

JÚLIO CEZAR MERLIN



**CITOLOGIA CÉRVICO-VAGINAL:  
ESTUDO DOS MÉTODOS COLPOCITOLÓGICOS CONVENCIONAL  
E DE BASE LÍQUIDA BASEADO NA CELULARIDADE  
RETIDA EM INSTRUMENTOS DE COLETA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular, Departamento de Biologia Celular, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Biologia Celular.

Orientadora:  
Prof.<sup>ª</sup> Dr.<sup>ª</sup> Márcia Helena Mendonça

CURITIBA

2002

JÚLIO CEZAR MERLIN

**CITOLOGIA CÉRVICO-VAGINAL:  
ESTUDO DOS MÉTODOS COLPOCITOLÓGICOS CONVENCIONAL  
E DE BASE LÍQUIDA BASEADO NA CELULARIDADE  
RETIDA EM INSTRUMENTOS DE COLETA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular, Departamento de Biologia Celular, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Biologia Celular.

Orientadora:  
Prof.<sup>ª</sup> Dr.<sup>ª</sup> Márcia Helena Mendonça

CURITIBA  
2002

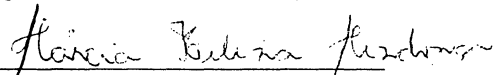
# PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

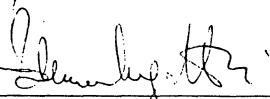
Departamento de Biologia Celular  
Setor de Ciências Biológicas  
Universidade Federal do Paraná

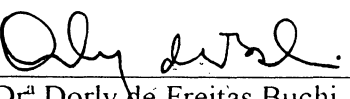
## PARECER

A Comissão Examinadora de Dissertação de Mestrado “ *CITOLOGIA CÉRVICO-VAGINAL: ESTUDO DOS MÉTODOS COLPOCITOLÓGICOS CONVENCIONAL E DE MONOCAMADA OU BASE LÍQUIDA, BASEADO NA CELULARIDADE RETIDA EM INSTRUMENTOS DE COLETA*”, de autoria do pós-graduando Júlio Cezar Merlin, e constituída pelos Professores: Dr<sup>a</sup> Márcia Helena Mendonça (Orientadora e Presidente do Departamento de Biologia Celular da UFPR), Dr. Adhemar Longatto Filho (Instituto Adolfo Lutz –SP) e Dr<sup>a</sup> Dorly de Freitas Buchi (Departamento de Biologia Celular – UFPR). Atribui individualmente as seguintes notas: Dr<sup>a</sup>. Márcia Helena Mendonça, nota: 100 ( dez ); Dr. Adhemar Longatto Filho, nota: 100 ( dez ) e Dr<sup>a</sup>. Dorly de Freitas Buchi, nota: 100 ( dez ). De acordo com as exigências do Regulamento do Curso de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, o candidato foi: APROVADO com a nota: 100 ( dez ), para a devida publicação o trabalho deve sofrer as modificações sugeridas. Em Curitiba, 26 de Março de 2002.

*A Comissão Julgadora atribuiu ao candidato o conceito "A", com menção de honras.*

  
Dr<sup>a</sup> Márcia Helena Mendonça

  
Dr. Adhemar Longatto Filho

  
Dr<sup>a</sup> Dorly de Freitas Buchi

À minha esposa Débora e aos meus filhos  
Júlio Filho e Guilherme, pela infinita  
paciência e compreensão de todas as horas.

“Sonho que se sonha só  
É só um sonho que se sonha só,  
Mas sonho que se sonha junto  
É realidade”

(Raul Seixas)

Aos meus pais (*in memoriam*), que nunca mediram esforços para que eu pudesse chegar até aqui. Tenho plena convicção que ao lado de Deus, estão felizes e orgulhosos do fruto que plantaram.

## AGRADECIMENTOS

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Márcia Helena Mendonça, pessoa fundamental nesta empreitada, pela atenção, dedicação e principalmente pela amizade e confiança em mim depositada, mesmo nos momentos mais difíceis.

Ao Dr. Marcos Takimura, profissional competente e incansável, que sem a sua inestimável colaboração, este trabalho não teria chegado até o fim.

Aos colegas do Instituto Adolfo Lutz - São Paulo, exemplos de pesquisadores, os quais sempre demonstraram que a ciência não tem fronteiras, que o conhecimento deve ser sempre compartilhado e que a humildade é a maior demonstração do saber. Em especial a Janaína Pittoli, pela sua solicitude e simpatia em todos os momentos.

Ao Dr. Paulo Roberto Hatschbach, amigo de todas as horas, o qual sempre segurou todas as barras nas minhas ausências do Laboratório Prolab, mesmo após cansativos plantões.

À Solange, Diretora da Capricorn Technologies, Inc., sempre muito atenciosa às minhas solicitações, nunca medindo esforços para que este trabalho se concretizasse.

À Vilma Tomazi que preparou e corou todas as lâminas desse trabalho com muita competência.

Aos professores do Departamento de Pós-Graduação em Biologia Celular pelos ensinamentos e pela competência, que fazem o reconhecimento do mesmo na comunidade científica.

À Marlene, secretária do Departamento de Pós-Graduação em Biologia Celular, pela paciência e atenção dispensadas aos alunos do curso.

Às professoras Sofia e Regina, e ao Amador, do laboratório de Parasitologia Clínica, Faculdade de Farmácia - UFPR, que me permitiram a digitalização de muitas das imagens aqui apresentadas.

Ao professor Juarez Gabardo, do Departamento de Genética – UFPR, responsável por todo o tratamento estatístico.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>ix</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>xi</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>xii</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>xiii</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
1.1 JUSTIFICATIVA .....	4
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>5</b>
2.1 Aspectos anatômicos, histológicos e citológicos do colo uterino .....	5
2.2 Prevalência e fatores de risco para o câncer de colo uterino .....	8
2.3 Aspectos evolutivos do câncer de colo uterino e de seus sistemas de classificação .....	9
2.4 Método colpocitológico convencional: vantagens e desvantagens .....	11
2.5 Sistema de base líquida ou monocamada AutoCyte: vantagens e desvantagens metodológicas.....	13
<b>3 OBJETIVOS .....</b>	<b>16</b>
3.1 Estudo Retrospectivo.....	16
3.1.1 Realização de estudo retrospectivo de 1067 exames citopatológicos cérvico-vaginais para verificação da incidência de patologias do trato genital inferior feminino em população usuária de laboratório da rede de saúde privada;.....	16
3.1.2 Estabelecimento do perfil populacional atendido .....	16
3.1.3 Verificação da incidência de patógenos causadores de vaginites e vaginoses .....	16
3.2 Estudo Prospectivo .....	16
3.2.1 Avaliação de forma qualitativa e quantitativa da celularidade que permanece na espátula de Ayre e na escova endocervical, após coleta pelo método convencional de Papanicolaou, utilizando-se a metodologia de Coleta Líquida e Monocamada AutoCyte;.....	16
3.2.2 Observação qualitativa e quantitativa da presença de células endocervicais, células metaplásicas e células escamosas;.....	16
3.2.3 Observação da presença de possíveis agentes etiológicos causadores de vaginites e vaginoses; .....	16
3.2.4 Avaliação da presença de células com alterações pré-neoplásicas e neoplásicas que tenham ficado retidas nos instrumentos de coleta convencionais; .....	16

3.2.5 Estudo comparativo com as mesmas amostras quando avaliadas pelo método convencional de Papanicolaou, observando-se a celularidade encontrada nas duas metodologias.....	16
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>17</b>
4.1 Materiais.....	17
4.2 Método Colpocitológico Convencional.....	18
4.2.1 Coleta de amostras.....	18
4.2.2 Leitura de lâminas realizadas pelo método convencional.....	19
4.2.3 Caracterização da adequação das amostras.....	20
4.2.4 Contagem de células.....	20
4.3 Metodologia de Base Líquida ou Monocamada.....	21
4.3.1 Coleta de amostras.....	21
4.3.2 Procedimento de preparação das amostras.....	22
4.3.3 Verificação da adequação das amostras na Metodologia de Base Líquida.....	25
4.3.4 Mecanismos de contagem de células para o Método de Base Líquida.....	25
4.3.5 Método de leitura das lâminas pela metodologia de Base Líquida.....	29
4.4 Método de Coloração das Lâminas.....	30
4.4.1 Procedimento e técnica de coloração.....	30
4.5 Montagem das Lâminas.....	31
4.6 Métodos Histopatológicos.....	31
4.7 Estudo Retrospectivo (amostras do grupo I).....	31
4.8 Estudo Prospectivo (amostras do grupo II).....	32
4.8.1 População estudada.....	32
4.8.2 Coleta das amostras.....	32
4.8.3 Delimitação dos sub-grupos de amostras.....	32
4.8.3.1 Amostras do Grupo IIa.....	32
4.8.3.2 Amostras do Grupo IIb.....	33
4.8.3.3 Amostras do Grupo IIc.....	33
4.9 Coleta de Dados Complementares.....	33
4.10 Tratamento Estatístico dos Dados.....	34
<b>5 RESULTADOS.....</b>	<b>35</b>
5.1 Estudo Retrospectivo.....	35
5.1.1 Perfil etário da população estudada.....	35

5.1.2 Agentes etiológicos detectados.....	37
5.1.2.1 Papilomavírus humano (HPV).....	37
5.1.2.2 <i>Candida spp</i> .....	39
5.1.2.3 <i>Gardnerella vaginalis</i> .....	42
5.1.3 Achados citológicos.....	44
5.1.3.1 ASCUS .....	44
5.1.3.2 Lesões intraepiteliais escamosas (SIL).....	47
5.1.3.2.1 LSIL.....	47
5.1.3.2.2 HSIL .....	49
5.2 Estudo Prospectivo .....	51
5.2.1 Perfil da população em estudo.....	51
5.2.1.1 Idade .....	51
5.2.1.2 Grau de escolaridade .....	54
5.2.1.3 Idade do primeiro coito.....	55
5.2.1.4 Número de parceiros sexuais.....	56
5.2.1.5 Número de gestações .....	57
5.2.2 Exames colpocitológicos .....	58
5.2.2.1 Distribuição e aspectos morfológicos nas amostras .....	58
5.2.2.2 Número de células nas amostras (aspectos quantitativos).....	61
5.2.2.3 Resultados diagnósticos.....	62
5.2.2.3.1 Achados indicativos de alterações pré-neoplásicas .....	62
5.2.2.3.2 Presença de células endocervicais .....	70
5.2.2.3.3 Presença de flora bacteriana .....	74
5.2.2.3.4 Presença de <i>Candida spp</i> .....	77
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>78</b>
<b>7 CONCLUSÕES.....</b>	<b>86</b>
<b>8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>88</b>

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Corte histológico da exocérvice normal	7
FIGURA 2 – Instrumentos de coleta cérvico-vaginais	18
FIGURA 3 – Sequência e técnica de coleta cérvico-vaginal. Método convencional	19
FIGURA 4 – Esquema de varredura da lâmina. Método convencional	19
FIGURA 5 – “Referência de imagens” ou “diagrama de celularidade conhecida”	21
FIGURA 6 – Esquema de coleta cérvico-vaginal. Método de monocamada	22
FIGURA 7 – Centrífuga especial AutoCyte	24
FIGURA 8 – Bomba de vácuo	24
FIGURA 9 – Mecanismo de contagem de células. Método de monocamada	26
FIGURA 10 – Mecanismo de leitura das lâminas. Método de monocamada.	29
FIGURA 11 – Numero de exames realizados pelo grupo etário de mulheres	36
FIGURA 12 – Efeito citopático causado pelo HPV. Coilocitose	38
FIGURA 13 – Efeito citopático causado pelo HPV. Disqueratose	38
FIGURA 14 – Incidência de <i>Candida spp</i> por grupo etário	40
FIGURA 15 – Microfotografia de <i>Candida spp</i>	41
FIGURA 16 – Microfotografia de <i>Gardnerella vaginalis</i>	43
FIGURA 17 – <i>G. Vaginalis</i> . Número de casos positivos por grupo etário	44
FIGURA 18 – ASCUS. Aspectos morfológicos I	45
FIGURA 19 – ASCUS. Aspectos morfológicos II	45
FIGURA 20 – ASCUS. Número de casos por grupo etário	46
FIGURA 21 – LSIL. Aspectos morfológicos celulares.	48
FIGURA 22 – HSIL. Aspectos morfológicos celulares.	50
FIGURA 23 – Número de mulheres distribuídas por grupos etários. Amostras IIa, IIb	52
FIGURA 24 – Amostras IIc. Número de mulheres distribuídas por grupos etários	53
FIGURA 25 – Distribuição das mulheres por grupos etários. Total das amostras II	54
FIGURA 26 – Grau de escolaridade das mulheres estudadas. Amostras IIa e IIb	55
FIGURA 27 – Idade do primeiro coito. Amostras IIa e IIb	56
FIGURA 28 – Número de parceiros sexuais. Amostras IIa e IIb	57
FIGURA 29 – Distribuição celular heterogênea. Método convencional.	59
FIGURA 30 – Método convencional. Esfregaço inadequado	59
FIGURA 31 – Distribuição celular. Método de monocamada.	60

FIGURA 32 – LSIL. Coilocitose	63
FIGURA 33 – Corte histológico de colo de útero. NIC I + HPV	66
FIGURA 34 – Corte histológico de colo de útero. NIC I + HPV	67
FIGURA 35 – Exames negativos, ASCUS, LSIL, HSIL, inadequados. Amostras Ilc	64
FIGURA 36 – Corte histológico de colo de útero. NIC III	68
FIGURA 37 – Corte histológico de colo de útero. NIC III.	69
FIGURA 38 – Células endocervicais isoladas	72
FIGURA 39 – Células endocervicais agrupadas em paliçada	73
FIGURA 40 – <i>Gardnerella vaginalis</i> . “Clue cells”	76

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Número de exames por grupo etário das mulheres. Valores absolutos	36
TABELA 2 – Incidência de HPV por grupo etário e seus efeitos citopáticos	39
TABELA 3 – Incidência de SIL por grupo etário	49
TABELA 4 – Número de gestações por mulher estudada	57
TABELA 5 – Número absoluto e percentual de lâminas com contagem superior e inferior aos valores mínimos propostos	61
TABELA 6 – Valores mínimos, máximos e médios das contagens de células por campo microscópico e total das amostras IIb e IIc	62
TABELA 7 – Incidência de ASCUS, LSIL, HSIL. Amostras IIa e IIb	62
TABELA 8 – Distribuição de ASCUS, LSIL e HSIL por grupos etários. Amostras IIc	65
TABELA 9 – Presença de células endocervicais. Amostras IIa, IIb e IIc	70
TABELA 10 – Resultados comparativos concordantes. Amostras IIa e IIb	71
TABELA 11 – Resultados comparativos discordantes. Amostras IIa e IIb	71
TABELA 12 – Comparativo cruzado entre as tabelas 10 e 11	71
TABELA 13 – Incidência de <i>G. vaginalis</i> nas amostras IIa e IIb	74
TABELA 14 – Estudo comparativo cruzado. Resultados concordantes para <i>G. vaginalis</i> Amostras IIa e IIb	74
TABELA 15 – Estudo comparativo cruzado. Resultados discordantes para <i>G. vaginalis</i> Amostras IIa e IIb	75
TABELA 16 – Incidência de <i>Candida</i> spp nas amostras IIa e IIb	77

## RESUMO

O exame cérvico-vaginal convencional, criado por Papanicolaou, tem efetivamente reduzido a incidência da morbidade e mortalidade do câncer de colo uterino. A triagem realizada com esta metodologia tem diminuído a mortalidade por câncer invasivo em torno de 50% a 70%. Entretanto, tem sido constatada a presença de resultados falso-negativos que variam de 1,5% a 55%. Tem-se observado que numerosos fatores contribuem para este acontecimento, onde um dos principais relatados entre todos, seria a qualidade das amostras, tanto no que diz respeito à aquisição da mesma, quanto ao processamento. Dois terços dos resultados falso-negativos, podem ser atribuídos a essa inadequação das amostras, representando importante falha metodológica. As principais causas de erros evidenciadas são: falta de representatividade celular no esfregaço causada por uma coleta pobre e inadequada; artefatos ou distorções morfológicas criadas pela má fixação, principalmente quando esta não ocorre imediatamente após a coleta; distribuição heterogênea e não randomizada das células no esfregaço; presença de aglomerados celulares, muitas vezes tornando o esfregaço muito espesso; células leucocitárias em grande quantidade, sangue, debris que podem obscurecer o esfregaço; células de importante representatividade na avaliação oncótica, que não são transferidas para a lâmina ou esfregaço, permanecendo nos instrumentos de coleta. O novo método de base líquida possui coleta e processamento melhorado em relação ao método convencional, principalmente no que se refere aos erros metodológicos acima relacionados. A proposta deste trabalho foi avaliar e comparar o método convencional e o de base líquida, utilizando-se contagem do número células presentes no esfregaço, bem como a presença de células endocervicais, esfregaços estes realizados das células residuais que ficaram aderidas aos instrumentos de coleta utilizados no método convencional. Neste estudo prospectivo, as amostras foram divididas em 3 grupos: amostras obtidas pelo método convencional (amostras IIa); amostras com células retidas nos instrumentos de coleta utilizados pelo método convencional (amostras IIb); e amostras obtidas diretamente pelo método de base líquida (amostras IIc). Foi observado no estudo comparativo entre os três grupos de amostras IIa, IIb e IIc, contagem maior que a contagem média e total recomendadas pelo Bethesda System Workshop 2001. Especificamente as amostras IIb, constituídas por células residuais nos instrumentos de coleta pelo método convencional, demonstraram grande número de células em suas contagens, onde 100% dessas apresentaram contagem média e total maior que 7,4 células / campo microscópico e 5.000 células, respectivamente. Nas amostras IIc, houveram 2 amostras (4%) que não apresentaram contagem média e total mínima, demonstrando provável deficiência no procedimento de coleta (provavelmente inerente as características das próprias amostras), pois supostamente todas as células foram transferidas para o líquido conservante, antes do processamento das lâminas. As 48 amostras restantes (96%) demonstraram contagem média acima de 7,4 células / campo microscópico e contagem total acima de 5.000 células / 13mm. A presença de células endocervicais nas amostras IIa, IIb e IIc foram de 70%, 62% e 72%, respectivamente, demonstrando não haver diferença significativa entre as mesmas. Entretanto, nas amostras IIb, 18% demonstraram presença de células endocervicais, que não foram encontradas nas amostras IIa.

## ABSTRACT

The conventional cervical cytologic test has been effective in reducing the incidence of morbidity and mortality from cervical neoplasm. The screening with this methodology has decreased the mortality rate from invasive cervical carcinoma by 50% to 70%. However, it has been reported, that the conventional smears has a false-negative rate of 1,5% to 55%. Numerous factors contributed to the false-negative diagnostic results, where some are related to the quality of the specimens, such as sample acquisition and specimen preparation. Two thirds of the overall false-negative rate can be attributed to samplings errors, that represent a failure of the methodology used to harvest and present representative cells for the cytopathologist. The principals components errors are: representative diagnostic cells simply are not collected by device (clinician derived); air-drying artefacts occur when the smear is not fixed immediately after preparation, resulting in distorte morphology; the no homogeneous entanglement of cells and mucus is difficult to the spread uniformly on a slide, where large areas of the slide are often covered with thick layers and sheets of epithelial cells that can hide clinically significant cells; large numbers of inflammatory cells, blood, necrotic material and debris when present may obscure the diagnostic material; representative cells on the collection device are not transferred to the slide (sample preparation derived). The liquid-based or monolayer processor is a new methodology of cytology specimen preparation. This methodology requires direct transfer of cells into a vial with preservative liquid (CytoRich). After, the cells suspension is gently dispersed, homogenizing the cell population and transferred to a glass slide. This system prepares a monolayer through centrifugation, sedimentation through a density gradient solution. The purpose of this prospective study was evaluate and comparated the monolayer to the conventional cervical cytologic smear, using the manual account of number cells and presence of endocervical cells in the slides. The samples were divided in 3 groups of slides: those obtained by the conventional form (slides IIa), residual cells of the instruments of conventional collection (slides IIb) and those obtained directlyby the method of liquid-based (slide IIc). By comparison between the groups of slides IIa, IIb and IIc, we could observe that in all of them the counting of cells was higher than the medium and the total amount recommended by the Bethesda System Workshop 2001. Specifically the slides IIb, constituted by the cells kept in the collection instruments by the conventional method, they showed great amount of the cells in their countings, where 100% of these slides showed medium and total counting higher than 7.4 cells / microscopic field and 5,000 cells, respectively. Among the slides IIc, there were 2 samples (4%) that didn't obtain medium and total minimum counting, demonstrating deficiency probably in the process of collections (or maybe inherent characteristics of these samples), since supposedly all of the cells were reviewed to the preservative liquid before the making of the sheet. The 48 remaining slides (96%) demonstrated medium counting above 7.4 cells /microscopic field and total counting above 5,000 cells / 13mm. The presence of endocervical cells in the slides IIa, IIb and IIc corresponded 70%, 62% and 72%, respectively, showed not significance difference between them. However, in the slides IIb, 18% demonstrated the presence of endocervical cells, which were not in the slides IIa.

