Cancer* 1995;72:498-505.
- (7) Morrison EA, Goldberg GL, Hagan RJ, Kadish AS, Burk RD. Self-administered home cervicovaginal lavage: a novel tool for the clinical-epidemiologic investigation of genital human papillomavirus infections. *Am J Obstet Gynecol* 1992;167:104-107.
- (8) Moscicki AB. Comparison between methods for human papillomavirus DNA testing: a model for self-testing in young women. *J Infect Dis* 1993;167:723-725.
- (9) Agorastos T, Dinas K, Lloveras B et al. Self-sampling versus physician-sampling for human papillomavirus testing. *Int J STD AIDS* 2005;16:727-729.
- (10) Petignat P, Faltin DL, Bruchim I, Tramer MR, Franco EL, Coutlee F. Are self-collected samples comparable to physician-collected cervical specimens for human papillomavirus DNA testing? A systematic review and meta-analysis. *Gynecol Oncol* 2007;105:530-535.
- (11) Wright TC, Jr., Denny L, Kuhn L, Pollack A, Lorincz A. HPV DNA testing of self-collected vaginal samples compared with cytologic screening to detect cervical cancer. *JAMA* 2000;283:81-86.
- (12) Knesel BW, Dry JC, Wald-Scott C, Aftab A. Preliminary evaluation of a cervical self-sampling device with liquid-based cytology and multiparameter molecular testing. *J Reprod Med* 2005;50:256-260.

- (13) Castle PE, Aftab A, Saint-Jean G, Mendez L. Detection of carcinogenic human papillomavirus in specimens collected with a novel self-sampling device. *J Clin Microbiol* 2006;44:2158-2159.
- (14) Conferência Municipal de Saúde do Município de Porto Alegre 2010. Plano Municipal de Saúde do Município de Porto Alegre - Ano 2010-2013. 2011.
Ref Type: Report
- (15) Wright TC, Jr., Cox JT, Massad LS, Twigg LB, Wilkinson EJ. 2001 Consensus Guidelines for the management of women with cervical cytological abnormalities. *JAMA* 2002;287:2120-2129.
- (16) Wright TC, Jr., Cox JT, Massad LS, Carlson J, Twigg LB, Wilkinson EJ. 2001 consensus guidelines for the management of women with cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Obstet Gynecol* 2003;189:295-304.
- (17) Bibbo M, DeCecco J, Kovatich AJ. p16INK4A as an adjunct test in liquid-based cytology. *Anal Quant Cytol Histol* 2003;25:8-11.
- (18) Pientong C, Ekalaksananan T, Swadpanich U et al. Immunocytochemical detection of p16INK4a protein in scraped cervical cells. *Acta Cytol* 2003;47:616-623.
- (19) Sahebali S, Depuydt CE, Segers K et al. p16INK4a as an adjunct marker in liquid-based cervical cytology. *Int J Cancer* 2004;108:871-876.
- (20) Walker P, Dexeus S, De PG et al. International terminology of colposcopy: an updated report from the International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy
7. *Obstet Gynecol* 2003;101:175-177.
- (21) Wright TC, Jr., Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, Solomon D. 2006 consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical cancer screening tests. *Am J Obstet Gynecol* 2007;197:346-355.
- (22) Crum CP. Symposium part 1: Should the Bethesda System terminology be used in diagnostic surgical pathology?: Point. *Int J Gynecol Pathol* 2003;22:5-12.
- (23) Belinson JL, Qiao YL, Pretorius RG et al. Shanxi Province cervical cancer screening study II: self-sampling for high-risk human papillomavirus compared to direct sampling for human papillomavirus and liquid based cervical cytology. *Int J Gynecol Cancer* 2003;13:819-826.
- (24) Holanda F, Jr., Castelo A, Veras TM, de Almeida FM, Lins MZ, Dores GB. Primary screening for cervical cancer through self sampling. *Int J Gynaecol Obstet* 2006;95:179-184.

- (25) Nobbenhuis MA, Helmerhorst TJ, van den Brule AJ et al. Primary screening for high risk HPV by home obtained cervicovaginal lavage is an alternative screening tool for unscreened women. *J Clin Pathol* 2002;55:435-439.
- (26) Nanda K, McCrory DC, Myers ER et al. Accuracy of the Papanicolaou test in screening for and follow-up of cervical cytologic abnormalities: a systematic review
Ann Intern Med 2000;132:810-819.
- (27) Arbyn M, Sankaranarayanan R, Muwonge R et al. Pooled analysis of the accuracy of five cervical cancer screening tests assessed in eleven studies in Africa and India
Int J Cancer 2008;123:153-160.

9 Conclusões

Este estudo mostra que, em ambiente ambulatorial e com coletas às *cegas* realizadas por profissional capacitado, o dispositivo de *Fournier*[®] se apresenta como alternativa para o “alcance” das pacientes sem rastreamento citológico ou com irregularidade no acompanhamento cervical.

A melhor forma de avaliação laboratorial das amostras coletadas de fundo vaginal às *cegas*, comparando resultados da literatura atualizada e respeitando o custo benefício, parece ser a conjunção da citologia *Papanicolaou* com o diagnóstico do HR-HPV; o primeiro teste, visando o incremento da especificidade e o segundo, visando o incremento da sensibilidade.

O uso isolado do diagnóstico viral acarretaria em custo injustificável ao sistema de saúde, com inúmeras colposcopias realizadas entre pacientes com infecções não persistentes pelo HPV, principalmente mulheres jovens. Além disto, risco de iniciar cascata de eventos que poderiam culminar em mutilação do colo uterino: conizações realizadas entre lesões com potencial de involução espontânea.

O uso isolado da técnica *Papanicolaou*, acarretaria em perda significativa de casos de lesão, principalmente aquelas de baixo grau, retardando o diagnóstico e potencializando o risco de evolução até o alto grau ou câncer cervical.

Deverá ser lembrado que a repetição deste estudo em ambiente não ambulatorial ou de pesquisa, com coletas realizadas pela própria paciente, poderá não obter as sensibilidades e especificidades aqui encontradas. A

incapacidade em atingir o fundo vaginal, a presença de vaginite, esperma ou menstruação em fundo vaginal poderá impactar nos diagnósticos citológicos.

10 Perspectivas Futuras

Observa-se o crescente número de publicações médicas sobre o tema da autocoleta do exame de rastreio cervical não tendo sido proposto um dispositivo ou método definitivo. Os custos elevados associados à baixa especificidade do diagnóstico viral ainda são entraves para o uso rotineiro da modalidade.

O dispositivo de *Fournier*[®] se mostra como candidato a estudos futuros utilizando a técnica da autocoleta entre mulheres infrequentemente rastreadas ou não rastreadas e pertencentes às faixas etárias de risco para o câncer cervical. O diagnóstico citológico *Papanicolaou* associado ao HR-HPV e a comparação com os resultados colposcópicos e histológicos poderão resultar em sensibilidade e especificidade compatíveis com o uso rotineiro da técnica entre comunidades de alta vulnerabilidade social.

11 Apêndices e Anexos

Apêndice A: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Título do Projeto: Rastreio Citológico Cervical: Avaliação ambulatorial do dispositivo de autocoleta de Fournier®.

Investigador: Alexandre Rocha – Médico Ginecologista e Obstetra da Secretaria da Saúde do Município de Porto Alegre, Matrícula 77373-9 e CRM 21858, Mestre em Medicina e aluno de doutorado do Programa de Pós-graduação em Medicina: Ciências Médicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

Orientadora: Prof. Dra. Maria Isabel Albano Edelweiss

Eu, _____ fui informada dos objetivos da pesquisa acima identificada de maneira clara e detalhada. Recebi informações a respeito da minha participação e esclareci minhas dúvidas. Fui informada que, a qualquer momento, poderei pedir novas informações e modificar minha decisão. O investigador Dr. Alexandre Rocha CRM 21858 – médico Ginecologista e Obstetra certificou-me que todos os dados desta pesquisa são confidenciais, e o seguimento da minha doença do colo uterino, se presente, não sofrerá alteração pela minha inclusão ou exclusão na pesquisa.