## 1 INTRODUÇÃO

O câncer da cérvix uterina é ainda, uma das principais causas de óbitos entre as mulheres, 500 mil novos casos por ano, principalmente nos países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento (BOSCH, 1995; SCHOELL et al, 1999). As investigações clínicas e microscópicas, desde o século XIX até os dias atuais, através de inúmeros estudos morfológicos, citoquímicos, epidemiológicos, de biologia molecular, entre outros, puderam demonstrar que o câncer invasivo é precedido por várias modificações do epitélio escamoso, denominadas de lesões ou alterações pré-neoplásicas. Descrições citológicas e histológicas minuciosas originaram diversas classificações, que foram acompanhadas de um grande esforço de síntese e simplificação, para se obter uma melhor correlação entre a citologia, a histologia e a clínica (KOSS e GOMPEL, 1997).

É consenso na literatura que, quanto mais precocemente forem detectadas as lesões pré-neoplásicas ou neoplásicas e suas possíveis causas, maiores serão as probabilidades de tratamento e de cura, reduzindo-se assim os níveis de incidência e de mortalidade dessa patologia (MONSONEGO e FRANCO, 1997; KLINGERMAN, 1998). Com base nestes fatos foram criados programas de prevenção, sendo que o elaborado por Papanicolaou em 1941 e utilizado até o presente momento, teve sua primeira e verdadeira experiência em larga escala a partir de 1955, com o programa de triagem realizado na Columbia Britânica (MEIGS et al., 1943; ANDERSON et al., 1988).

Iniciativas semelhantes têm demonstrado que a detecção precoce em larga escala só será possível através de um trabalho de levantamento populacional, por meio de programas adequados e completos de prevenção e rastreamento do câncer de colo uterino, principalmente através da colpocitologia oncótica (SCHIFFMAN, 1995).

O exame citopatológico convencional, conforme preconizado por Papanicolaou há cerca de 60 anos, permanece inalterado e é talvez o melhor sistema de triagem citológica desenvolvida até hoje. Sua aplicação sistemática contribuiu enormemente para uma redução da ordem de 50 a 70% da taxa de incidência e mortalidade do câncer cervical invasivo. Porém, mesmo com o êxito na redução dos índices de mortalidade, não logrou-se até o momento a erradicação completa da doença em quaisquer das populações estudadas (CHRISTOPHERSON et al., 1978; KOSS, 1989a; KOSS, 1989b; MONSONEGO e FRANCO, 1997).

Tal quadro é decorrente da presença dos chamados fatores de risco para a neoplasia cervical (tabagismo, aumento do número de parceiros sexuais, idade precoce do primeiro coito, infecção pelo papilomavírus humano e outros) que, isolados ou em diferentes combinações, podem determinar uma maior propensão a este tipo de neoplasia (KESSLER, 1974; DAVESSA, 1984), bem como da constatação da existência de falhas metodológicas no sistema convencional, gerando resultados falso-negativos que determinam a detecção tardia de tumores invasivos mesmo em mulheres que participam de forma regular dos programas de prevenção do câncer de colo de útero (BERKOWITZ et al., 1979; GAY et al., 1985; KNESEL, 1996; SPRENGER et al., 1996).

Segundo os resultados de alguns estudos, as principais causas de erros apuradas foram: ausência de representatividade celular em virtude da não esfoliação dessas células no momento da coleta; artefatos criados e imagens morfolologicamente distorcidas pela secagem do esfregaço em contato com o ar, principalmente causado pela demora da fixação; distribuição não homogênea das células na realização do esfregaço; presença de elevada reação inflamatória, sangue e debris, obscurecendo o esfregaço ou mesmo deixando-o mais espesso; representativo número de células que não são transferidas para a lâmina (HUTCHINSON et al., 1994; SPRENGER et al., 1996; HOWELL et al., 1998).

No decorrer dos anos foram avaliadas a acurácia, a sensibilidade e a especificidade do método convencional e verificou-se que, algumas das falhas dessa metodologia, estavam diretamente ligadas à obtenção e representatividade das amostras, excitando dessa forma, a criação, desenvolvimento e introdução de novos sistemas de coletas e procedimento das mesmas, tentando-se prevenir ou minorar essas falhas (SAWAYA e EUGENE, 1999). Com este enfoque, um dos novos sistemas de coleta, preservação e preparação concebidos e em progressiva aceitação pela comunidade internacional de citologistas clínicos, é o sistema de base líquida ou monocamada AutoCyte (AutoCyte Inc., Elon College, North Carolina, USA), onde as amostras cervicais colhidas e preparadas por essa metodologia, demonstraram algumas vantagens sobre o método convencional.

No Brasil, no entanto, têm-se demonstrado que além dos fatores de risco e de falhas na metodologia e nos programas de prevenção, o problema se estende ou está diretamente relacionado com a formação profissional, a discriminação para com a doença, a falta de atualização dos profissionais em exercício, além da acomodação e resistência em mudar métodos ortodoxos por tecnologia mais avançada. Outro fator, como o tempo médio prolongado entre o diagnóstico definitivo e o início do tratamento, faz com que quase 50%

das mulheres brasileiras com câncer de colo uterino, cheguem aos centros especializados com a doença em estado avançado, corrobora a comprovação que o sistema brasileiro de saúde e, em especial, no caso de pacientes com neoplasias, está voltado mais para o tratamento das mesmas e não para o diagnóstico precoce ou preventivo (ERIGOS, 2001).

## 1.1 JUSTIFICATIVA

Neste contexto, não obstante, tenha sido verificada uma redução da morbidade e da mortalidade pelo câncer de colo de útero, continua imperativa a busca de novas metodologias para este fim.

A proposta de realização deste trabalho surgiu a partir dos questionamentos a respeito da eficácia, da sensibilidade e da especificidade do método convencional de Papanicolaou para a triagem do câncer cervical e suas implicações para a saúde pública.

Tais dúvidas emergem, especialmente, ao levar-se em consideração a celularidade que poderia ficar aderida nos instrumentos de coleta para a obtenção das amostras e que não seria repassada à lâmina para o estudo colpocitológico oncótico, causando provável perda na avaliação preventiva. Esta preocupação justifica-se, tendo em vista a possibilidade de ficarem aderidas células endocervicais e metaplásicas ou mesmo células com alterações pré-neoplásicas e neoplásicas, sendo, talvez uma das causas de resultados falso-negativos.

Em análise complementar conjunta, poder-se-ia de uma forma indireta, fazer estudo comparativo entre o método de base líquida ou monocamada e o método convencional, em relação aos tipos e quantidade de células encontradas, agentes etiológicos mais comuns causadores de vaginites e vaginoses, bem como o levantamento do perfil das mulheres estudadas quanto aos aspectos ligados aos fatores de risco para o desenvolvimento do câncer cervical.

O esclarecimento destas questões reveste-se de grande relevância nos aspectos sociais e de saúde comunitária, pois, tal estudo poderia traduzir-se em uma valiosa colaboração para a melhoria dos sistemas diagnósticos e, conseqüentemente da eficácia dos programas de prevenção do câncer de colo uterino.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Aspectos anatômicos, histológicos e citológicos do colo uterino

O aparelho genital feminino é formado basicamente por vulva, vagina, útero, trompas de Falópio ou trompas uterinas e ovários (KOSS e GOMPEL, 1997).

O útero possui a forma de um cone ou pêra, onde a porção mais volumosa está voltada para a porção superior do abdômen, recebendo o nome de corpo uterino e o vértice esta voltado para a porção inferior do abdômen, em contato íntimo com a porção vaginal, o qual recebe o nome de colo (STEVENS e LOWE, 2001). Ainda como definição de colo uterino ou cérvix, tem-se, segmento do útero situado em parte, acima da inserção da vagina (porção supravaginal ou *portio supravaginalis*) e em sua parte inferior, livre na cavidade vaginal, porção intravaginal (*portio vaginalis*) (LONGATTO e SILVA FILHO, 2000).

Segundo LIRA NETO (2000), anatomicamente o colo de útero se divide em duas porções denominadas de ectocérvix e endocérvix, onde a primeira é revestida por epitélio escamoso pluriestratificado, não-queratinizado, com ausência de glândulas e avascularizado, se alongando para revestir o fundo de saco vaginal (saco de Douglas) em toda a sua extensão. A segunda corresponde ao canal endocervical, que é revestido por epitélio colunar simples (epitélio cilíndrico), raramente ciliado, predominantemente mucíparo e possuindo saliências e reentrâncias originando formações glandulares, as quais armazenam em seu interior grande quantidade de muco, produzido pelas células glandulares secretoras.

A junção escamo-colunar (JEC), porção anatômica que coincide com o orifício cervical externo (OCE) naqueles colos denominados de colo-padrão, é o encontro dos epitélios pavimentoso e colunar, determinando o contato das mucosas glandular e escamosa (LONGATTO e SILVA FILHO, 2000). Esta região anatômica também é conhecida como zona de transformação típica (ZTT), terminologia originada na colposcopia, podendo predominar células escamosas metaplásicas (KOSS e GOMPEL, 1997). Quando a JEC projeta-se para fora do OCE, o processo é conhecido como ectrópio ou ectopia, e quando a mesma é projetada para dentro do canal, o processo é denominado de entrópio ou entropia (LIRA NETO, 2000).

À observação atenta de um corte histológico da mucosa vaginal ou da ectocérvix, nota-se a presença de três camadas de células escamosas, que partindo da membrana basal ou tecido conjuntivo de sustentação para a luz vaginal são nominadas de camada ou capa

profunda (células basais e parabasais), camada ou capa intermediária (células intermediárias) e camada ou capa superficial (células superficiais) (Figura 1). Estas células diferenciam-se entre si principalmente pelas características morfológicas citoplasmáticas e nucleares, sendo que à medida que se afastam da membrana basal, seus citoplasmas aumentam de tamanho e seus núcleos sofrem um processo inverso, diminuindo desta forma a relação núcleo/citoplasmática - N/C (LIRA NETO, 2000).

O processo de maturação e diferenciação desse epitélio é diretamente dependente de ação hormonal cíclica de estrogênio e progesterona, determinando predomínio de diferente celularidade, de acordo com a faixa etária e a fase do ciclo menstrual em que a mulher se encontra (LIRA NETO, 2000; KOSS e GOMPEL, 1997; LONGATTO e SILVA FILHO, 2000; STEVENS e LOWE, 2001).



FIGURA 1: Corte histológico da exocérvice normal. Camada profunda, camada intermediária e camada superficial.

Coloração HE. Aumento 100X.

## 2.2 Prevalência e fatores de risco para o câncer de colo uterino

O câncer cervical é uma das neoplasias mais comuns em mulheres, representando 6% de todas as neoplasias malignas (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 1989). Estima-se que a cada ano surjam mundialmente 500.000 novos casos de câncer de colo de útero invasivo (BOSCH, 1995; SCHOELL et al., 1999). Em um trabalho desenvolvido por DAS DORES et al., em 1999, calculou-se como sendo de 17, a média de anos de vida perdidos quando seu diagnóstico é feito antes dos 70 anos, perfazendo um total de 7,5 milhões de anos de vidas perdidos anualmente. Da mesma forma, a neoplasia cervical é responsável por 300.000 óbitos anuais em média, sendo que 80% de sua incidência e mortalidade são observados nos países subdesenvolvidos.

Foi observada em vários estudos, a presença de fatores de riscos na carcinogênese cervical, principalmente: baixo poder sócio-econômico, início precoce da atividade sexual, pouca idade ao primeiro parto, multiparidade, promiscuidade pessoal ou do parceiro, múltiplos parceiros, tabagismo, uso prolongado de anticoncepcionais hormonais orais, imunossupressão, doenças sexualmente transmissíveis (DST), e principalmente infecção pelo papilomavirus humano (HPV), entre outros (ARENDS et al., 1998; BICCA e CASANOVA, 1998; SURIS et al., 1999).

O fator sócio-econômico tem se demonstrado particularmente importante, pois o câncer cervical acomete principalmente mulheres de camadas sociais mais baixas e aquelas que não se submetem a controles ginecológicos preventivos periódicos, que aumentam a probabilidade de detecção das lesões precursoras dos carcinomas cervicais (DAS DORES et al., 1999). Um triste exemplo é o Brasil, onde taxas muitas elevadas de câncer cervical têm sido relatadas anualmente (CAVALCANTI, 1996). Tal fato é provavelmente devido a uma nutrição inadequada, multiparidade, infecções genitais simultâneas, hábitos de higiene não satisfatórios, bem como, a falta de programas governamentais consistentes e abrangentes de triagem, e conseqüente dificuldade de acesso à rede privada de saúde (BOSCH et al., 1995; SCHIFFMANN, 1995; DAS DORES et al., 1999 ).

Com relação aos fatores sexuais, pesquisas têm demonstrado que as mulheres que tiveram seu primeiro contato sexual com idade inferior a 20 anos, ou seja, ainda na adolescência, apresentam maior probabilidade de desenvolverem esta neoplasia em relação àquelas que se iniciaram sexualmente em idade mais tardia. Deve-se isso provavelmente a uma maior vulnerabilidade da cérvix uterina, que em mulheres muito jovens, apresenta uma

certa imaturidade histológica, podendo as lesões pré-cancerosas instalarem-se mais facilmente (SCHIFFMANN, 1995).

Dentre as infecções simultâneas e outros agentes de DST, figuram principalmente infecções pelo herpesvírus (HSV), citomegalovírus (CMV), papilomavírus humano (HPV), clamídia, vírus da hepatite B e vírus da imunodeficiência humana (HIV). Neste contexto, possivelmente os mecanismos oncogênicos evoluem com a ativação de oncogenes e conseqüente produção de oncoproteínas, sendo que algumas delas atuam como inibidoras dos mecanismos citoprotetores ou anti-oncogenes (KOUTSKY, 1997; KOUTSKY et al., 1988)

A influência do tabagismo baseia-se provavelmente no envolvimento de um grupo importante de carcinógenos químicos, tais como a nicotina, fenóis, hidrocarbonetos e alcatrão, os quais diminuem consideravelmente a quantidade de células de Langerhans (células apresentadoras de antígenos, presentes nos tecidos epiteliais), células essas vitais para a imunidade celular local (COX, 1995).

Os contraceptivos hormonais orais podem agir sinergicamente com o HPV, promovendo um aumento na atividade transcricional desse vírus, pois se acredita que o controle da transcrição do DNA viral junto ao DNA da célula dependa de fatores hormonais (HERRINGTON, 1995).

Observou-se uma maior incidência de lesões pré-cancerosas em mulheres imunossuprimidas, como nos casos de pacientes transplantadas, portadoras do vírus HIV, gestantes, etc. (MURTA, 1997, 1998).

### **2.3 Aspectos evolutivos do câncer de colo uterino e de seus sistemas de classificação**

A evolução do câncer cervical é geralmente lenta e vem precedida de lesões pré-cancerosas, denominadas de neoplasias intraepiteliais cervicais (NIC). Essas lesões são vistas citológica e histologicamente como figuras atípicas, principalmente ao nível nuclear e secundariamente no citoplasma. As NICs são classificadas em NIC I (displasia leve), NIC II (displasia moderada) e NIC III (displasia severa e carcinoma "in situ") (RICHART, 1967). Os graus de NIC se referem à altura do epitélio comprometido com as atipias, onde nas NIC I as células envolvidas são as células superficiais e intermediárias, nas NIC II células superficiais, intermediárias e algumas células da camada profunda, não ultrapassando 2/3 de todo o epitélio e nas NIC III as alterações e atipias comprometem as células menos

diferenciadas, ou seja, basicamente toda a extensão do epitélio (RICHART e BARRON, 1969, RICHART e WRIGHT, 1993).

Estratégias de triagem (*screening*) baseadas na morfologia dessas lesões pré-cancerosas da neoplasia cervical foram criadas com o objetivo de prevenir o desenvolvimento do carcinoma invasivo, em elevadas proporções na população feminina (RICHART e BARRON, 1969).

Em 1988 foi criado o Sistema Bethesda (SBT) de classificação, no intuito de padronizar mundialmente a terminologia utilizada, facilitando a comunicação entre o clínico e o laboratório (KURMANN e SOLOMON, 1994). A partir do SBT criaram-se novas terminologias para as NICs substituindo-se tais expressões para lesões intraepiteliais escamosas - “squamous intraepithelial lesion” (SIL). As SIL, por sua vez, foram divididas em lesões intraepiteliais escamosas de baixo grau - “low-grade squamous intraepithelial lesion” (LSIL) e lesões intraepiteliais escamosas de alto grau - “high-grade squamous intraepithelial lesion” (HSIL), onde a primeira corresponde a NIC I e a segunda as NIC II, NICIII e carcinoma “in situ” (KURMANN e SOLOMON, 1994).

Uma NIC ou SIL poderá persistir por longos anos, antes de se tornar tumor invasivo (HILDESHEIN, 1994). A maioria das LSIL regridem espontaneamente ou poderão permanecer em estágio estacionário. Ocorrem preferencialmente entre mulheres mais jovens, podendo-se relacionar o fato a uma capacidade imunológica mais efetiva, mesmo quando ainda exista uma certa imaturidade histológica (HILDESHEIN, 1994; COX, 1995; SCHIFFMANN, 1995).

A progressão para HSIL ocorre principalmente em mulheres entre 25 e 29 anos de idade, tendo-se notado uma relação direta e dependente da presença de HPV e do seu tipo viral específico envolvido. As técnicas de biologia celular demonstraram ser os HPVs de tipo 16 e 18 os de maior incidência, sendo chamados de HPVs de alto risco ou de alto poder oncogênico. O tempo médio verificado da evolução de LSIL para HSIL é de aproximadamente 2 anos (COX, 1995; KOUTSKY et al., 1988).

Os trabalhos desenvolvidos por ZUR HAUSEN (1986, 1994), revelaram que as interações entre o hospedeiro e fatores carcinogênicos, resultam na perda do controle do ciclo celular, bem como na persistência de genes virais de alto risco, necessários para a integração do DNA viral ao DNA da célula do hospedeiro. No entanto, em alguns dos tipos de tumores cervicais mais agressivos, os quais são em pequeno número, não tem se evidenciado a

presença do DNA-HPV, não se sabendo ao certo se são tumores realmente negativos para o DNA-HPV ou se os níveis de DNA-HPV estão abaixo da capacidade de detecção da metodologia disponível ou ainda envolvem algum tipo ou subtipo de HPV não conhecido e tipado (COX, 1995).

Estudos realizados entre mulheres americanas, revelou que a progressão de HSIL para carcinoma invasivo, ocorre principalmente em mulheres com idade entre 35 e 39 anos, transcorrendo um tempo prolongado entre o aparecimento e prevalência das primeiras lesões pré-cancerosas até a instalação de tumor invasivo. Tal fato poderia ser explicado pela necessidade da intercorrência de fatores e co-fatores de risco por um longo período nos indivíduos imunocompetentes (COX, 1995).

#### **2.4 Método colpocitológico convencional: vantagens e desvantagens**

O método colpocitológico convencional consiste na esfoliação, por intermédio de instrumental adequado, que incluem a espátula de Ayre e escova endocervical, de células do epitélio vaginal, posteriormente distribuídas em lâminas, fixadas, coradas e observadas ao microscópio. Esta metodologia possui muitas vantagens, tais como, o seu baixo custo e simplicidade metodológica. Criado como método de triagem para o câncer cervical por Papanicolaou, baseia-se na busca ativa de lesões inflamatórias, pré-neoplásicas e neoplásicas da cérvix uterina, após a esfoliação forçada de células do epitélio escamoso (exocérvix), junção escamo-colunar, células endocervicais (canal endocervical) e material recolhido do fundo de saco posterior vaginal. Este mecanismo é possibilitado através da elaboração de lâminas representativas dos epitélios acima citados e coloração panóptica específica (coloração de Papanicolaou). Obedece ainda ritmo de coleta já bem estabelecido de um a dois anos, após a realização prévia de dois exames colpocitológicos oncóticos consecutivos, com ausência de atipias citológicas (negativos para malignidade), com intervalo de um ano entre os mesmos.

Embora de valor diagnóstico indiscutível, o exame citopatológico cérvico-vaginal convencional é dependente da habilidade, conhecimento, treinamento, paciência, concentração e experiência do citologista, bem como, da representatividade da amostra coletada e analisada. Coletas mal realizadas e erros de transferência das amostras para as lâminas, representam 62% dos esfregaços com resultados falso-negativos (BERKOWITZ et al, 1979; GAY et al, 1985; KNESEL, 1996; SPRENGER et al, 1996; BOYES et al, 1997).

As amostras para serem consideradas adequadas devem possuir boa representatividade celular. Tal fato é representado pela presença no esfregaço de boa quantidade de células, bem conservadas, bem distribuídas e com boa espessura, presença de células metaplásicas (JEC) e células endocervicais (BETHESDA, 2001).

No entanto, apenas cerca de 18% do total de células recolhidas na coleta pelo método convencional, utilizando-se instrumental padrão, são transferidas para as lâminas de vidro e ainda de forma heterogênea e não randômica, gerando uma preocupação em relação à cobertura e a eficácia da mesma. Alguns estudos tem revelado no método convencional, uma grande variação nos valores de falso-negativos intrínsecos, no intervalo de 20 a 30% para FERENCZY et al., 1996 e ERIGOS, 2001; de 1,5 a 55% para BOGDANISH, 1987, GAY et al, 1985 e KOSS, 1989a; 5 a 55% para KNESEL, 1996. Segundo SPRENGER et al., 1996 os valores foram de 9,4% com componentes endocervicais presentes e 16,7% com componentes endocervicais ausentes.

Dois terços dos resultados falso-negativos foram atribuídos a erros de amostras. A principal causa encontrada foi a falha metodológica na obtenção de amostras representativas, seja pela ausência de células ou pela presença de pequeno número das mesmas nos esfregaços analisados, oriundas das regiões de maior incidência das neoplasias cervicais, que são a junção escamo-colunar e canal endocervical (KOSS, 1989b; LAVERTY, 1989; VAN DER GRAAF e VOOIJS, 1987).

Os resultados de exames falso-negativos, também podem ter, ainda como fator determinante a quantidade de células que ficariam retidas ou aderidas à espátula de Ayre e a escova endocervical e que não são repassadas para a lâmina no procedimento de confecção do esfregaço, prejudicando de forma causal e absoluta a vantagem do “screening”, ao qual se presta o exame colpocitológico como um todo (BOGDANISH, 1987; GAY et al, 1985; KOSS, 1989a).

Outra grande desvantagem da citologia cérvico-vaginal convencional é a sua alta taxa de falso-positivos, que pode variar de 5 a 70%, pois dependem das condições do esfregaço, da perícia de interpretação e dos valores de critérios morfológicos, limites determinantes de positividade ou não para malignidade da amostra (FERENCZY et al., 1996). A falta da definição mais objetiva desses critérios morfológicos, esbarra principalmente na distinção das atipias celulares entre o reparo e a inflamação, anteriormente chamadas de atipias limítrofes e hoje denominadas de células escamosas atípicas de significado indeterminado – “atypical squamous cells of undetermined significance” (ASCUS) e células glandulares atípicas de

significado indeterminado – “atypical glandular cells of undetermined significance” (AGUS) (KURMAN e SOOMON, 1994; FERENCZY et al., 1996). As mulheres portadoras de esfregaços cérvico-vaginais com ASCUS e AGUS necessitam de repetição da citologia, onde a citologia convencional isolada possui sensibilidade de no máximo 75% e valor preditivo positivo de 45,7% (BISHOP et al., 1998).

Além da interpretação da celularidade e atípicas, outra limitação que pode estar presente no método convencional é o obscurecimento do esfregaço pela presença de sangue (eritrócitos), grande quantidade de leucócitos (reação inflamatória), espessura do esfregaço elevada, secagem do esfregaço pelo ar e fixação insatisfatória (KNESEL, 1996)

Uma recente revisão sintetiza o quadro atual, tendo demonstrado que a realização de um único teste citológico convencional, pode deixar de detectar até 50% das lesões precursoras do câncer cervical, explicando parcialmente a permanência da incidência desta patologia, mesmo em países onde os programas de rastreamento são bem organizados e com alto índice de cobertura populacional (FERENCZY et al., 1996).

## **2.5 Sistema de base líquida AutoCyte: vantagens e desvantagens metodológicas**

Um dos novos sistemas de coleta, preservação e processamento das amostras, concebido na perspectiva prevenir ou melhorar as falhas detectadas na execução do método convencional, segundo SAWAYA e EUGENE, 1999, é o sistema de base líquida ou monocamada AutoCyte (AutoCyte Inc., Elon College, North Carolina, USA), interpretados como sinônimos pela Conferência Internacional de Consenso em Citologia.

O método AutoCyte de base líquida ou monocamada, baseia-se igualmente na retirada por esfoliação forçada de células da cérvix uterina, utilizando-se uma escova única, marca Rovers (Rovers BV, Lekstraat, The Netherlands), constituída de material plástico, a qual possui extremidade destacável e desenho anatômico que se encaixa perfeitamente ao orifício cervical externo (OCE), permitindo a esfoliação de células da exocérvice, junção escamo-colunar (JEC) e endocérvice. A extremidade da mesma, após a coleta de material cérvico-vaginal, é separada da haste e colocada em um frasco com líquido preservante (cytorich), permitindo a confecção posterior da lâmina e disponibilizando, para isto, de forma homogênea e randômica, toda a celularidade recolhida, bem como, a preparação de lâminas com camada única de células (monocamada). Este princípio está fundamentado principalmente no recobrimento das lâminas de vidro utilizadas para a confecção do

esfregação, com uma solução catiônica, a qual exercerá função de ligação com as células depositadas, sendo que essas últimas, por possuírem carga negativa, permitem que fiquem aderidas à superfície da lâmina, apenas as células em contato com a mesma.

As amostras cervicais colhidas e preparadas por essa metodologia, têm demonstrado algumas vantagens sobre o método convencional, pois todo o material recolhido pela escova é transferido para o frasco contendo um meio líquido preservante (cytorich), para posteriormente ser homogeneizado e transferido de forma homogênea e randômica para a lâmina, obtendo-se uma distribuição uniforme.

Ainda como vantagem, o fundo do esfregação permanece limpo, livre de artefatos e com franca diminuição do número de células eritrocitárias e leucocitárias, sem ainda perder a microflora e outros agentes, quando presentes, melhorando o desempenho para 98% de sensibilidade e 84,7% de valor preditivo positivo (SPRENGER et al., 1996; FERENCZY et al., 1996; KNESEL, 1996; VASSILAKOS et al., 1996; BISHOP et al., 1998).

A detecção de alterações ou anormalidades citológicas nas preparações pela monocamada, foram otimizadas pela melhora da qualidade e da adequação do esfregação (distribuição uniforme e melhor densidade celular) e sua representatividade, quando comparado com o método convencional (AUSTIN e RAMZY, 1998; BISHOP et al., 1998; VASSILAKOS et al., 1998).

Redução na incidência de ASCUS e AGUS e melhora na detecção de lesões intraepiteliais escamosas (SIL), também foram observadas no procedimento de base líquida, pois se evidencia uma sensível melhora na caracterização dos achados citológicos (VASSILAKOS et al., 1998). Este fato corrobora o trabalho de BEDNOV e colaboradores (1998), que encontrou uma incidência de SIL de 7,1% no AutoCyte contra 3,8% no convencional.

Em relação à presença do papilomavírus humano (HPV), a combinação da metodologia AutoCyte com os testes de Captura Híbrida, facilita o diagnóstico da presença do vírus, diminuindo o custo desta investigação, tendo em vista que, o teste DNA viral poderá ser realizado com o conteúdo residual armazenado da citologia líquida, evitando muitas vezes a colposcopia e a visita adicional da paciente ao laboratório para a coleta SCHIFFMANN et al., 1994; SHERMAN, 1994; MANOS et al., (1999).

Em acréscimo, tal associação evidenciou ainda uma elevação nos índices de sensibilidade para 99,0%, especificidade 59,3%, valor preditivo positivo 89,9% e valor preditivo negativo 95,5% (MANOS et al., 1999). Essas análises possuem particular

relevância, na triagem de mulheres com esse tipo de esfregaço, pelo fato de que o HPV está presente ou associado a 90% dos casos de câncer cervical, ou seja, é fator predisponente para carcinogênese, na qual estão envolvidos principalmente os tipos 16 e 18, considerados de alto risco ou elevado poder oncogênico (BOSCH, 1995; CAVALCANTI, 1996).

A biologia molecular produz uma melhor conduta nos casos de ASCUS e AGUS, detectando ou não a presença do HPV e de seu tipo específico, pois compreendem mais da metade de todos os resultados citológicos que precedem o diagnóstico de lesão intraepitelial escamosa de alto grau (HSIL) (FLANNELY, 1994).

Entretanto, devido ao seu alto custo, novos estudos ainda devem ser processados para um melhor estabelecimento do custo-benefício, quando comparado com o método convencional, principalmente quando aplicado à realidade da saúde pública brasileira, onde este fator é de considerável importância.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Estudo Retrospectivo**

3.1.1. Realizar estudo retrospectivo de 1067 exames citopatológicos cérvico-vaginais, para verificação da incidência de patologias do trato genital inferior feminino em população usuária de laboratório da rede de saúde privada;

3.1.2. Estabelecer o perfil populacional atendido e quem tem acesso à rede privada de saúde e que independe de programas públicos para a realização da triagem para o câncer cervical;

3.1.3. Verificar a incidência de patógenos causadores de vaginites e vaginoses, pois entram na sua maioria como fatores de risco para a neoplasia uterina.

#### **3.2. Estudo Prospectivo**

3.2.1 Avaliar de forma qualitativa e quantitativa da celularidade que permanece na espátula de Ayre e na escova endocervical, após coleta pelo método convencional de Papanicolaou, utilizando-se a metodologia de Coleta Líquida e Monocamada AutoCyte;

3.2.2 Observar de forma qualitativa e quantitativa a presença de células endocervicais, e células escamosas;

3.2.3 Observar a presença de possíveis agentes etiológicos causadores de vaginites e vaginoses;

3.2.4 Avaliar a presença de células com alterações pré-neoplásicas e neoplásicas que tenham ficado retidas nos instrumentos de coleta convencionais;

3.2.5 Estabelecer estudo comparativo com as mesmas amostras quando avaliadas pelo método convencional de Papanicolaou, observando-se a celularidade encontrada nas duas metodologias.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Materiais

- água deionizada
- álcool etílico absoluto marca Reagen
- álcool etílico 96% marca Reagen
- bomba de vácuo para aspiração
- centrífuga AutoCyte
- corante EA-36, marca Newprov
- corante Hematoxilina de Harris, marca Newprov
- corante Eosina, marca Merck
- corante Orange G, marca Newprov
- entellan – bálamo sintético marca Roche
- escova Rovers
- espátula de Ayre
- escova endocervical (citobrush)
- lâminas para microscopia 25mm X 75 mm
- lamínulas 24mm x 24mm
- lamínulas 24mm x 60mm
- líquido preservante – CytoRich (AutoCyte)
- misturador tipo *vortex*
- ponteiros descartáveis pra aspiração em bomba de vácuo
- solução catiônica – CytoRich slide coat
- solução de densidade – Density Reagent
- xilol marca Merck
- microscópio binocular, marca Nikon, modelo Alphaphot, lâmpada de halogênio 6 V / 20 W, com oculares de 10X e objetivas de 10X, 40X e 100X.

## 4.2 Método Colpocitológico Convencional

### 4.2.1 Coleta de amostras

A colheita das amostras pela metodologia convencional de Papanicolaou foi realizada utilizando-se primeiramente a espátula de Ayre (Figura 2a), para esfoliação de células da exocérvix, junção escamo-colunar e fundo de saco posterior (Saco de Douglas); e em segundo lugar com escova endocervical (Figura 2c) para a obtenção de células do canal endocervical, ou seja, células endocervicais. Esta seqüência foi obedecida pelo fato do sangramento, que pode ocorrer na maioria das vezes após a utilização da escova endocervical, interferir na qualidade das amostras. O esquema de coleta esta apresentada na Figura 3.

Essas amostras foram espalhadas sobre lâminas de vidro para microscopia 25 mm por 75 mm, de modo regular para garantir um esfregaço com boa espessura. Procedeu-se a seguir a fixação mergulhando-se as lâminas em frasco apropriado contendo álcool etílico 96%, onde permaneceram até o procedimento de coloração. O tempo entre a confecção do esfregaço e a fixação nunca foi maior do que 20 segundos, permitindo boa fixação sem haver dessecação do material. As lâminas e os frascos foram imediata e devidamente identificados com o nome da mulher e seu número de registro.

A coleta das amostras IIa e IIb foi sempre realizada pelo mesmo ginecologista.

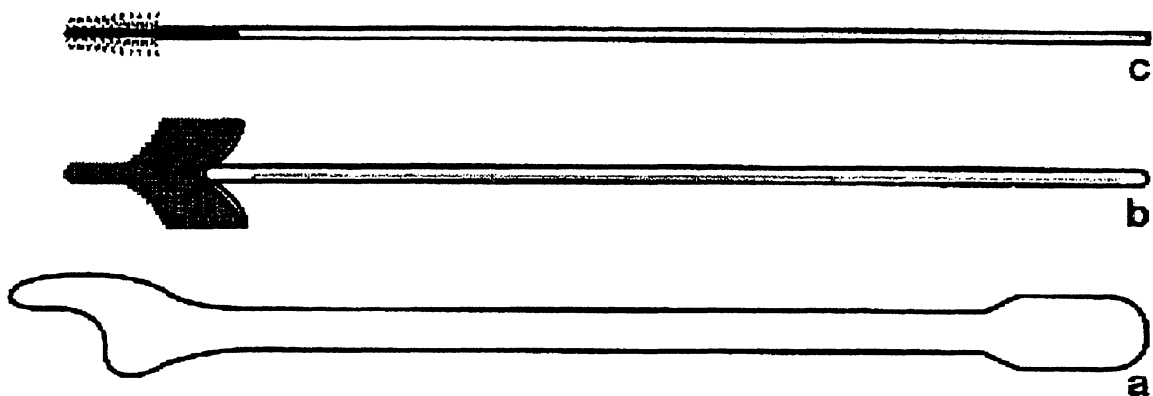


FIGURA 2: Instrumentos de coleta cervico-vaginais: a) espátula de Ayre modificada. b) escova Rovers. c) escova endocervical (citobrush). Koss, 1997

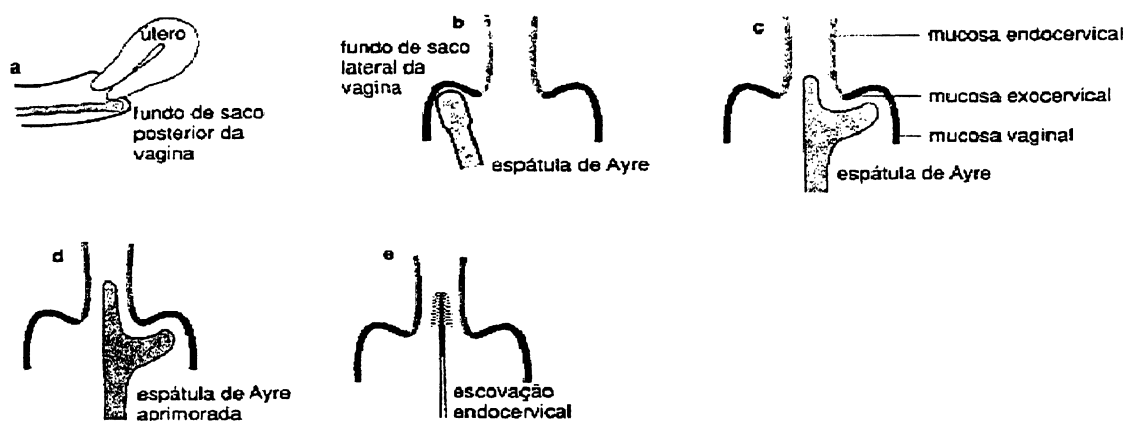


FIGURA 3: Seqüência e técnica de coleta cervico-vaginal. Método convencional. Koss e Gompel, 1997

#### 4.2.2 Leitura de lâminas realizadas pelo Método Convencional

Após coloração e montagem, a leitura das lâminas procedeu-se seguindo as regras estabelecidas por KOSS e GOMPEL, (1997). O deslocamento da lâmina foi orientado sempre da mesma forma, ou seja, a varredura foi feita de forma horizontal sistemática e com o auxílio de microscópio óptico com a objetiva de 10X e oculares de 10X. Os campos sucessivos foram vistos. A cada avanço, a porção final do último campo microscópico foi parcialmente revista, para que nenhuma área do esfregaço ficasse a descoberta (Figura 4). Para as células que necessitaram de observação mais minuciosa, foi utilizada a objetiva de 40X.

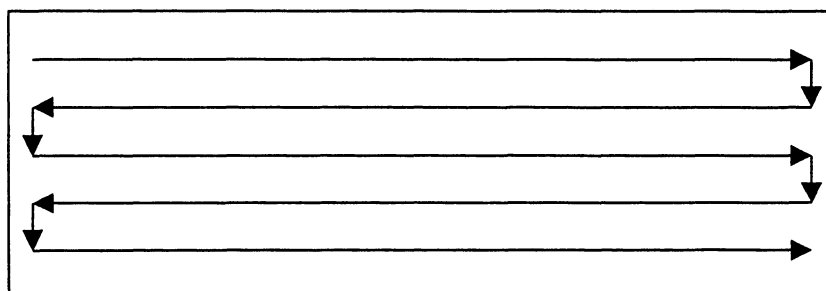


Figura 4: Esquema de varredura da lâmina. Método convencional

### 4.2.3 Caracterização das amostras

Os critérios utilizados para verificar a adequação das amostras, foram os propostos pelo Bethesda System 2001 Workshop, o qual revisou de forma minuciosa o SBT proposto até então. Seguindo essas recomendações, foi considerado esfregaço adequado ou satisfatório para o sistema citopatológico cérvico-vaginal convencional, aquele que demonstrou:

- possuir pelo menos 10% do esfregaço com células epiteliais escamosas bem preservadas e bem visualizadas;
- possuir um mínimo de 8.000 a 12.000 células epiteliais escamosas bem preservadas e bem visualizadas;
- possuir no mínimo 2 grupamentos de células endocervicais ou células metaplásicas bem preservadas, compostos pelo menos por 5 células cada um;
- as áreas obscurecidas por sangue, muco ou processos inflamatórios, menores que 75% da lâmina.

Em acréscimo a isto, foram coletadas informações sobre a história e dados clínicos das pacientes, tais como, idade, data da última menstruação, número de filhos, uso de contraceptivos hormonais, número de gestações, entre outros.

### 4.2.4 Contagem de células

Na avaliação do número de células presentes nos esfregaços preparados pelo método convencional, uma estimativa aproximada da presença mínima de 8.000 a 12.000 células foi feita utilizando-se o método comparativo através da “referência de imagens” ou “diagrama de celularidade conhecida” (Figura 5), proposto pelo Bethesda System (2001). Essa estimativa foi efetuada nas referidas contagens, com o emprego de um aumento de 100X, sendo examinados 10 campos de forma linear, onde não houvesse muita sobreposição celular e o esfregaço não se apresentasse obscurecido por muco ou reação inflamatória. Em cada campo microscópico descrito acima, estimou-se ter encontrado, em média 160 células.

Nos casos de aglomerados celulares, atrofia ou citólise acentuada, foi aplicado o julgamento, conhecimento e experiência do citopatologista para avaliação da adequação da amostra. As amostras foram consideradas adequadas, no que se refere à celularidade mínima necessária, quando o número de células observadas por campo microscópico na lâmina

examinada era igual ou maior ao número de células da “referência de imagens” (BETHESDA, 2001) (Figura 5).

Todas as contagens foram realizadas pelo mesmo citopatologista.

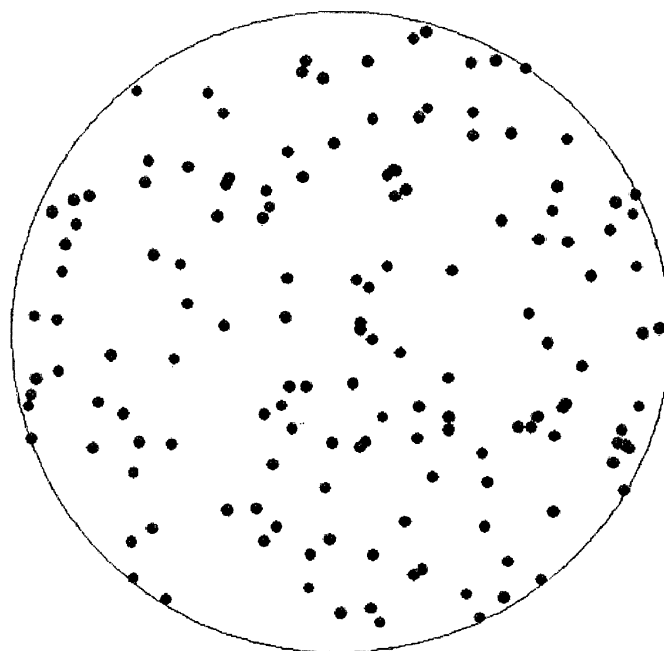


FIGURA 5: “Referência de imagem” ou “diagrama de celularidade conhecida”. Objetiva de 10X, oculares de 10X, FN = 20, número aproximado de células = 160. FN = field number

### 4.3 Metodologia de Base Líquida

#### 4.3.1 Coleta de amostras

A coleta foi realizada com a escova Rovers (Figura 2b), que possui uma das extremidades destacável e desenhada de forma anatômica, a qual se encaixa perfeitamente ao Orifício Cervical Externo (OCE) permitindo a esfoliação de células da exocérvix, junção escamo-colunar (JEC) e endocérvix, conforme demonstrado na Figura 6.

Após a realização da coleta do material cérvico-vaginal, a extremidade anatômica utilizada para a descamação foi destacada e colocada em frasco especial com tampa de rosca contendo líquido preservante AutoCyte (cytorich), devendo permanecer desta forma até o momento da preparação das amostras (Figura 6).



Figura 6: Esquema de colheita de amostras cervico-vaginais. Método de monocamada.

#### 4.3.2 Procedimento de preparação das amostras

As lâminas utilizadas para a confecção dos esfregaços e para a microscopia, foram previamente colocadas em frasco porta-lâminas de plástico e imersas em solução catiônica (cytorich slide coat), permanecendo assim por aproximadamente 3 minutos. Após esgotado o tempo, foram então removidas do frasco e colocadas em posição vertical para secagem pelo menos por 30 minutos. Este procedimento resultou no revestimento da superfície das lâminas com a solução catiônica. As lâminas assim preparadas, poderiam ser utilizadas no prazo máximo de 24 horas, a partir deste momento, desde que guardadas em local livre de poeira, porém os melhores resultados foram obtidos com as lâminas recém preparadas.

Foram pipetados 4,0 mL da solução líquida de densidade (Density Reagent) em um tubo cônico de plástico para centrífuga, com capacidade máxima para 15,0 mL. Com o auxílio de um agitador do tipo *vortex*, o frasco com tampa de rosca contendo a amostra com o líquido preservante, foi homogeneizado por aproximadamente 45 segundos.