Justificativa do estudo: Estudar o funcionamento de um novo aparelho para coletar o exame preventivo do colo do útero sem o uso do exame “bico de pato”. Na figura abaixo está um exemplo do aparelho que será usado.

Procedimento utilizado: O aparelho em estudo é parecido com os aplicadores de creme vaginal e, após chegar no fundo vaginal, a rotação do aparelho coleta o material para ser estudado no laboratório e encontrar as lesões do colo uterino.



Riscos dos procedimentos: Poderá haver desconforto com o uso do aparelho que será igual ao desconforto que os aplicadores de creme vaginal causam. Todos os aparelhos usados neste estudo são esterilizados (não contêm bactérias) e de uso único (descartáveis).

Benefícios esperados: O uso de aparelhos que coletam o preventivo do

colo do útero sem o exame “bico de pato” poderão ser uma opção para examinar mulheres que não conseguem ir aos postos de saúde ou tem vergonha de fazer o exame preventivo do colo do útero.

Métodos alternativos existentes: Não existe um aparelho de coleta do preventivo sem o exame “bico de pato” que possa ser usado hoje em dia. Todos os aparelhos que existem estão em fase de estudo.

Formas de acompanhamento: Todas as mulheres incluídas no estudo serão examinadas também da forma tradicional para poder encontrar ou não algum tipo de doença no colo do útero. Estes exames são a colposcopia, um exame que usa uma espécie de binóculo que mostra o colo do útero em grande aumento, podendo ver lesões de forma mais fácil. Além disto, mulheres que tiverem lesões do colo do útero na colposcopia serão convidadas a fazer uma biópsia do colo do útero. Biópsia é a retirada de um pequeno pedaço do colo do útero de forma indolor com o uso de anestésico e serve para estudar no laboratório. Este pedaço é pequeno e não traz risco no futuro.

Compensação Financeira: Não haverá nenhum tipo de pagamento às mulheres que participarem do estudo.

Custos para paciente: Não haverá custo para as pacientes que participarem do estudo.

Perguntas e dúvidas relacionadas ao estudo: Este documento explica de forma clara o estudo que estamos propondo e convidando as mulheres a participar; no entanto, se houver alguma dúvida, estas serão esclarecidas diretamente pelo investigador, Dr. Alexandre Rocha pelo telefone 33363284 e pela pesquisadora responsável, Dra. Maria Isabel Edelweiss pelo telefone 21018000 ramal 8013 ou 8334.

Em casos de danos à paciente: Se a participante do estudo acha que teve algum problema de saúde relacionado com a sua participação, deverá contatar o investigador, Dr. Alexandre Rocha pelo telefone 33363284.

Recebi segunda via assinada, de igual teor desta, no dia de hoje.