Após homogeneização o frasco foi invertido, colocando-se cuidadosamente todo o seu conteúdo no tubo de centrífuga sobre os 4,0 mL da solução de densidade previamente pipetada e na seqüência foi realizada uma primeira centrifugação por 2 minutos a 200g, em centrífuga especial AutoCytte (Figura 7).

O sobrenadante foi aspirado por intermédio de uma bomba de vácuo (Figura 8), deixando-se permanecer no frasco aproximadamente 1,0 mL do centrifugado. Foi realizada, então uma nova centrifugação, pelo tempo de 10 minutos a 800g, também em centrífuga específica AutoCytte, após o que, o sobrenadante foi decantado gentilmente e adicionou-se 1,0

mL de água deionizada em cada tubo de amostra, fazendo-se a homogeneização da suspensão, mais um vez por intermédio de um *vórtex*.

Previamente ao passo anterior, as lâminas foram colocadas em um suporte de metal, juntamente com as câmaras de assentamento ou de transferência (estruturas de material plástico, cilíndricas, com um anel de borracha de ajuste entre a porção final do cilindro e a lâmina de vidro para evitar vazamento do material líquido).

Foram pipetados 0,2 mL da suspensão da amostra, imediatamente após a realização da homogeneização, para dentro da câmara de assentamento.

Deixou-se em repouso para sedimentação por 10 minutos, tempo ideal para que as células se depositassem sobre a superfície das lâminas recobertas com a solução catiônica e desprezou-se o excesso da suspensão não aderidas às lâminas na câmara de assentamento, por inversão da mesma e do suporte de metal.

As câmaras foram então enxaguadas com 0,5 mL de álcool etílico absoluto ou a 96%, por 2 vezes consecutivas e as lâminas foram deixadas para secar em temperatura ambiente *over night*, em local livre de poeira. Após essa etapa as lâminas estavam prontas para serem coradas e montadas para leitura ou *screening*.



FIGURA 7: Centrífuga especial AutoCyte

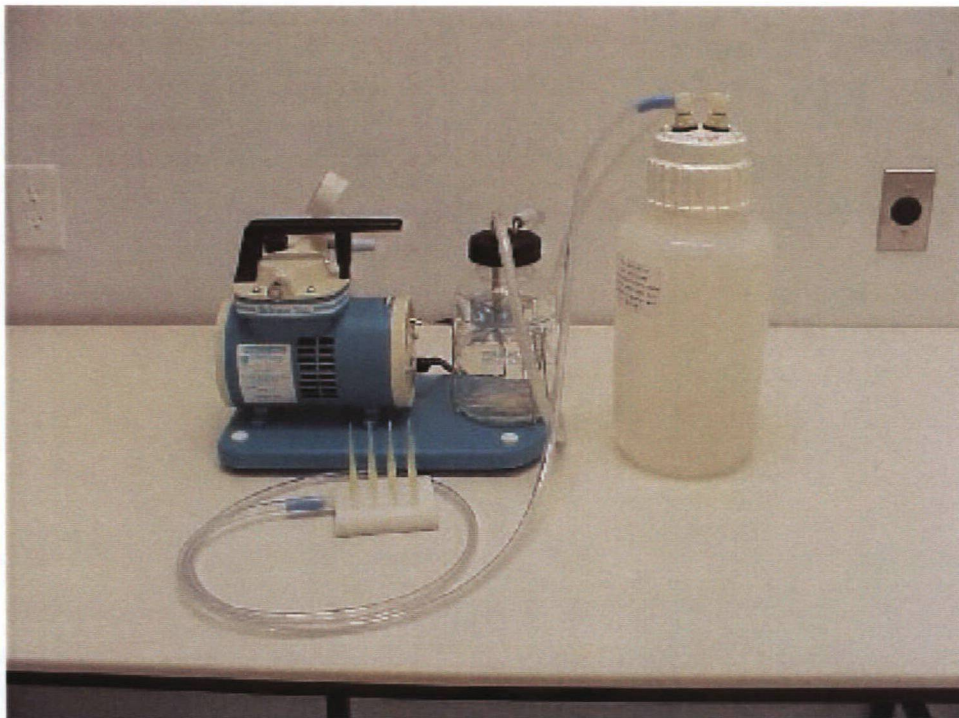


FIGURA 8: Bomba de vacío

### **4.3.3 Verificação da adequação das amostras na Metodologia de Base Líquida**

A caracterização da amostra como adequada na citologia de monocamada difere em alguns pontos do método convencional, segundo o Bethesda System (2001), principalmente pela forma como o esfregaço é realizado, ou seja, pela distribuição homogênea e randômica, garantindo uma representatividade maior e melhor definida, bem como, o conhecimento da área do círculo formado, que possui um diâmetro de 13 mm. As orientações descritas abaixo são as recomendadas:

- presença de no mínimo 5.000 células do epitélio estratificado pavimentoso (epitélio escamoso) bem preservadas e bem visualizadas, em cada lâmina confeccionada e observada, não podendo esses valores serem acumulativos, quando da preparação de duas ou mais lâminas;
- presença de no mínimo 10 células endocervicais ou metaplásicas bem preservadas, não importando se isoladas ou agrupadas.

### **4.3.4 Mecanismos de contagem de células para o Método de Base Líquida**

A estimativa da celularidade no esfregaço de base líquida difere da convencional, pelo fato do primeiro possuir o diâmetro a ser examinado conhecido (13 mm) e camada celular única, não havendo superposição das células. O Bethesda System (2001) preconiza uma contagem de células para essas lâminas, fundamentada no número mínimo de células por campo examinado, necessário para se ter em torno de 5.000 células no total, ou seja, em todo o esfregaço. Devem ser contados pelo menos 10 campos microscópicos ao longo do diâmetro do círculo, de forma linear, passando obrigatoriamente pelo centro da preparação (Figura 9). Aglomerados compostos por muitas células, devem ser desprezados, não sendo contados, assim também como células endocervicais e neutrófilos, sendo computadas na contagem apenas as células epiteliais escamosas (BETHESDA, 2001).

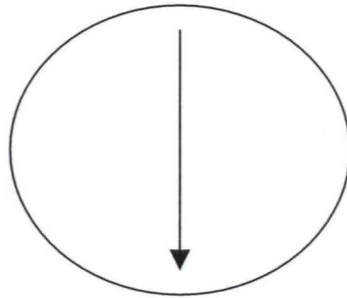


FIGURA 9: Mecanismo de contagem de células para o método de base líquida.

Esse mecanismo de contagem foi utilizado no presente estudo, onde sua execução seguiu rigorosamente a proposição acima e utilizando como equipamento, microscópio óptico. A medida do diâmetro da ocular foi igual a 20 mm (FN) e a objetiva utilizada foi a de 40X. O desenvolvimento dos cálculos seguiu as fórmulas propostas pelo Bethesda, sendo descritas a seguir:

**a) Número médio mínimo de células por campo examinado, necessários para se ter 5.000 células no esfregaço:**

$$\text{N}^{\circ} \text{ células requeridas por campo} = 5.000 / (\text{área do círculo} / \text{área do campo})$$

b) Cálculo do diâmetro do campo microscópico em milímetros (mm):

$$\text{Diâmetro do campo microscópico (mm)} = \text{FN} / \text{valor da objetiva}$$

Onde:

$$\text{FN} = \text{medida do diâmetro da ocular do microscópio utilizado (mm)}$$

c) Cálculo da área de um círculo:

$$A = \pi \times r^2 \quad \text{onde:} \quad \pi = 3,1416 \quad \text{e} \quad r = \text{raio}$$

d) Cálculo dos valores para o microscópio utilizado em nosso estudo:

d.1.) Cálculo do diâmetro do campo microscópico (mm):

$$\text{FN} = 20$$

$$\text{Objetiva utilizada} = 40X$$

$$\text{Diâmetro do campo (D)} = 20 / 40 = 0,5 \quad \text{onde:} \quad D = 0,5 \text{ mm}$$

**d.2. Cálculo da área do campo microscópico:**

$$D = 0,5 \text{ mm} \quad \text{onde: } r = D / 2 \quad r = 0,5 / 2 \quad \text{onde: } r = 0,25 \text{ mm}$$

$$A = 3,1416 \times (0,25)^2 \quad \text{onde: } A = 0,1963 \text{ mm}^2$$

**d.3. Cálculo da área do círculo do esfregaço:**

$$\text{Diâmetro do círculo} = 13 \text{ mm} \quad \text{onde: } r = D / 2 \quad \text{então:}$$

$$r = 13 / 2 = 6,5 \text{ mm} \quad A = 3,1416 \times (6,5)^2 \quad A = 132,73 \text{ mm}^2$$

**d.4. Cálculo do número de células requeridas por campo:**

$$\text{N}^\circ \text{ de células por campo (CC)} = 5.000 / (132,73 / 0,1963) \quad \text{CC} = 5.000 / 676,15$$

**CC = 7,4 células por campo microscópico**

**d.5. Cálculo do número de células em todo o esfregaço (13 mm):**

**$N^{\circ}$  de células = (Área do círculo x ( $N^{\circ}$  médio células por campo) / Área do campo)**

**4.3.5 Método de leitura das lâminas pela Metodologia de Monocamada:**

O “screening” das lâminas foi realizado de forma dupla e em direções opostas (de cima para baixo e da direita para a esquerda), obedecendo ao critério para cada avanço de campo microscópico, onde a parte final do campo anterior seja observada para que não fique nenhum campo sem ser examinado (Figura 10).

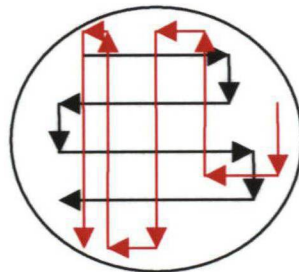


Figura 10: Mecanismo de leitura das lâminas. Método de monocamada

#### 4.4 Método de coloração das lâminas

Em todas as amostras, a coloração utilizada foi a de Papanicolaou, a qual é universalmente usada em citologia cérvico-vaginal e possui basicamente 3 corantes: a Hematoxilina de Harris, o Orange G e o EA-36, onde o primeiro atua em meio aquoso e os dois últimos em meio alcoólico.

##### 4.4.1 Procedimento e técnica de coloração

- Álcool Etílico	1 minuto
- Água deionizada	1 minuto
- Hematoxilina de Harris	1 minuto
- Álcool Acidificado (solução HCl 1% em álcool etílico 95%)	1 minuto
- Água corrente	5 minutos
- Álcool etílico a 70%	1 minuto
- Álcool etílico a 95%	1 minuto
- Álcool etílico absoluto	1 minuto
- Orange G	2 minutos
- Álcool etílico absoluto	1 minuto
- EA – 36	1 minuto
- Álcool etílico a 95%	1 minuto
- Álcool absoluto	1 minuto
- Álcool absoluto	1 minuto
- Álcool Absoluto	1 minuto
- Xilol	1 minuto
- Xilol	1 minuto
- Xilol	1 minuto

#### **4.5 Montagem das lâminas**

As lâminas dos grupos avaliados pela metodologia convencional foram montadas sob lamínulas 24 mm X 60 mm, utilizando-se Entellan. Já as lâminas avaliadas pela metodologia de monocamada foram montadas utilizando-se igualmente Entellan, porém sob lamínulas 24 mm X 24 mm.

#### **4.6 Métodos histopatológicos**

As amostras retiradas para estudo histopatológico (biópsia), foram fixadas em solução aquosa de formaldeído e a coloração utilizada foi a de Hematoxilina e Eosina (HE).

A preparação dos cortes histológicos para o estudo microscópico foram feitos com auxílio de micrótomo, utilizando-se o método da inclusão em parafina. Após o corte em micrótomo, foram montados em lâmina de vidro para microscopia. Os cortes foram então desparafinados em xilol quente e sequencialmente passaram por 3 baterias de xilol frio e por 3 baterias de álcool, lavando-se em seguida com água corrente, por aproximadamente 2 minutos. As lâminas foram então submersas em cubas contendo hematoxilina (filtrada antes do uso) por um tempo próximo de 5 minutos, lavando-se novamente com água corrente até que a mesma se tornas-se clara. Foi feita imersão por 3 vezes em solução ácida (álcool ácido – solução alcoólica de HCl a 1% em etanol a 95%), realizando-se em seguida mais uma lavagem em água corrente, com completa remoção da solução ácida. Foi deixado por 30 segundos em solução aquosa de eosina. Após essa fase, os cortes passaram por 3 álcoois, a 50%, 80% e 95%, respectivamente. As lâminas foram montadas com Entellan (bálsamo sintético, marca Roche), contra lamínulas 24 X 60mm.

#### **4.7 Estudo Retrospectivo (amostras do grupo I)**

Foi realizado um estudo retrospectivo de 1.067 amostras de exames citopatológicos cérvico-vaginais, realizados em laboratório da rede privada de saúde na cidade de Curitiba, estado do Paraná, no período de agosto a dezembro de 2001. As pacientes procuraram espontaneamente o serviço para a realização do exame periódico preventivo do câncer uterino. As amostras foram colhidas e processadas pela metodologia convencional de Papanicolaou.

## **4.8 Estudo Prospectivo (amostras do grupo II)**

### **4.8.1 População estudada**

Realizou-se um estudo prospectivo de 150 lâminas obtidas a partir de 100 amostras coletadas de 100 mulheres, que procuraram de forma espontânea o serviço de colpocitologia oncótica para a realização do exame periódico preventivo do câncer cervical. O critério para a escolha das pacientes que participaram do presente estudo foi aleatório (randômico).

### **4.8.2 Coleta das amostras**

As amostras, num total de 100, foram colhidas por um único ginecologista, sendo 50 obtidas pelo método convencional, utilizando-se espátula de Ayre modificada (Figura 2a) e escova endocervical (Figura 2c). As outras 50 amostras foram colhidas diretamente pela metodologia AutoCyte de monocamada ou base líquida, utilizando-se escova do tipo Rovers (Figura 2b).

### **4.8.3 Delimitação dos sub-grupos de amostras**

Para análise, as amostras coletadas foram divididas em 3 grupos, num total de 150 lâminas, definidos da seguinte forma:

#### **4.8.3.1 Amostras do Grupo IIa**

Consistiram de 50 amostras, as quais foram obtidas utilizando-se o sistema de coleta e processamento convencional.

#### **4.8.3.2 Amostras do Grupo IIb**

Composta por 50 amostras que foram obtidas destacando-se as extremidades da espátula de Ayre e da escova endocervical utilizadas para a coleta das amostras IIa, colocadas dentro do frasco com tampa de rosca, contendo líquido preservante para citologia de base líquida ou monocamada. Essas amostras foram então processadas pela metodologia de base líquida ou monocamada.

#### **4.8.3.3 Amostras do Grupo IIc**

Consistiram de 50 amostras coletadas e processadas utilizando-se diretamente a metodologia AutoCyte de base líquida ou monocamada.

### **4.9 Coleta de dados complementares**

Utilizou-se de forma complementar para as amostras dos grupos IIa e IIb, pedido ou requisição de exame que continha os dados relacionados abaixo, os quais foram reportados ao requisitante do exame, no momento prévio à coleta das amostras:

- idade em anos, completados até o dia da coleta do exame;
- grau de escolaridade;
- idade do primeiro coito;
- número de parceiros sexuais;
- tipo de contracepção (quando utilizado)
- gestante ou não;
- presença de corrimento vaginal;
- data da última menstruação;
- colo de útero normal ou patológico;
- realização de exame preventivo anterior;
- história obstétrica;
- terapia de reposição hormonal (TRH);
- outros exames complementares, se realizados (ex. colposcopia, biópsia, etc).

Para todas as demais amostras (grupos I e IIc), foi reportado apenas a idade das mulheres no momento da coleta do material cérvico-vaginal.

#### **4.10 Tratamento estatístico dos dados**

As frequências foram comparadas usando-se o teste do  $\chi^2$  (qui-quadrado) ou teste de contingência, enquanto as médias foram comparadas através do teste  $t$  de Student (PIMENTEL, 1996).

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Estudo Retrospectivo

Esse estudo foi fundamentado em exames citopatológicos cérvico-vaginais realizados em laboratório da rede privada de saúde, compreendido entre os meses de agosto e dezembro de 2001. Os dados levantados compreenderam a idade das pacientes, presença ou não de alterações citológicas como células escamosas atípicas de significado indeterminado – “atypical squamous cells of undetermined significance” (ASCUS), células glandulares atípicas de significado indeterminado – “atypical glandular cells of undetermined significance” (AGUS), lesão intraepitelial escamosa de baixo grau – “low-grade squamous intraepithelial lesion” (LSIL), lesão intraepitelial escamosa de alto grau – “high-grade squamous intraepithelial lesion” (HSIL), reações inflamatórias e a presença dos principais agentes etiológicos causadores de vaginites e vaginoses, como *Candida spp*, *Gardnerella vaginalis* e papilomavírus humano (HPV).

Os dados acima referidos serviram como subsídio para caracterização da população estudada e melhor compreensão dos achados observados, levando em consideração que, fatores de riscos já anteriormente citados são fatores de predisposição para neoplasia cervical.

#### 5.1.1 Perfil etário da população estudada

Nos 1.067 exames citopatológicos cérvico-vaginais revistos, observou-se que a idade média das mulheres que realizaram os exames foi de 34,7 anos, sendo a idade mínima de 15 anos e a idade máxima de 77 anos. Ainda com relação à idade das mulheres, foram determinados 7 grupos distribuídos da seguinte forma: 15 a 20 anos (grupo A), 21 a 30 anos (grupo B), 31 a 40 anos (grupo C), 41 a 50 anos (grupo D), 51 a 60 anos (grupo E), mais de 60 anos (grupo F) e idade não informada (grupo G). A análise desses grupos serviu para determinar o número de exames realizados por idade, para verificação do perfil da faixa etária de maior incidência dos exames, das alterações citológicas e da presença de agentes etiológicos, também relacionados com idade das mesmas (TABELA 1). Os grupos etários

prevalentes foram o B e o C, compreendendo mulheres entre 21 e 40 anos, o que representa 58% da amostragem (FIGURA 11).

GRUPOS	IDADE EM ANOS	NÚMERO DE EXAMES
Grupo A	15 a 20	98
Grupo B	21 a 30	326
Grupo C	31 a 40	290
Grupo D	41 a 50	176
Grupo E	51 a 60	111
Grupo F	Acima de 60	8
Grupo G	Idade não informada	58

TABELA 1: Número de exames por grupo etário das mulheres. Valores absolutos

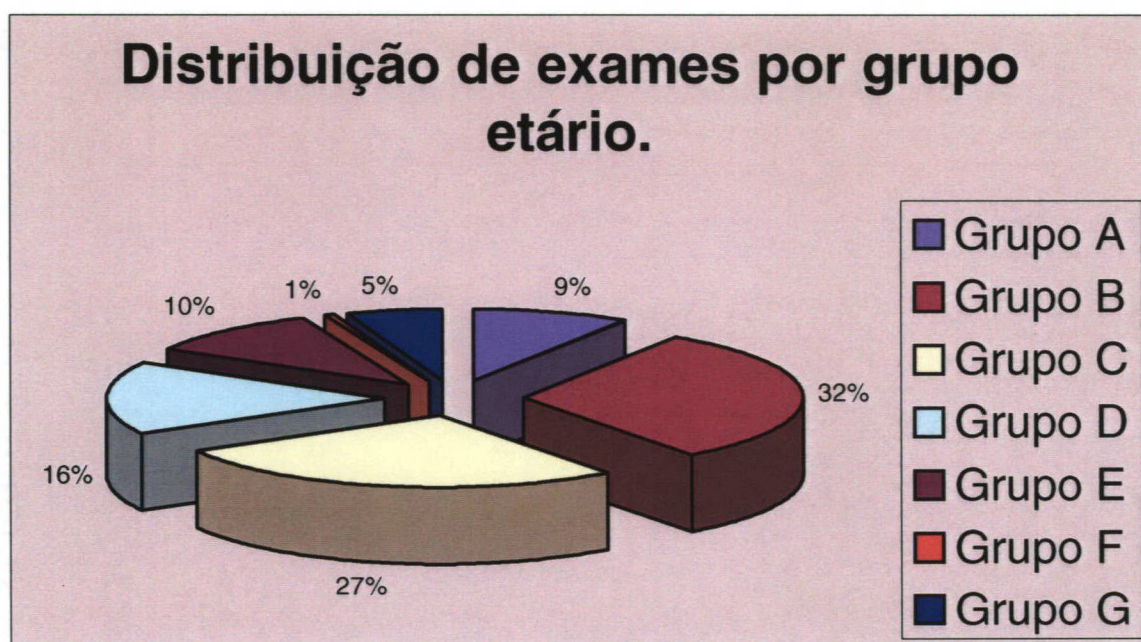


FIGURA 11: Número de exames realizados pelo grupo etário de mulheres. Valores percentuais

## **5.1.2 Agentes etiológicos detectados**

### **5.1.2.1 Papilomavírus humano (HPV)**

As principais alterações citopáticas sugestivas de infecção pelo papilomavírus humano (HPV) rastreada neste estudo foram a coilocitose (FIGURA 12) e a disqueratose (FIGURA 13).

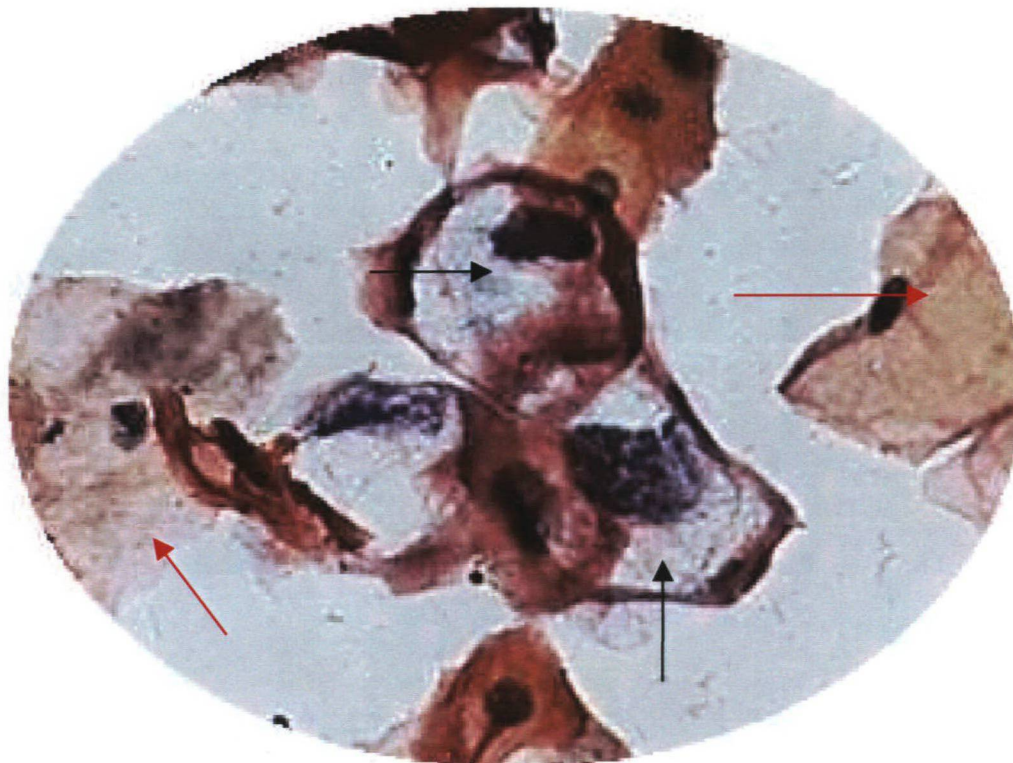


FIGURA 12: Efeito citopático causado pelo HPV. Coilocitose. (Halo perinuclear - setas pretas. Comparar com células normais - setas vermelhas. Método convencional. Coloração Papanicolaou. Aumento 400X)

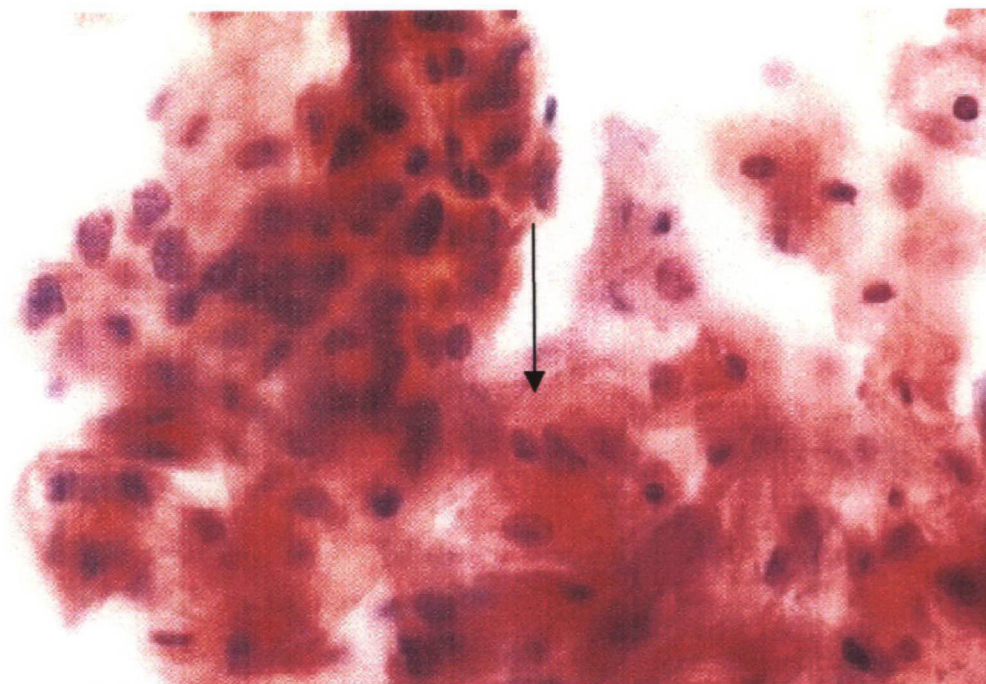


FIGURA 13: Efeito citopático causado pelo HPV. Disqueratose. (Coloração de Papanicolaou - 100X)

No estudo realizado foram encontrados um total de 5 mulheres com os efeitos citopáticos de infecção por HPV (0,5%), sendo 1 caso (20%) encontrado no grupo A, 3 casos (60%) no grupo B e 1 caso (20%) no grupo C. Conforme recomendação do SBT, todas essas mulheres foram classificadas como LSIL (TABELA 2).

FAIXA ETÁRIA	Nº CASOS	QUADROS CITOLÓGICOS		
		DISQUERATOSE	COILOCITOSE	LSIL
15 – 20	01 - (20%)	+	+	+
21 – 30	03 – (60%)	+	+	+
31 – 40	01 – (20%)	+	+	+

TABELA 2: Incidência de HPV por grupo etário e seus efeitos citopáticos.

### 5.1.2.2 Candida spp

Os achados para evidenciar *Candida spp* nos esfregaços cérvico-vaginais, foram a presença de pseudofilamentos micelianos com brotamentos, junto a aglomerados de células epiteliais ou mesmo isolados (Figura 15). Dos 1.067 esfregaços analisados, foram encontrados um total de 41 mulheres (3,48%) com esse achado. Dessas 41mulheres, 5 (12,2%) encontraram-se no grupo A, 12 (29,2%) no grupo B, 12 (29,2%) no grupo C, 4 (9,7%) no grupo D, 2 (4,9%) no grupo E e 6 (14,6%) no grupo G (FIGURA 14).

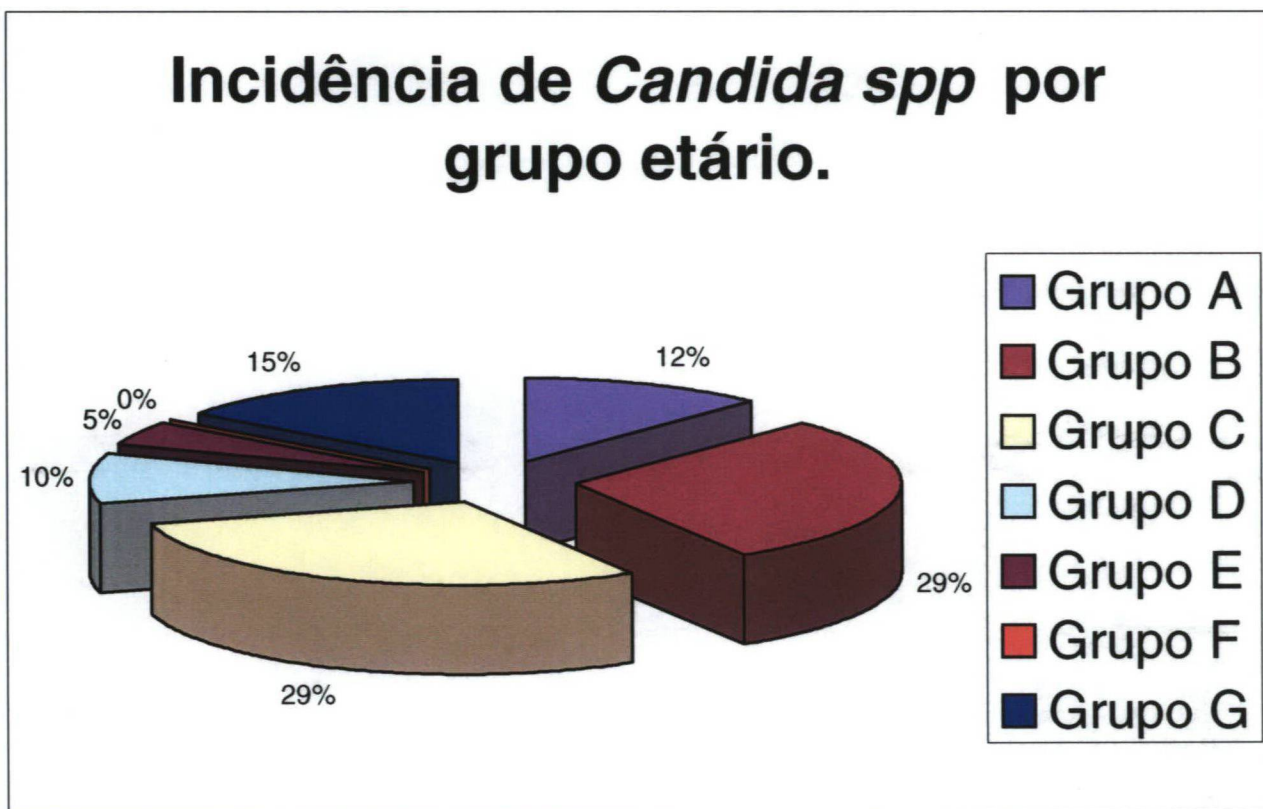


FIGURA 14: Incidência de *Candida spp* por grupo etário. Valores percentuais

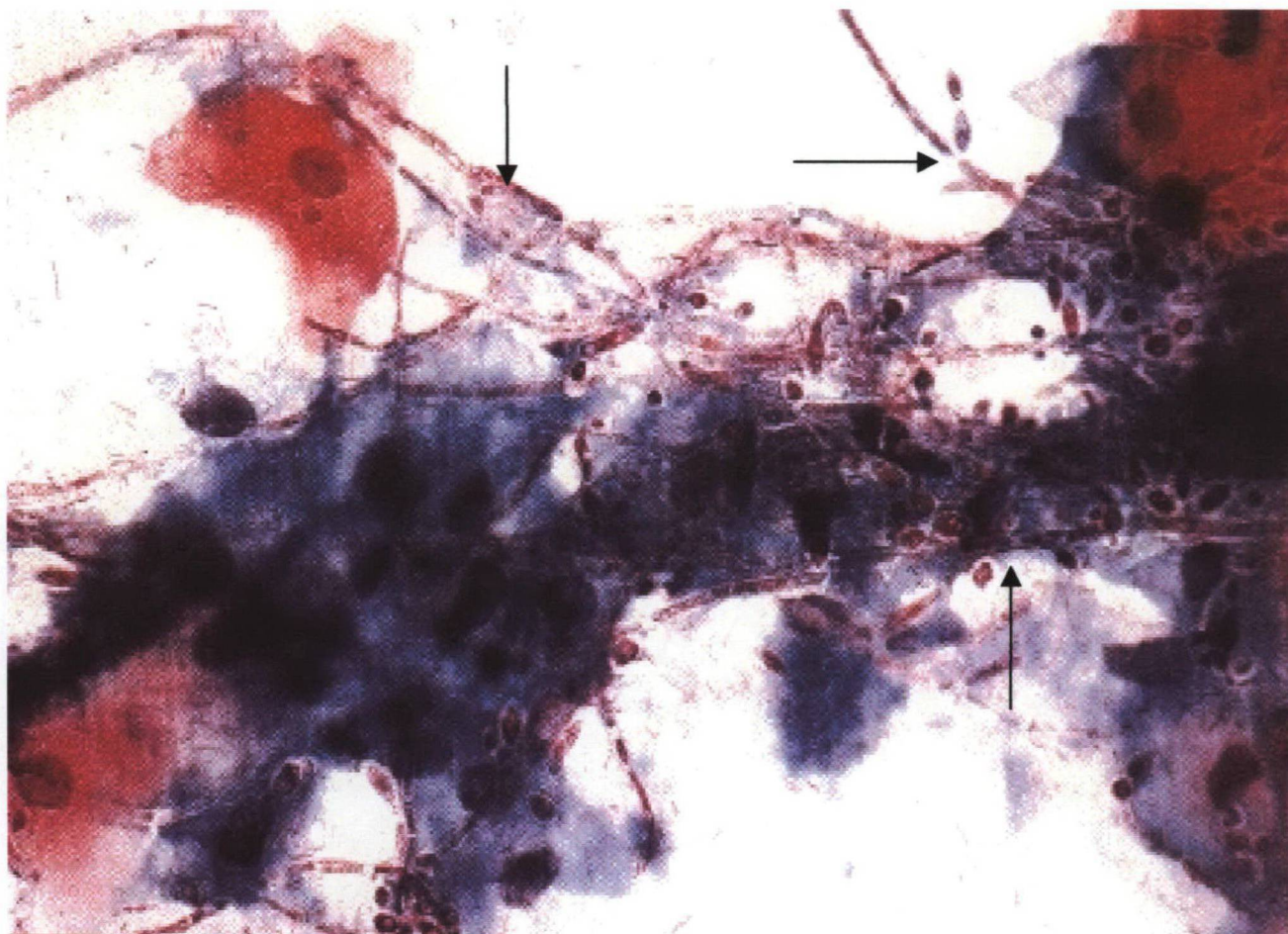


FIGURA 15: Microfotografia de *Cândida spp.* (Pseudomicélios com brotamentos - setas. Esfregaço cérvico-vaginal. Coloração de Papanicolaou - 400X)

### **5.1.2.3 Gardnerella vaginalis**

O diagnóstico para *Gardnerella vaginalis* foi determinado pela presença de cocobacilos de coloração cinza, azulada ou cinza-azulada aderidos a células epiteliais escamosas, recobrando parcial ou totalmente as mesmas, dando um aspecto característico, o qual é denominado de células indicadoras - “clue cells” (FIGURA 16).

Foram encontradas 158 mulheres (14,81%) nos exames citopatológicos revisados com resultado positivo para *Gardnerella vaginalis*, onde 19 (12,03%) estavam no grupo A, 44 (27,84%) no grupo B, 49 (32,02%) no grupo C, 26 (16,46%) no grupo D, 9 (5,70%) no grupo E e 11 (6,96%) no grupo G (FIGURA 17).

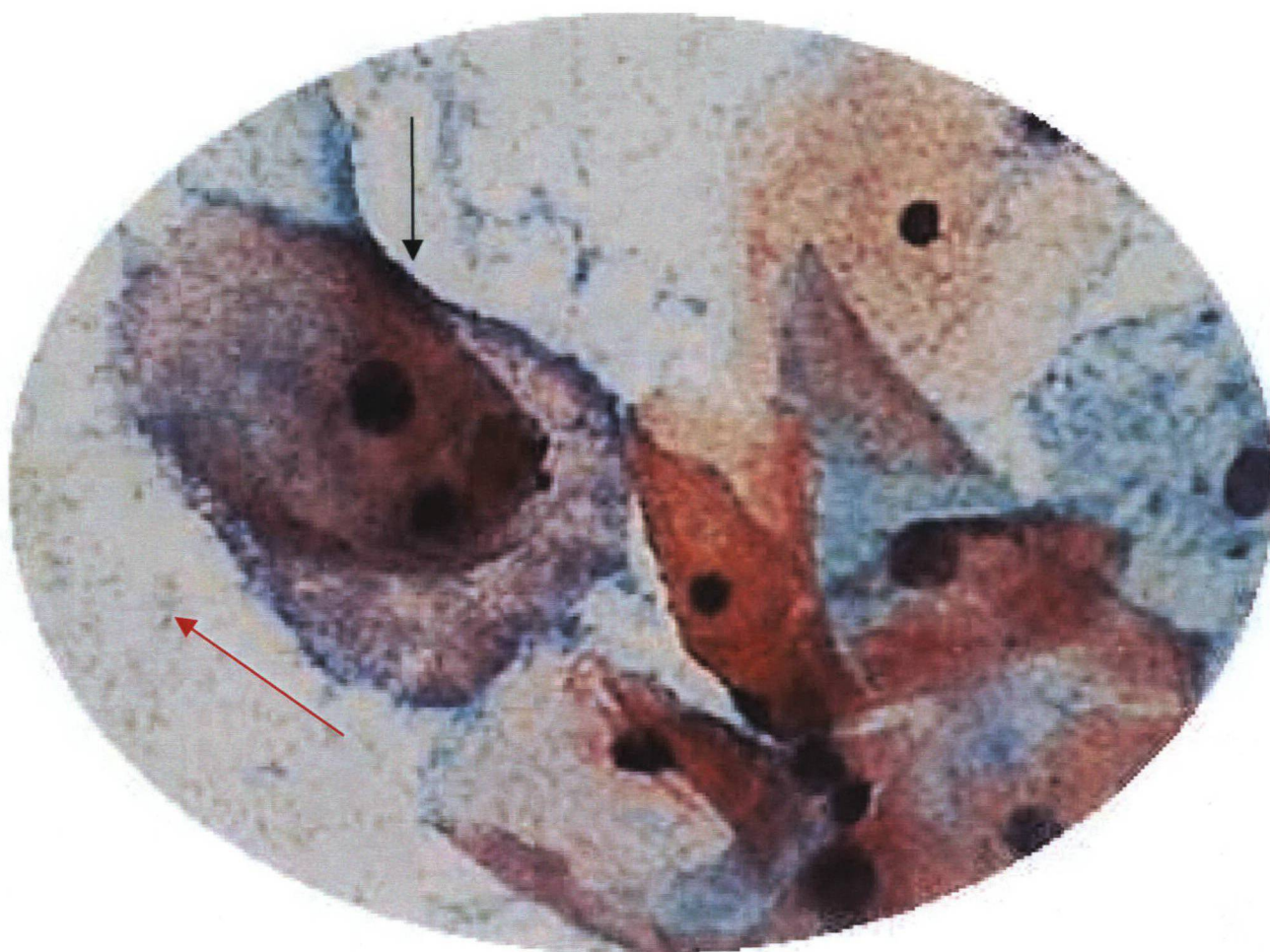


FIGURA 16: Microfotografia de *Gardnerella vaginalis*. ("Clue cells" - seta preta. Fundo com aspecto de poeira cinza-azulada - seta vermelha. Esfregaço cérvico-vaginal. Método convencional. Coloração de Papanicolaou - 400X)

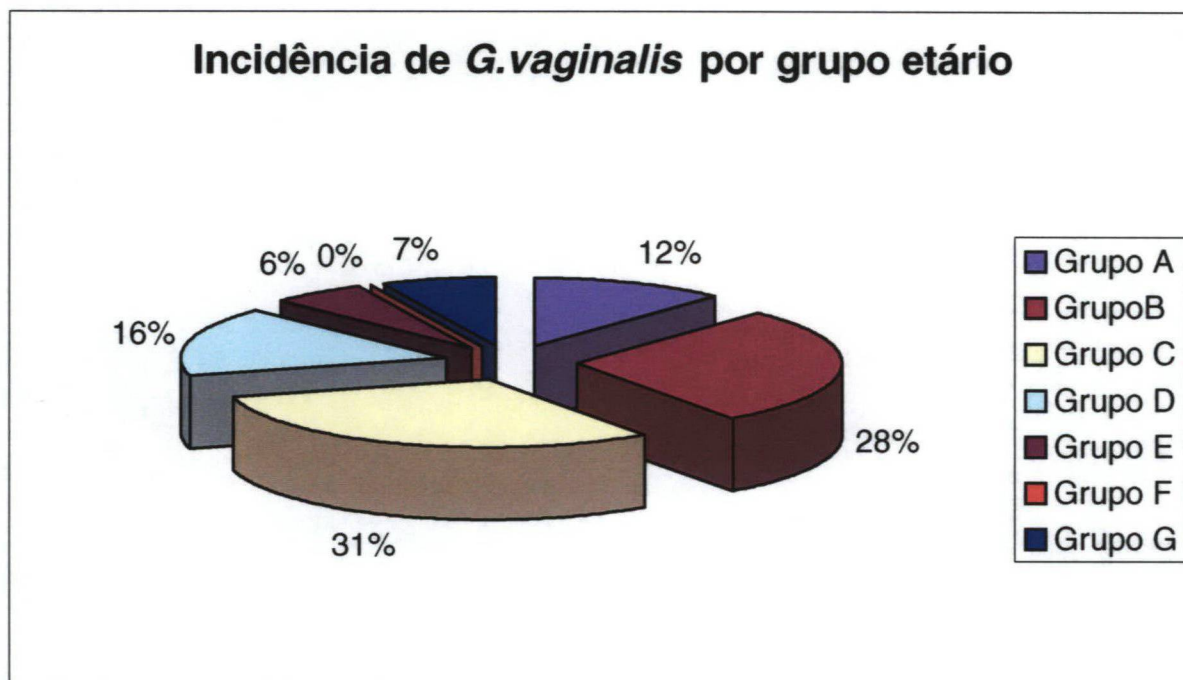


FIGURA 17: *G. vaginalis*: número de casos positivos por grupo etário. Valores percentuais

### 5.1.3 Achados citológicos

#### 5.1.3.1 ASCUS

Foram utilizados como critérios para classificação ASCUS, segundo KURMAN e SOLOMON (1994), aumento nuclear de duas a três vezes o tamanho do núcleo de uma célula intermediária normal (discreta elevação da relação N/C), discreta hiper cromasia, porém com distribuição homogênea da cromatina, podendo estar presentes, pequena variação da forma nuclear e binucleação (FIGURAS 18 e 19). A incidência de ASCUS encontrada neste estudo retrospectivo foi de 29 casos (2,71%) das 1.067 amostras examinadas. Desses 29 casos, 2 (6,9%) estavam no grupo A, 10 (34,6%) no grupo B, 14 (48,2%) no grupo C, 1 (3,4%) no grupo D e 2 (6,9%) no grupo E (FIGURA 20).