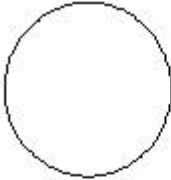
Assinatura da paciente

Assinatura do investigador

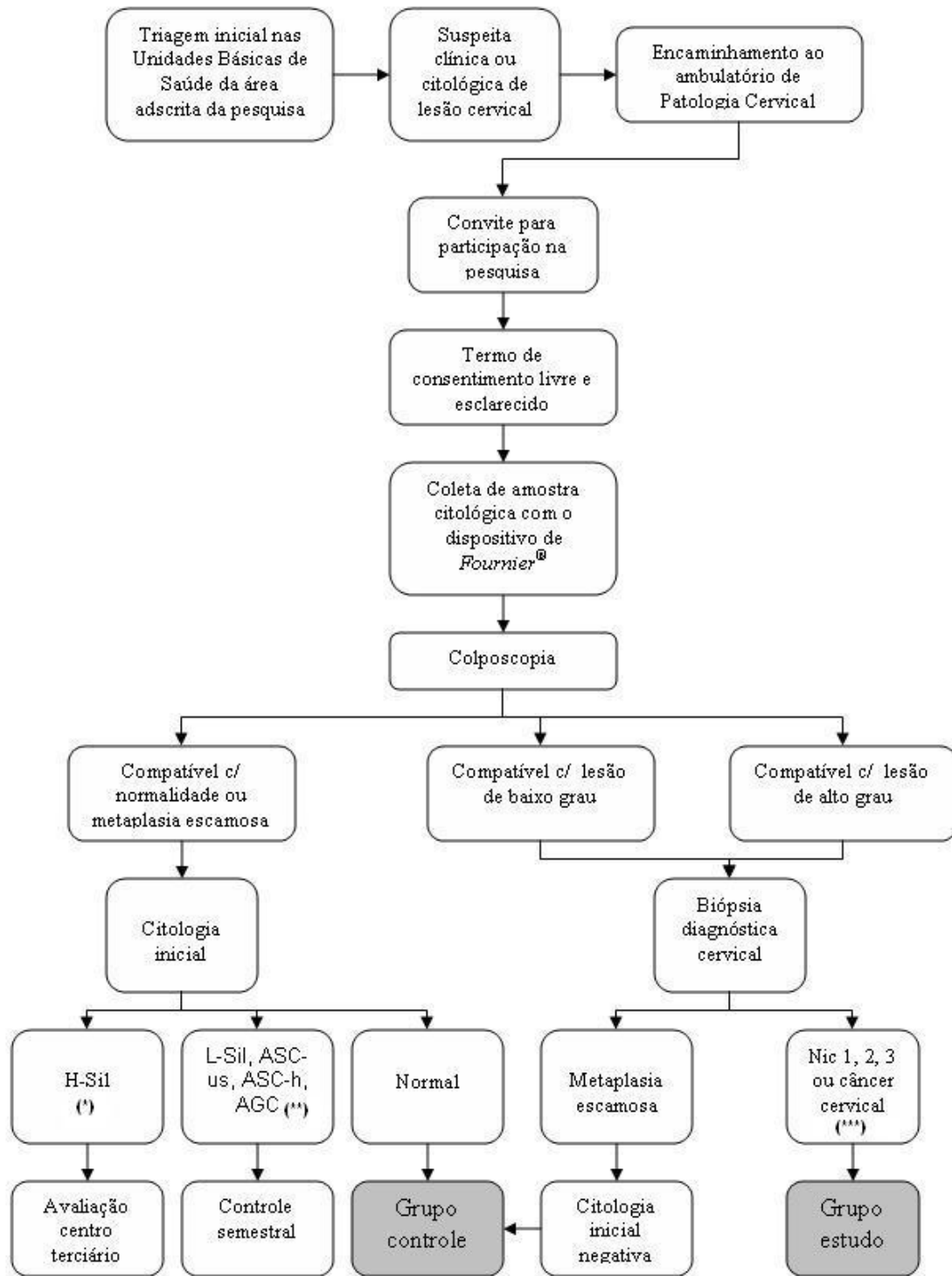
Carimbo

Porto Alegre, ____ de _____ de 20____

Apêndice B: Documento de inclusão no estudo de casos e controles

 <p>Governo do Estado do Rio Grande do Sul Centro de Saúde / Escola Murialdo <i>Laudo de Colposcopia</i></p> 
<p>Nome: _____, DN: ___/___/___ Fone _____, Endereço _____ Bairro _____, Município _____, Sexarca _____ anos, N^o parc./vida _____ N^o parc./ano _____; Gesta _____, Para _____, Ab _____, Cesa _____; Ciclo Menstr: ___reg, ___irreg, ___amenor; MAC: ? não, ? sim, Qual _____; TRH: ? não ? sim qual _____; DST^s passado: ___não ___sim qual _____, Tto: _____; Fumo: ? não ? sim, ___cigarros/dia há ___anos, Último CP cervical ___/___/___ resultado _____; Renda Fam/mês: ___1SMR, ___2, ___3, ___4, ___>4 Colposcopia no passado: ___não ___sim, resultado _____ em ___/___/___ Sinusorragia: ___não, ___sim, desde ___/___/___; Lesão genital parceiro: ___não, ___sim tipo _____; Antecedentes mórbidos genitais: _____</p>
<p>Colposcopia em ___/___/___</p> <div style="display: flex; align-items: center;">  <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: 300px;"> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> </div> </div>
<p>Conduta: _____</p> <p>Biópsia diagnóstica do colo uterino (conforme técnica habitual), realizada dia ___/___/___ sob anestesia infiltrativa com lidocaína a 2% sem vasoconstritor e retirada de _____ fragmento (s) com broca rotatória do tipo Baliú.</p> <p>Conduta _____</p>
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content;"> <p>Anátomo Patológico Biópsia (___/___/___)</p> <p>_____</p> <p>Conduta: _____</p> </div> <div style="text-align: right; margin-top: 20px;"> <p>_____ <i>Dr. Alexandre Rocha</i> <i>Ginecologista e Obstetra</i> <i>CRM 21858 T esp 022-98</i></p> </div>