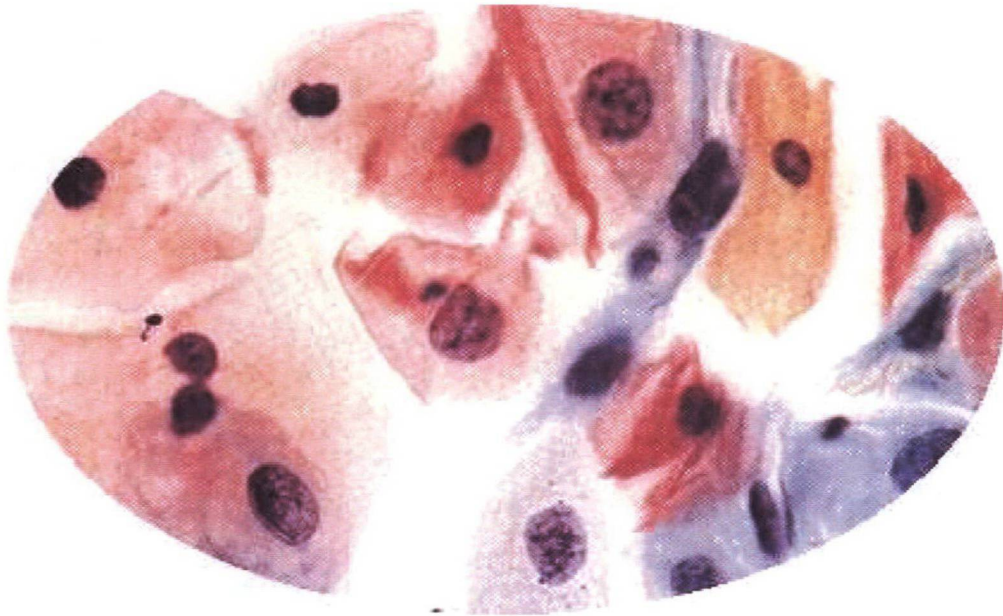


FIGURA 18: ASCUS. Aspectos morfológicos I. (Cariomegalia e hiperchromasia discreta. Método convencional. Coloração de Papanicolaou. Aumento 400X)

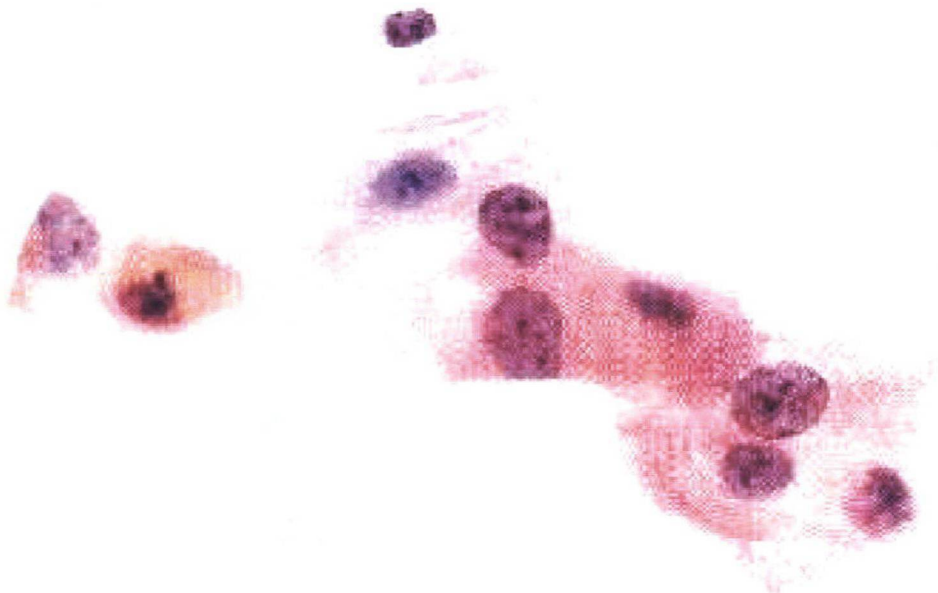


FIGURA 19: ASCUS. Aspectos morfológicos II. (Método convencional. Coloração de Papanicolaou. Aumento 400X)

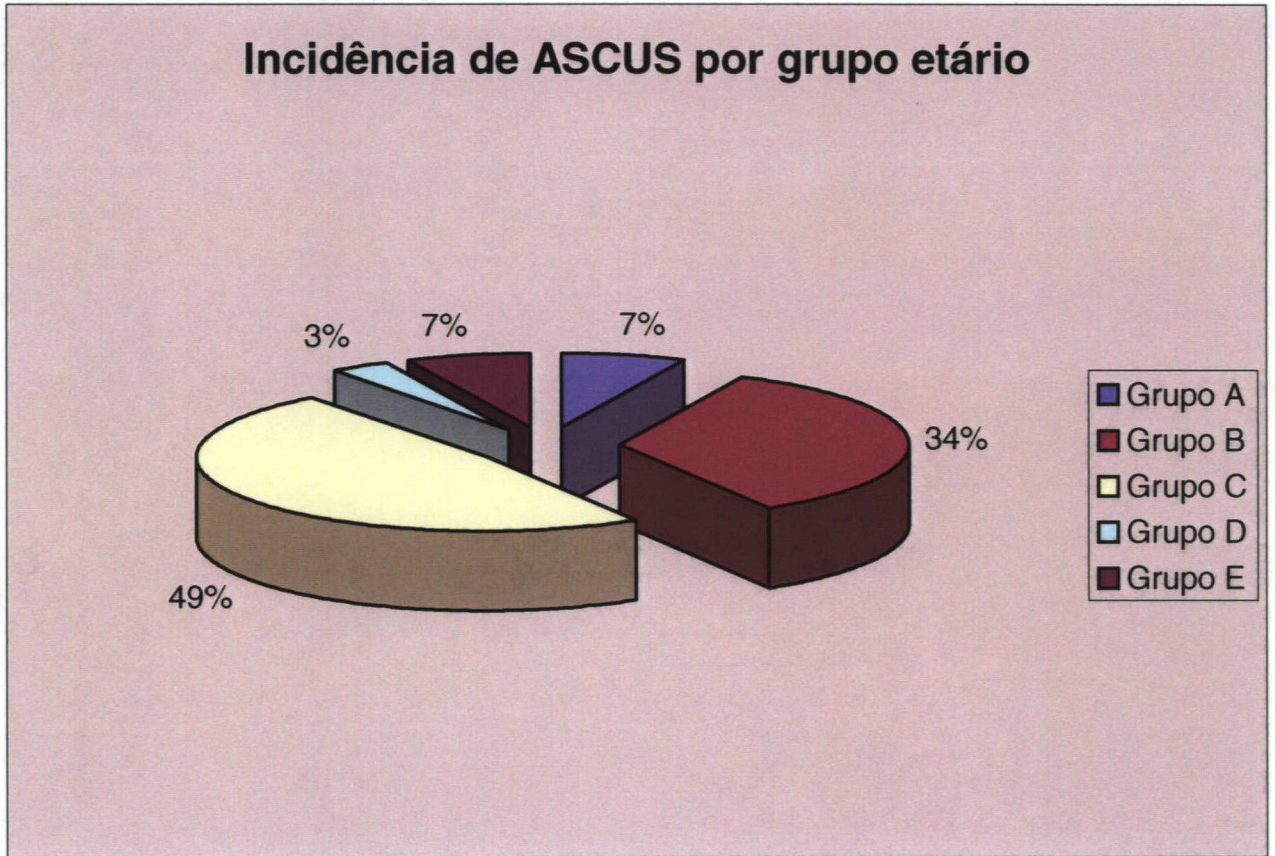


FIGURA 20: ASCUS. Número de casos por grupo etário. Valores percentuais

### **5.1.3.2 Lesões intraepiteliais escamosas (SIL)**

A pesquisa da presença dessas lesões pré-neoplásicas nas amostras examinadas, detectou 13 mulheres (1,22%) com essa entidade, sendo a distribuição por grupo etário de 1 caso (7,6%) no grupo A, 9 casos (69,8%) no grupo B, 2 casos (15,2%) no grupo C e 1 caso (7,6%) no grupo D. Não foram observados casos nas faixas etárias superiores (TABELA 3).

As 13 SIL relatadas foram então distribuídas de acordo com a classificação em LSIL e HSIL.

#### **5.1.3.2.1 LSIL**

Os critérios de classificação ou enquadramento para LSIL foram o aumento do diâmetro nuclear acima de 3 vezes o tamanho do núcleo de uma célula intermediária normal; hipercromasia nuclear de discreta a acentuada, com cromatina distribuída uniformemente, podendo estar ligeiramente degenerada e variação ou irregularidade do contorno nuclear em células epiteliais escamosas superficiais e intermediárias (FIGURA 21).

Houve um total de 10 casos (76,9%) de todas as SIL, sendo a incidência por faixa etária de 1 caso (10%) no grupo A, 8 casos (80%) no grupo B e 1 caso (10%) no grupo C. Nenhum caso foi observado nos grupos D, E, F e G (TABELA 3).

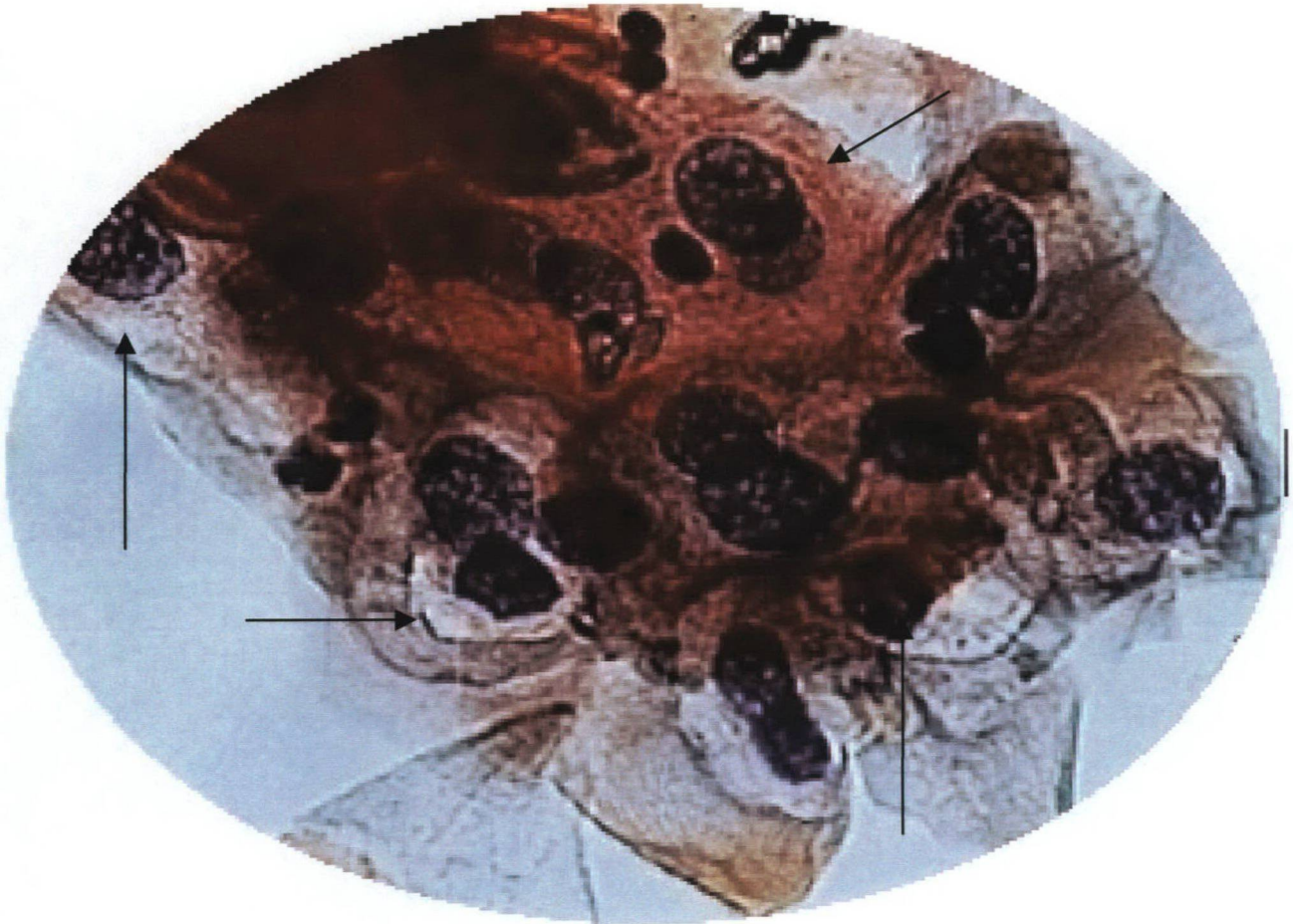


FIGURA 21: LSIL. Aspectos morfológicos celulares.(Notar cariomegalia e hiperchromasia nuclear em células escamosas intermediárias (setas). Método convencional. Coloração de Papanicolaou. Aumento 400X)

### 5.1.3.2.2 HSIL

Utilizando-se ainda os critérios estabelecidos segundo KURMAN e SOLOMON (1994) para HSIL, onde as alterações citológicas encontradas foram células isoladas ou agrupadas em sincícios; alterações nucleares presentes principalmente em células basais e parabasais; aumento nuclear semelhante as LSIL, porém com elevadíssima relação núcleo/citoplasmática; hipercromasia nuclear acentuada com distribuição cromatínica irregular ou heterogênea; contorno nuclear irregular ou anisomorfismo (FIGURA 22).

Analizando-se a incidência dessas lesões entre as SIL, observou-se um total de 3 casos (23,1%) das SIL e quando comparados ainda de acordo com os grupos etários, a distribuição foi de 1 caso (33,3%) no grupo B, 1 caso (33,3%) no grupo C e 1 caso (33,3%) no grupo D (TABELA 3). Nos outros grupos etários não houve incidência dessas lesões.

		Grupos etários				Total	
		Grupo A 15 a 20	Grupo B 21 a 30	Grupo C 31 a 40	Grupo D 41 a 50		
SIL	LSIL	1 (10%)	8 (80%)	1 (10%)	-	0  76,9%)	13 1,22%
	HSIL	-	1 (33,3%)	1 (33,3%)	1 (33,3%)	23,1%)	

TABELA 3: Incidência de SIL por grupo etário.

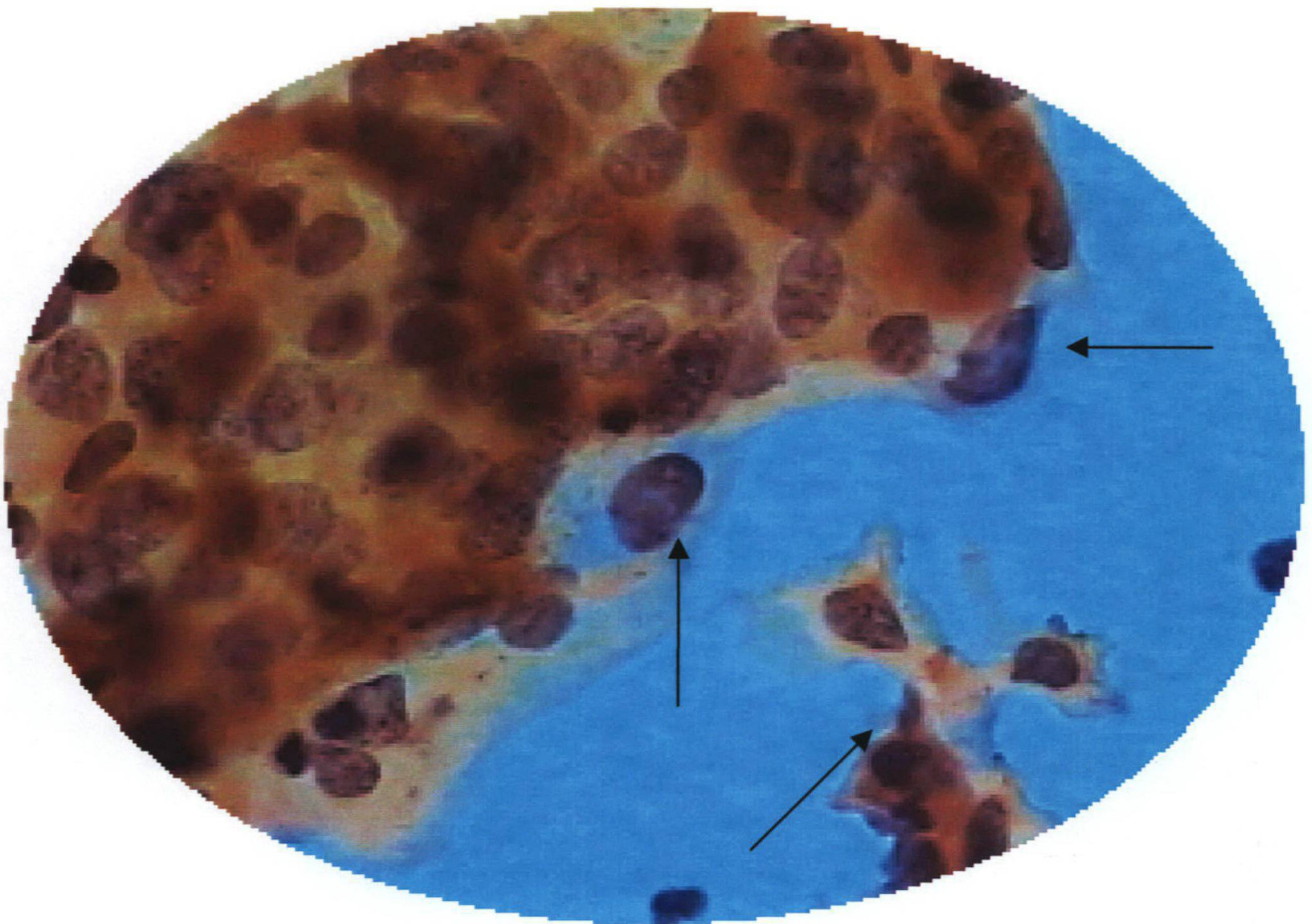


FIGURA 22: HSIL. Aspectos morfológicos celulares. (Observar elevada relação N/C e acentuada hiperchromasia em células imaturas (setas). Método de Papanicolaou. Aumento 400X)

## **5.2 Estudo Prospectivo**

Esse estudo baseou-se em 100 amostras colhidas de 100 mulheres, sendo 50 colhidas pelo método convencional (grupos IIa e IIb) e 50 colhidas diretamente pelo sistema de monocamada (grupo IIc). Das 50 amostras colhidas pelo método convencional, foram confeccionadas 100 lâminas, divididas em dois grupos: o primeiro constou de 50 lâminas com o esfregaço preparado diretamente sobre lâminas de vidro e processadas da forma convencional (amostras IIa) e o segundo foi formado pelas 50 lâminas preparadas a partir da separação das extremidades da espátula de Ayre e escova endocervical, após a coleta convencional, que foram colocadas em frasco contendo líquido preservante AutoCyte. Estas lâminas foram processadas e analisadas pelo sistema AutoCyte de base líquida (amostras IIb).

### **5.2.1 Perfil da população em estudo**

Preliminarmente foram relacionados nesse trabalho dados complementares obtidos na anamnese das pacientes, considerados de suma importância para definição do perfil da população estudada, tendo em vista alguns desses dados serem considerados fatores de risco para o câncer cervical, quando levado em conta à história natural e a epidemiologia da doença. Na composição do resultado do exame citopatológico, a presença ou não de células endocervicais e ou células metaplásicas, foi assinalada.

#### **5.2.1.1 Idade**

Quanto à idade em anos das mulheres estudadas nas amostras IIa e IIb, até a data da realização da coleta para o exame citopatológico, a idade média foi de 35,7 anos, sendo a idade mínima observada de 18 anos e a idade máxima de 68 anos. Essas mulheres foram distribuídas em 7 grupos distintos, de acordo com um intervalo pré-determinado aleatoriamente de 5 anos no primeiro grupo e de 10 anos nos demais grupos, conforme descrito a seguir: de 15 a 20 anos (grupo A), de 21 a 30 anos (grupo B), de 31 a 40 anos (grupo C), de 41 a 50 anos (grupo D), de 51 a 60 anos (grupo E) e mais de 60 anos (grupo F). A incidência foi de 4 mulheres para o grupo A (8%), 16 mulheres para o grupo B (32%), 15 mulheres para o grupo C (30%), 6 mulheres para o grupo D (12%), 8 mulheres para o grupo E (16%), 1 mulher para o grupo F (FIGURA 23).