Apêndice C: Fluxograma do processo de seleção da amostra



Anexo A: Técnica LSAB para Imunocitoquímica:

- 1) Lâminas coletadas com preparo prévio de aminopropil-triethoxy-silane (*Sigma Chemical Corporation*);
- 2) Amostra submetida à rehidratação com álcool etílico absoluto (quatro banhos) e lavagem com solução salina tamponada (SST) em pH 7,4 por cinco minutos;
- 3) Recuperação de epítomos pelo calor úmido (SST de citrato em pH 6,4 por três minutos em forno de microondas);
- 4) Bloqueio de reações inespecíficas com leite desnatado diluído em água destilada;
- 5) Tratamento com peróxido de hidrogênio a 3% diluído em SST por cinco minutos, para bloqueio da peroxidase endógena;
- 6) Incubação com o anticorpo monoclonal *anti-p16ink^{4a}* clone G175-405 fornecido pela *Pharmingen / BD Biosciences* do Brasil diluição 1:100, por tres horas;
- 7) Incubação por trinta minutos com complexo ligação-imunoglobulinas biotinizadas anti-coelho, anti-camundongo e anti-carneiro pré-diluídas em SST;
- 8) Incubação por trinta minutos com complexo estreptavidinaperoxidase;
- 9) Tratamento das lâminas para visualização da reação com solução 3,3-tetra-hidrocloro de diaminobenzidina (DAB) na concentração de 1mg/ml em SST de citrato e solução de H₂O₂ a 5% por duas vezes de 20 minutos. As lâminas são contracoradas com hematoxilina de Harris por 20 segundos;
- 10) Desidratação com banhos de álcool etílico absoluto (cinco banhos) e xilol (3 banhos);
- 11) Montagem das lâminas com bálsamo e lamínula;

(*) Todos os passos da reação ICQ são realizados à temperatura ambiente com exceção da etapa de recuperação antigênica, realizada em forno de micro-ondas. Entre cada passo da reação, antes do uso do DAB, as lâminas

são lavadas varias vezes com SST (pH 7,4) e, após o uso do DAB, as lavagens são feitas com água comum.

(*) Controle positivo para o anticorpo *anti-p16ink^{4a}*: Peça de histologia de carcinoma cervical sabidamente positivo para o anticorpo . Controle negativo: Mesma lâmina anterior sem a incubação do anticorpo primário.

Bibbo M, DeCecco J, Kovatich AJ. p16INK4A as an adjunct test in liquid-based cytology. Anal Quant Cytol Histol 2003;25:8-11.

Anexo B: Técnica de *Papanicolaou*:

1. Hidratação: Deslocamento gradual do álcool de fixação no esfregaço pelo uso de álcool em solução diluída a 80%, 70% e 50% em água destilada, seis a oito mergulhos.
2. Coloração nuclear: Hematoxilina de Harris não acidificada por seis minutos (corante com afinidade pela cromatina), pelo método regressivo
3. Remoção do excesso de hematoxilina com ácido hidrocloreto
4. Desidratação: Etanol 50% até 95% em quatro banhos
5. Coloração citoplasmática com contracorantes: utilizar o Orange G (corante da queratina na cor laranja) seguindo-se do EA36 (cora o citoplasma de células metabolicamente ativas).
6. Clareamento: xilol que resultará na transparência celular
7. Montagem: Bálsamo do Canadá

Papanicolaou GN, Traut HF. The diagnostic value of vaginal smears in carcinoma of the uterus. 1941. Arch Pathol Lab Med 1997;121:211-224.

Anexo C: Classificação Citológica de Bethesda 2001 e revisada em 2006:

1) **Tipo da amostra:** convencional, meio líquido.

2) **Avaliação da amostra:**

2.1) **Satisfatória:** com representação da zona de transformação, sem representação da zona de transformação, parcialmente obscurecida por sangue ou inflamação, artefatos.

2.2) **Não satisfatória:** rejeitada, não processada por (...); processada e examinada, não satisfatória por (...)

3) **Negativa para lesão intraepitelial ou neoplasia maligna:** Alterações celulares reativas associadas a inflamação, radiação DIU e outras; microorganismos tipo tricomonas, fungos, sugestivo de vaginose bacteriana, actinomyces, alterações sugestivas do herpes simplex; atrofia; células glandulares pós-histerectomia.

4) **Anomalias em células epiteliais:**

4.1) Anomalias em células pavimentosas: células pavimentosas atípicas de significado indeterminado (Asc-US), células pavimentosas atípicas não se podendo excluir lesão intraepitelial de alto grau (Asc-H), lesão intraepitelial de baixo grau L-Sil (inclui: HPV, displasia “suave”, NIC 1) e lesão intraepitelial de alto grau H-Sil (inclui: displasia moderada e grave, NIC2, NIC3 ou carcinoma in situ); carcinoma epidermóide

4.2) Anomalias em células glandulares: células atípicas (AGC), endocervicais, endometriais ou “sem outra especificação” (SOE); células atípicas sugestivas de neoplasia, endocervicais ou SOE; provável adenocarcinoma in situ do endocolo (AIS) e adenocarcinoma, SOE, endocervical, endometrial, extrauterino.

5) **Outra neoplasia maligna:** especificar

6) **Ausência de lesão intraepitelial, com presença de células endometriais.**

Wright TC, Jr., Cox JT, Massad LS, Twiggs LB, Wilkinson EJ. 2001 Consensus Guidelines for the management of women with cervical cytological abnormalities. JAMA 2002;287:2120-2129.

Anexo D: Classificação Colposcópica da Federação Internacional de Patologia Cervical e Colposcopia aprovada em 2002:

I. Achados Colposcópicos Normais: Epitélio Escamoso Original,

Epitélio Colunar, Zona de Transformação;

II. Achados Colposcópicos Anormais: Epitélio acetobranco

plano, Epitélio acetobranco denso, Mosaico fino, Mosaico grosseiro,

Pontilhado fino, Pontilhado grosseiro, Iodo Parcialmente positivo, Iodo

Negativo, Vasos atípicos.

III. Alterações colposcópicas sugestivas de câncer invasivo:

IV. Colposcopia insatisfatória: Junção Escamo-colunar não visível, Inflamação severa, atrofia severa, trauma, Cérvix não visível;

V. Miscelânea: Condiloma, Queratose, Erosão, Inflamação, Atrofia, Decidua, Pólipo;

Características colposcópicas sugestivas de alterações metaplásicas: superfície lisa com vasos finos, de calibre uniforme, alterações acetobranças leves, iodo negativo ou parcialmente positivo com solução de Lugol.

Características colposcópicas sugestivas de alterações de baixo grau (alterações menores): superfície lisa com borda externa irregular. Alteração acetobranca leve, que aparece lentamente e desaparece rapidamente. Iodo negativo, frequentemente com parcial captação de iodo positivo. Pontilhado fino e mosaico fino regular.

Características colposcópicas sugestivas de alterações de alto grau (alterações maiores): Superfície lisa com borda externa bem marcada. Alteração

acetobrancadensa, que aparece rapidamente e desaparece lentamente; podendo apresentar um branco nacarado que lembra o de ostra. Iodo negativo (coloração amarelo-mostarda) em epitélio densamente acetobranco. Pontilhado grosseiro e mosaico de campos largos e irregulares e de tamanhos diferentes. Acetobranqueamento denso no epitélio colunar pode indicar doença glandular.