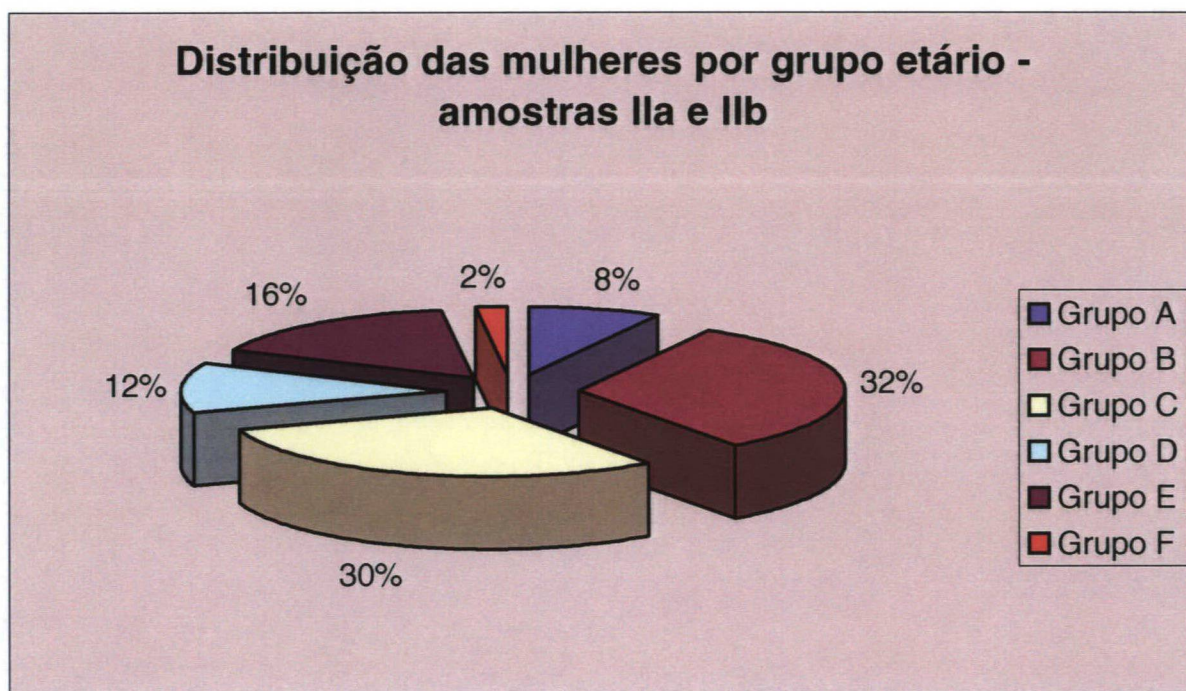


FIGURA 23: Número de mulheres distribuídas por grupo etário. Valores percentuais. Amostras IIa e IIb

Considerando as amostras IIc, a distribuição das idades dessas mulheres também foi feita de acordo com os grupos acima determinados e os resultados encontrados foram semelhantes com 10 mulheres (20%) no grupo A, 15 mulheres (30%) no grupo B, 13 mulheres (26%) no grupo C, 11 mulheres (22%) no grupo D e 1 mulher (2%) no grupo F, sendo que nos grupos E não foi encontrada nenhuma mulher (0%) (FIGURA 24).

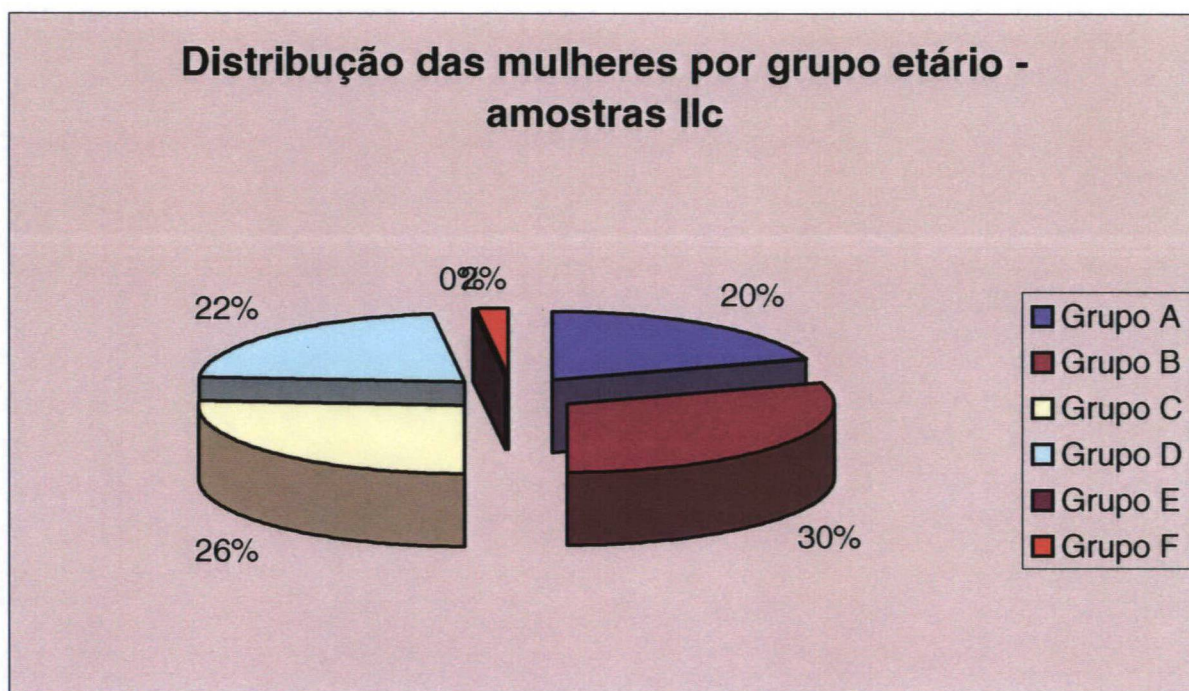


FIGURA 24: Amostras IIc. Número de mulheres distribuídas por grupo etário

Ainda na avaliação da distribuição das idades, foi revelado que o predomínio foi de mulheres com idades entre 21 e 40 anos (grupos B e C), representando 62% nas amostras IIa e IIb (FIGURA 23) e 56% nas amostras IIc (FIGURA 24). O perfil geral das amostras II foi de 59 mulheres (60%) nos grupos etários B e C (Figura 25).

Verificou-se, portanto, um perfil etário semelhante ao encontrado no estudo retrospectivo (amostras I) (TABELA 1 – FIGURA 1).

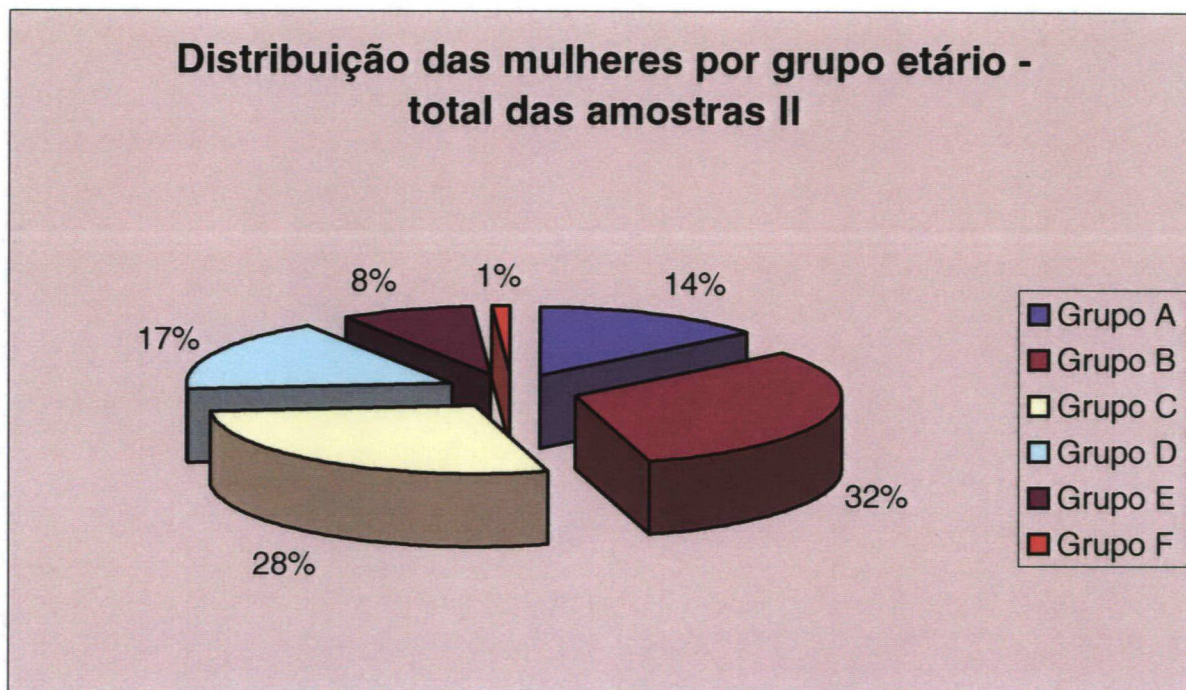


FIGURA 25: Total das amostras II (IIa, IIb, IIc). Distribuição por grupo etário. Valores percentuais

#### 5.2.1.2 Grau de escolaridade

Levando-se em consideração o grau de escolaridade, foi observado que somente 6 das mulheres avaliadas concluíram apenas o ensino fundamental, 22 mulheres (44%) possuíam ensino médio, 21 mulheres (42%) possuíam formação universitária e 1 mulher (2%) não informou o grau de escolaridade (FIGURA 26).

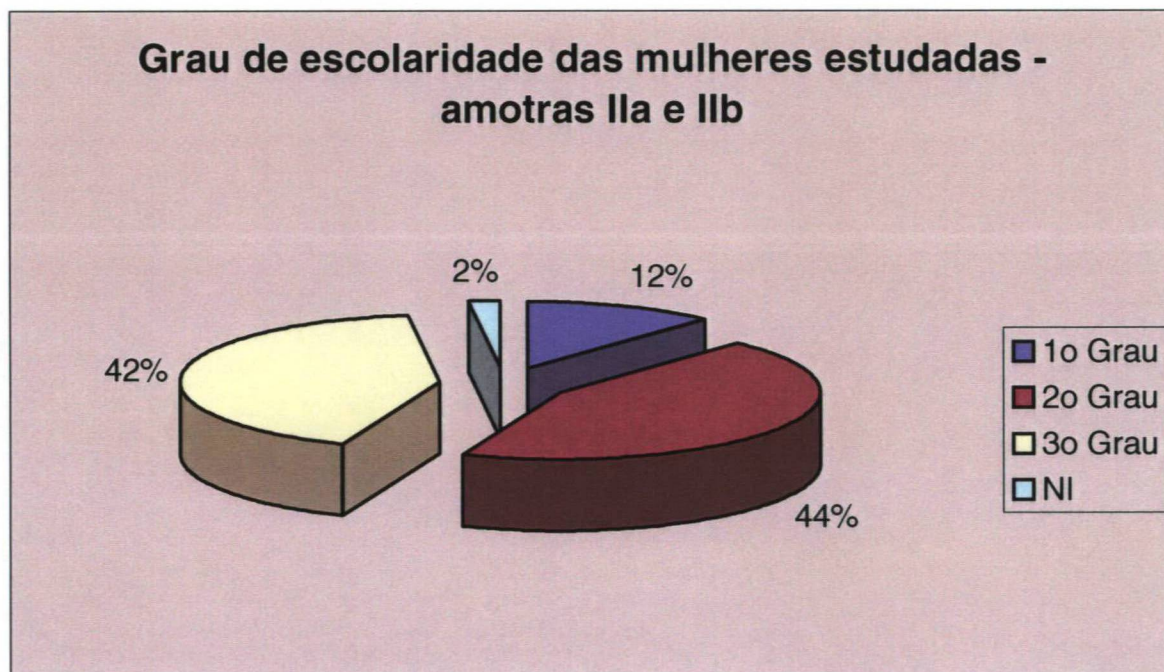


FIGURA 26: Grau de escolaridade. Valores percentuais. (NI = não informado)

### 5.2.1.3 Idade do primeiro coito

Com relação à idade do primeiro coito, a população em estudo foi agrupada de acordo com o seguinte critério: igual ou inferior a 20 anos de idade (grupo A) e superior a 20 anos (grupo B). Nesse parâmetro, 44 mulheres (88%) ficaram no grupo A e apenas 6 mulheres (12%) no grupo B (Figura 27). A menor idade para o primeiro intercuro encontrada foi de 15 anos e a maior de 36 anos, sendo a média 19 anos.

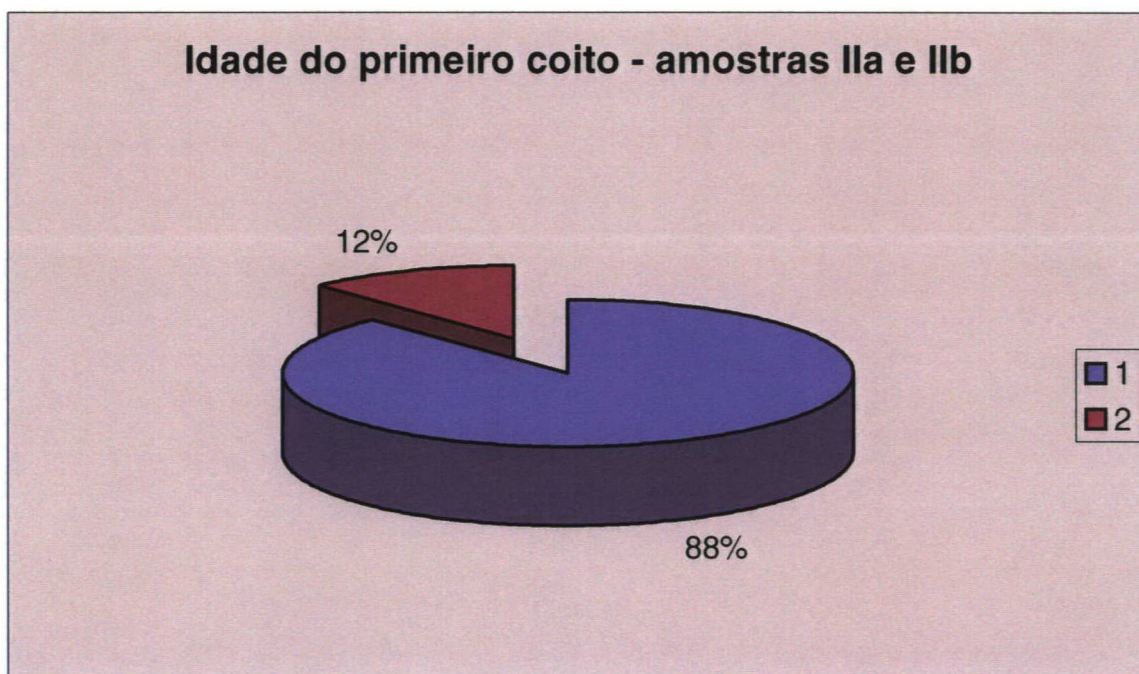


FIGURA 27: Idade do primeiro coito. Amostras IIa e IIb. Valores percentuais. (1 = idade igual ou inferior a 20 anos; 2 = idade superior a 20 anos)

#### 5.2.1.4 Número de parceiros sexuais

Quanto ao número de parceiros sexuais, considerando-se diferentes parceiros sexuais até a data da coleta do exame, foram criados 5 grupos de condensação ou estudo, denominados de grupo I – mulheres com apenas 1 parceiro sexual, grupo II – mulheres com 2 parceiros, grupo III – mulheres com 3 parceiros, grupo IV – mulheres com 4 parceiros e grupo V – mulheres com 5 ou mais parceiros. Demonstrou-se que, das 50 mulheres estudadas, foram encontradas 16 mulheres (32%) no grupo I, 15 mulheres (30%) no grupo II, 10 mulheres (20%) no grupo III, 4 mulheres (8%) no grupo IV e 5 mulheres (10%) no grupo V (FIGURA 28). O maior número de parceiros sexuais encontrados entre essas mulheres foi de 10 (1 caso – 2%), sendo a média de 2,3 parceiros por mulher. Pode-se observar ainda que, 68% das mulheres estudadas possuíam 2 ou mais parceiros sexuais.

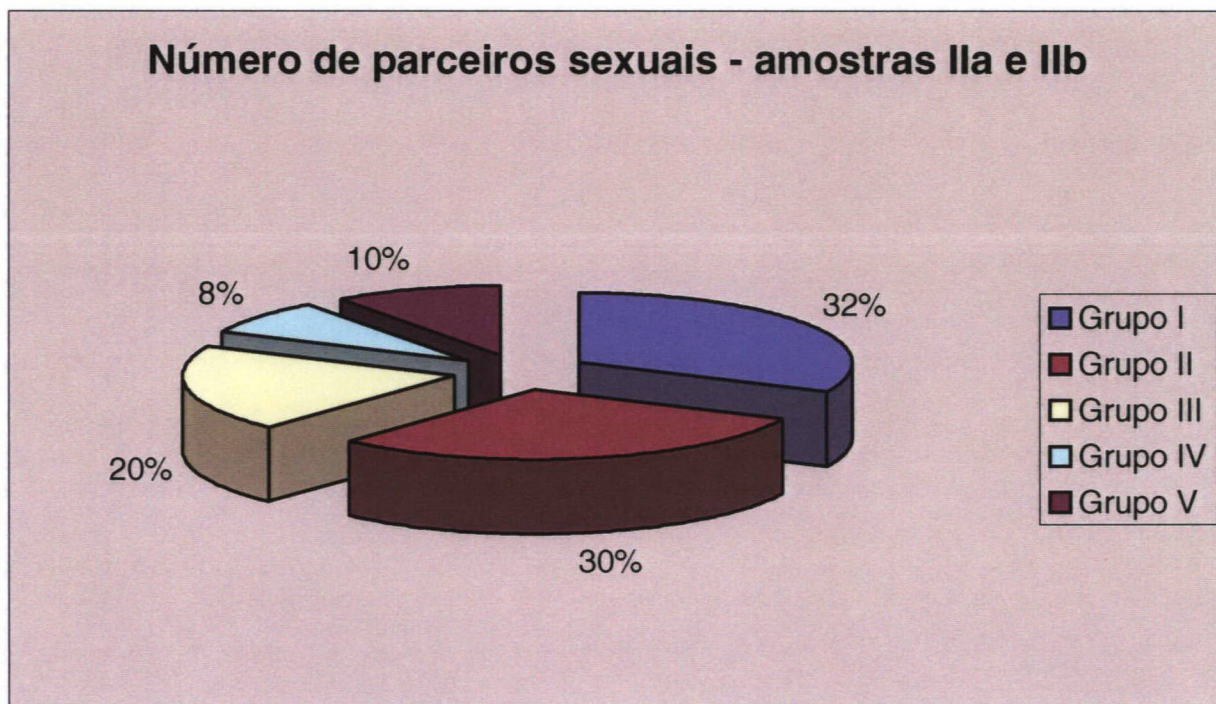


FIGURA 28: Número de parceiros sexuais. Amostras IIa e IIb. (Valores percentuais)

#### 5.2.1.5 Número de gestações

Em relação ao número de gestações até a data da obtenção da amostra, observou-se que a média foi de 1,4 gestações por mulher, considerando que 16 mulheres (34,6%) eram nulíparas (G0), 9 mulheres (18%) tiveram apenas 1 gestação (G1), 11 mulheres (22%) tiveram 2 gestações (G2), 9 mulheres (18%) com 3 gestações (G3), 3 mulheres (6%) com 4 gestações (G4), nenhuma mulher com 4 ou mais gestações (0%) e 2 mulheres (4%) esse dado não foi informado (TABELA 4).

	G0	G1	G2	G3	G4	> G4
No de casos	16	9	11	9	3	0
%	32	18	22	18	6	0

TABELA 4: número de gestações por mulher estudada. Valores absolutos e percentuais

## **5.2.2 Exames colpocitológicos**

### **5.2.2.1 Distribuição e aspectos morfológicos nas amostras**

Comparando-se a distribuição das amostras e os aspectos morfológicos entre as duas metodologias, convencional e de monocamada, no primeiro caso observou-se à distribuição celular heterogênea (FIGURA 29), bem como áreas de elevada densidade celular, onde a morfologia celular se encontrava prejudicada e inadequada (FIGURA 30), caracterizando a necessidade de nova coleta de amostra. Este aspecto gera dificuldades adicionais como resistência muitas vezes dessas mulheres em repetir a coleta, bem como, elevação do custo operacional do exame. No segundo caso verificou-se uma distribuição consistente, regular e homogênea, não havendo nenhuma lâmina com áreas de elevada densidade celular, tampouco esfregaço inadequado pela celularidade (FIGURA 31). Tais resultados demonstraram a superioridade da metodologia de monocamada no que se refere à obtenção de amostras homogêneas ou bem distribuídas, com excelente preservação dos aspectos morfológicos das células em estudo.