Características colposcópicas sugestivas de câncer invasivo: Superfície irregular, erosão, ou ulceração. Acetobranqueamento denso. Pontilhado grosseiro e irregular e mosaico grosseiro de campos largos desiguais. Vasos atípicos.

Walker P, Dexeus S, De PG et al. International terminology of colposcopy: an updated report from the International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy Obstet Gynecol 2003;101:175-177.

Anexo E: Estadiamento do Câncer do Colo Uterino segundo a FIGO:

Estádio 1: O câncer está confinado ao colo uterino com a exclusão do envolvimento do corpo uterino

IA: O câncer é diagnosticado somente pela microscopia com invasão profunda menor que 5mm e extensão superficial menor que 7 mm

IA1: Invasão estromal menor que 3mm em profundidade e extensão superficial menor que 7mm.

IA2: Invasão estromal maior que 3mm e menor que 5mm. Extensão máxima do tumor menor que 7mm.

IB: Lesões cervicais clinicamente visíveis ou lesões pré-clínicas maiores que o estágio IA.

IB1: Lesão clinicamente visível e menor que 4,0cm na sua maior dimensão

IB2: Lesão clinicamente visível e maior que 4,0cm na sua maior dimensão

Estádio II: O câncer cervical invade tecidos além do útero mas não atinge a parede pélvica ou o terço distal da vagina.

IIA: Ausência de envolvimento parametrial.

IIA1: Lesão clinicamente visível e menor que 4cm na sua maior dimensão

IIA2: Lesão clinicamente visível e maior que 4cm na sua maior dimensão

IIB: Há envolvimento parametrial

Estádio III: O tumor atinge a parede pélvica ou envolve o terço distal da vagina ou causa hidronefrose (rim não funcionante).

IIIA: O tumor envolve o terço distal da vagina com ausência de extensão até a parede pélvica.

IIIB: Há extensão do tumor até a parede pélvica ou hidronefrose (rim não funcionante).

Estádio IV: O tumor se encontra além da pelve ou há diagnóstico histológico do envolvimento da mucosa do reto ou do urotélio vesical. O edema da mucosa dos órgãos adjacentes ao colo uterino não permitem o diagnóstico neste estágio, devendo haver a biopsia confirmatória.

IVA: Extensão tumoral para órgãos adjacentes

IVB: Extensão do tumor para órgãos distantes.

Pecorelli S, Denny L, Ngan N, Hacker N, Bermudez A et.al. Meeting Report: The new FIGO staging system for cancers of the vulva, cervix, endometrium and sarcomas. *Gynecologic Oncology* 115 (2009) 325–328 journal homepage: www.elsevier.com/locate/ygyno

Anexo F: Critérios de Richart para o diagnóstico histopatológico cervical:

NIC 1 (lesão intraepitelial de baixo grau):

A maturação está presente nos 2/3 superiores do epitélio, embora núcleos anormais possam existir em toda a espessura epitelial. As células superficiais poderão apresentar efeito citopático viral (coilócito). Há alteração nuclear no epitélio principalmente no terço basal. Mitoses poderão estar presentes, porém restritas a camada basal e serão típicas. Poderá haver disceratose

NIC 2 e NIC 3 (lesão intraepitelial de alto grau):

NIC 2: A maturação estará presente na parte superior do epitélio. As mitoses poderão estar presentes nos dois terços inferiores epiteliais. A presença de coilócitos é menos frequente e as atipias nucleares mais pronunciadas, além da disceratose.

NIC 3: a maturação poderá estar presente apenas na porção superior do epitélio. As alterações nucleares serão intensas e distribuídas por toda a extensão epitelial. As mitoses serão numerosas, sendo encontradas em toda espessura do epitélio. Poderá haver mitoses atípicas.

Crum CP. Symposium part 1: Should the Bethesda System terminology be used in diagnostic surgical pathology?: Point. Int J Gynecol Pathol 2003;22:5-12.