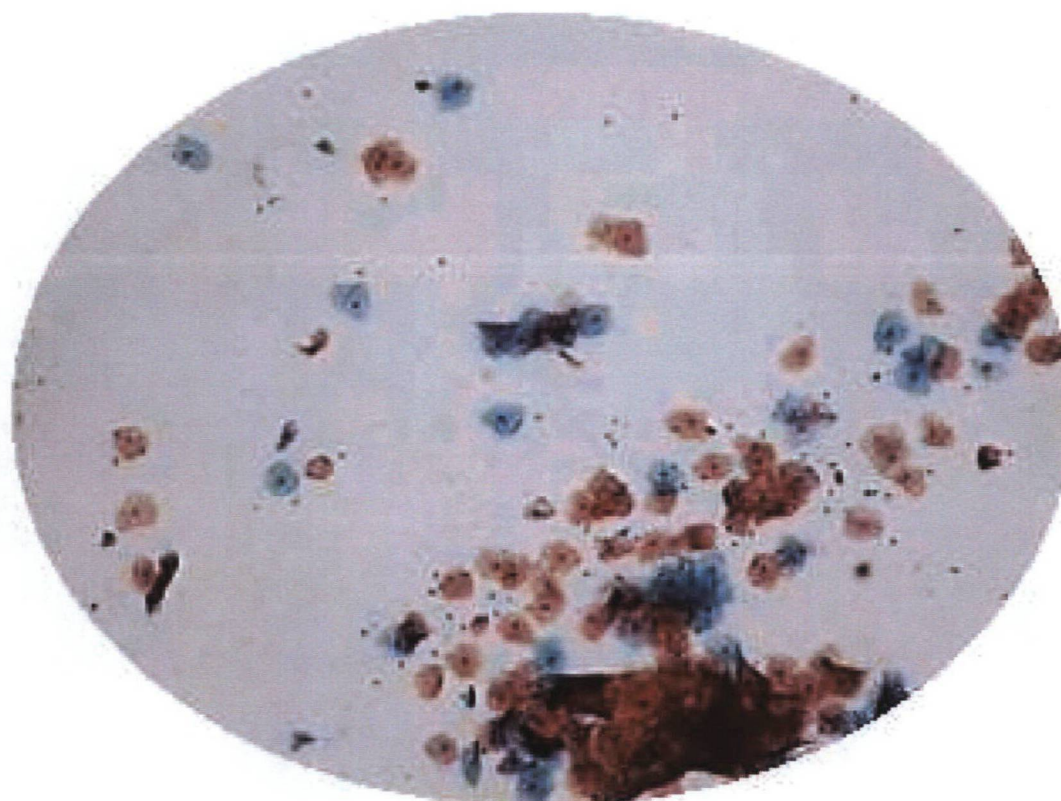


FIGURA 29: Distribuição celular heterogênea. Método Convencional. (40X)

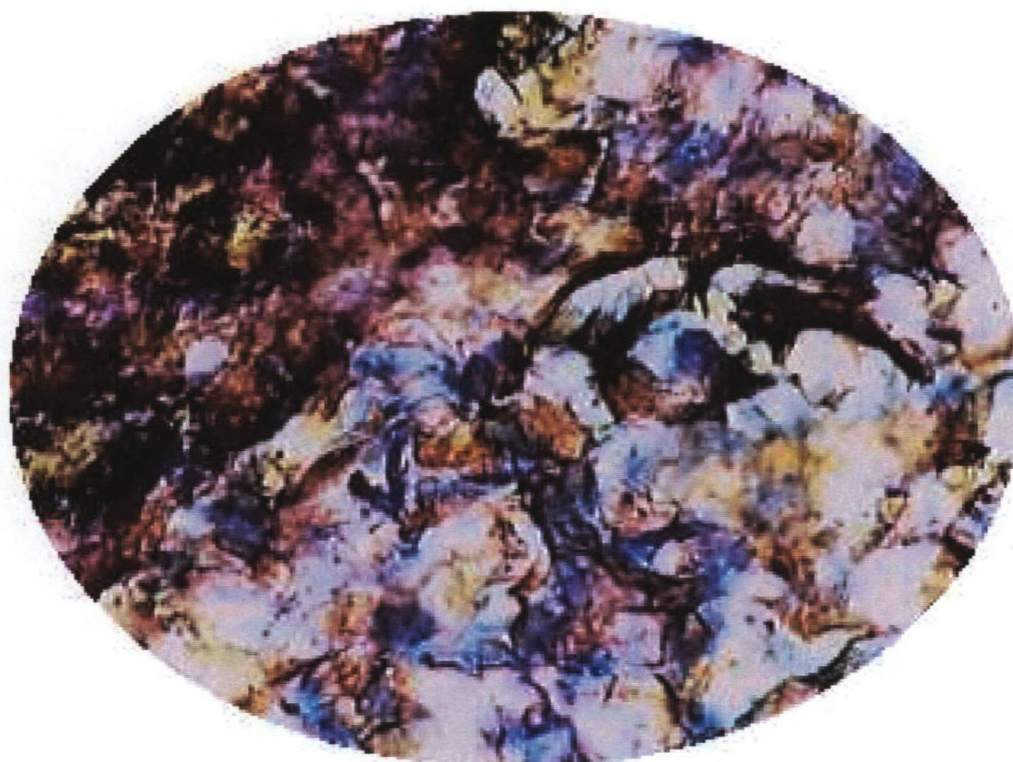
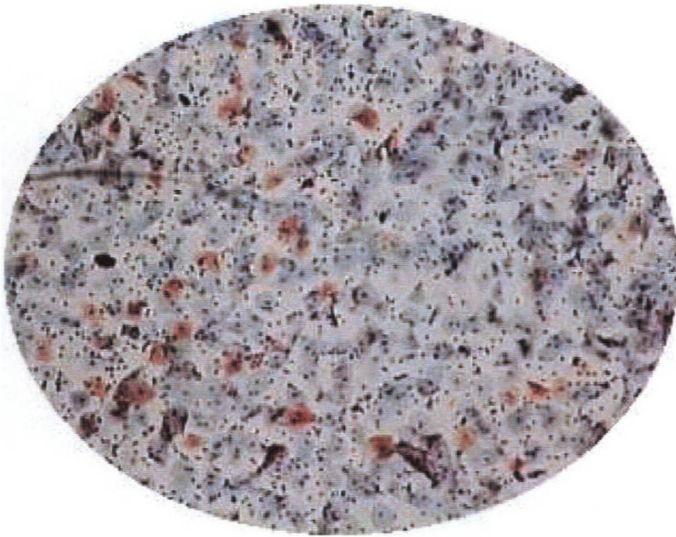


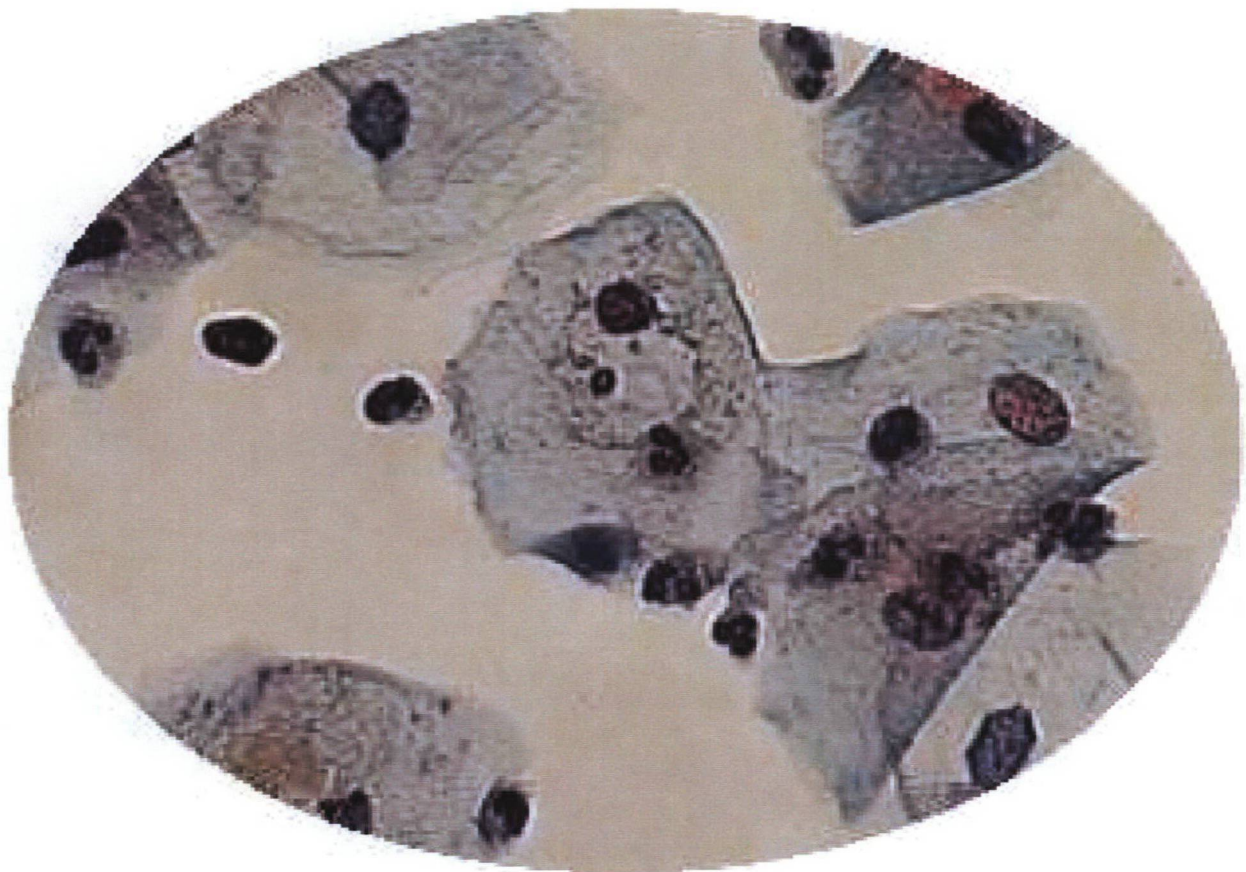
FIGURA 30: Método convencional. Esfregaço inadequado (Aumento 100X)



a)



b)



c)

FIGURA 31: Distribuição celular. Método de monocamada. [Coloração de Papanicolaou. Aumento 40X (a), 100X (b), 400X (c)]

### 5.2.2.2 Número de células nas amostras (aspectos quantitativos)

Quanto à quantidade de células nas amostras IIa, foi observado que 50 lâminas (100%) possuíam celularidade mínima entre 8.000 e 12.000 células (BETHESDA, 2001). Embora muitas dessas lâminas apresentassem áreas do esfregaço obscurecidas por reação inflamatória, atrofia, sangue, espessura do esfregaço etc, nenhuma ultrapassou 75% de todo o esfregaço (TABELA 5).

Das 50 amostras IIb analisadas, todas (100%) apresentaram uma celularidade média acima de 7,4 células por campo microscópico e contagem total acima de 5.000 células (TABELA 5). A menor quantidade média de células por campo microscópico encontrada foi de 8,6 células/campo, a maior de 96,3 células/campo microscópico e o valor médio demonstrado em 30,5 células/campo microscópico (TABELA 6). Quando considerada a contagem total de células em todo o esfregaço, ou seja, círculo de 13 mm de diâmetro, a menor contagem observada foi de 5.814 células/13 mm, a maior foi de 64.911 células/13 mm e a média de todas as contagens foi de 20.666 células/13 mm (TABELA 6).

Já as amostras IIc, que foram aquelas colhidas diretamente com o método de monocamada, também, num total de 50 lâminas, observou-se que 48 lâminas (96%) apresentaram contagem média por campo microscópico e contagem total acima de 7,4 células/campo e 5.000/13 mm, respectivamente e 2 lâminas (4%) com contagens abaixo desses valores, onde uma apresentou 1,6 células/campo (1.081 células/13mm) e a outra 2,6 células/campo (1.758 células/13mm). A lâmina com a menor contagem celular média e total foram de 1,6 e 1.081, a maior 87,9 e 59.434, e os valores médios de 38,1 e 26.398, respectivamente (TABELAS 5 e 6).

	No de lâminas com contagem > 7,4 células / campo	No de lâminas com contagem > 5.000 células / 13 mm	No de lâminas com contagem < valores mínimos propostos	No de lâminas com contagem mínima entre 8.000 e 12.000
<b>Lâminas IIa</b>	-	-	-	<b>50 – (100%)</b>
<b>Lâminas IIb</b>	<b>50 (100%)</b>	<b>50 (100%)</b>	<b>0 (0%)</b>	-
<b>Lâminas IIc</b>	<b>48 (96%)</b>	<b>48 (96%)</b>	<b>2 (4%)</b>	-

TABELA 5: Número absoluto e percentual de lâminas com contagem superior e inferior aos valores mínimos propostos

	Menor contagem por campo	Maior contagem por campo	Média das contagens por campo	Menor contagem total	Maior contagem total	Média das contagens total
Lâminas IIb	8,6	96,3	30,5*	5.814	64.911	20.666*
Lâminas IIc	1,6	87,9	38,1*	1.081	59.434	26.398*

TABELA 6: Valores mínimos, máximos e médios das contagens de células por campo microscópico e total das amostras IIb e IIc

\*(P<0,05)

### 5.2.2.3 Resultados diagnósticos

#### 5.2.2.3.1 Achados indicativos de alterações pré-neoplásicas

Os resultados encontrados na conclusão diagnóstica das 50 lâminas IIa, 49 lâminas (98%) foram consideradas negativas para malignidade, 1 (2%) classificadas como LSIL mais alterações sugestivas de infecção evidente por HPV (FIGURA 32 - TABELA 7). Considerando as amostras IIb, foram classificadas como negativas para malignidade 47 lâminas (94%), 2 como ASCUS (4%) (TABELA 7 - FIGURAS 8 e 9) e 1 (2%) como LSIL mais infecção por HPV (TABELA 7 – FIGURAS 32). Esta última mulher foi submetida ao estudo histopatológico (FIGURAS 33 e 34).

	Negativo	ASCUS	LSIL	LSIL + HPV
Amostras IIa	*49 - (98%)	-	-	*1 - (2%)
Amostras IIb	*47 - (94%)	2 - (4%)	-	*1 - (2%)

TABELA 7: Incidência de ASCUS, LSIL, HSIL. Amostras IIa e IIb

\*(P>0,05)

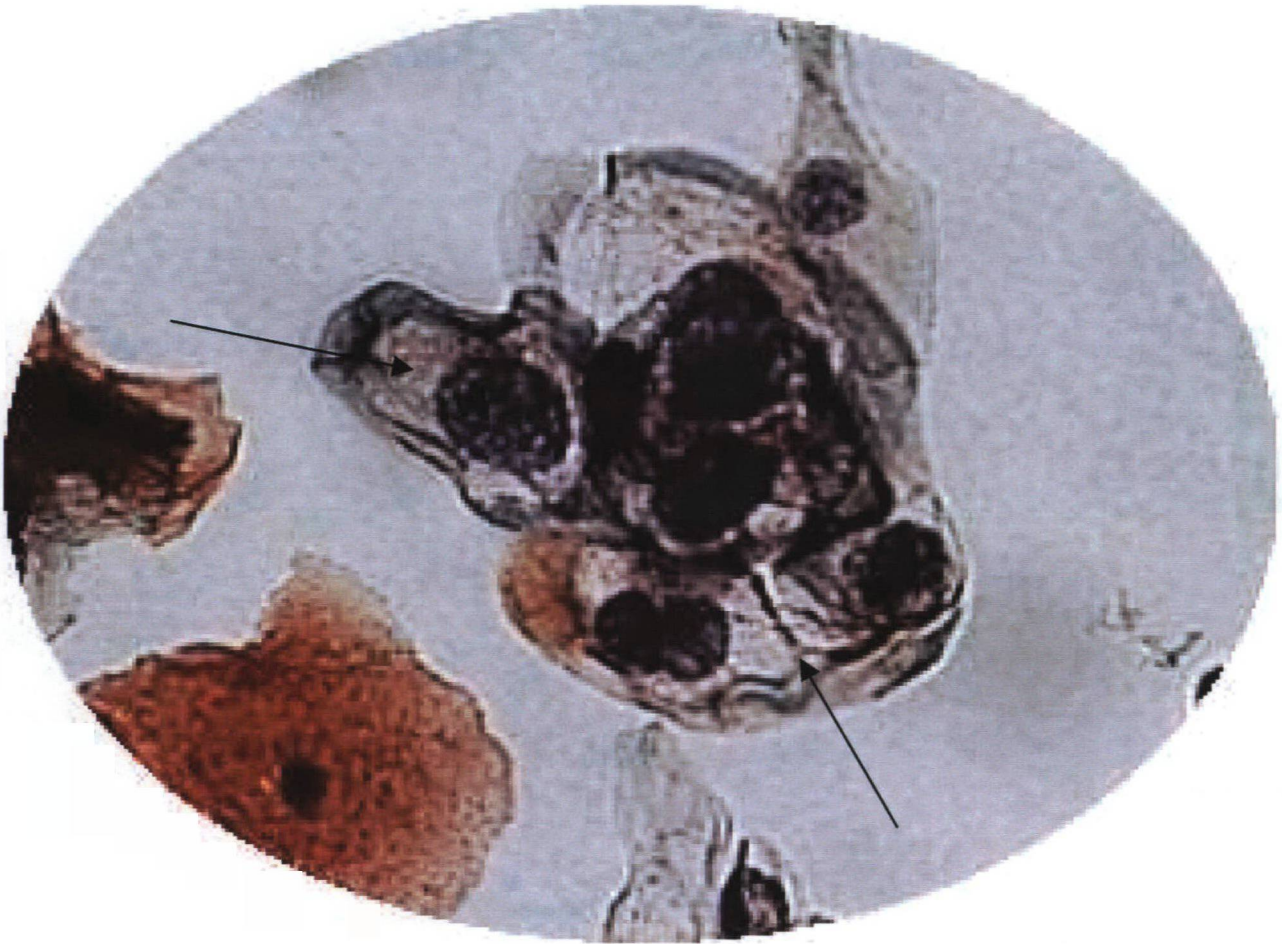


FIGURA 32: LSIL. Coilocitose (cariomegalia e hiperchromasia nuclear - setas. Coloração Papanicolaou. Aumento 400X)

No estudo das amostras IIc, foram consideradas negativas para malignidade 44 amostras (88%). A incidência de ASCUS foi de 1 lâmina (2%) e de SIL 3 lâminas (6%), sendo 2 casos de LSIL (4%) e 1 caso de HSIL (2%) (FIGURAS 36 e 37).

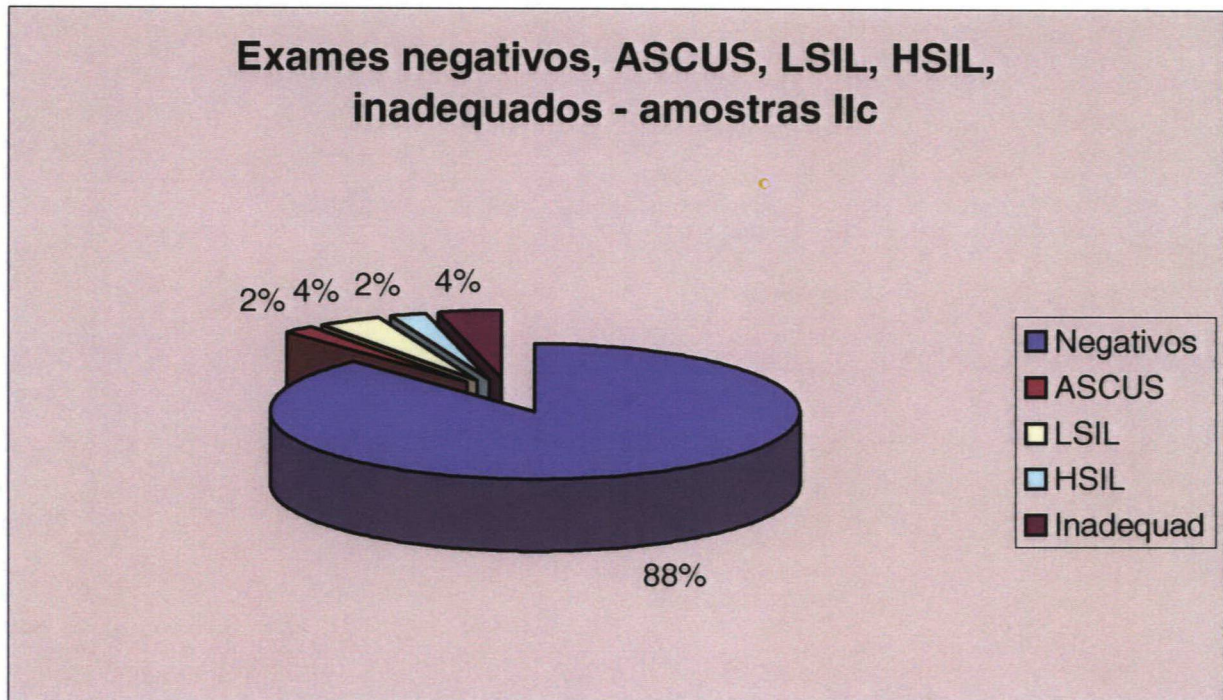


FIGURA 35: Exames negativos, ASCUS, LSIL, HSIL e inadequados. Amostras IIc. Valores Percentuais

A faixa etária de incidência dessas lesões foi para ASCUS de 1 caso com 37 anos. Para LSIL as idades foram de 17 anos (1 caso) e 24 anos (1 caso) e para HSIL de 33 anos (1 caso). Quando observadas as idades em relação aos grupos de faixa etária criada, os resultados foram para ASCUS 1 caso no grupo C (TABELA 8). Para SIL, 1 caso no grupo A (33,3%), 1 caso no grupo B (33,3%) e 1 caso no grupo C (33,3%) (TABELA 8). Das LSIL, 1 caso (50%) estava no grupo A e 1 caso (50%) no grupo B; das HSIL, o caso positivo estava no grupo C (TABELA 8).

	<b>Grupo A</b> <b>(15 a 20 anos)</b>	<b>Grupo B</b> <b>(21 a 30 anos)</b>	<b>Grupo C</b> <b>(31 a 40 anos)</b>
<b>ASCUS</b>	-	-	<b>1 (100%)</b>
<b>LSIL</b>	<b>1 (50%)</b>	<b>1 (50%)</b>	-
<b>HSIL</b>	-	-	<b>1 (100%)</b>

TABELA 8: distribuição de ASCUS, LSIL e HSIL por grupo etário. Amostras IIc

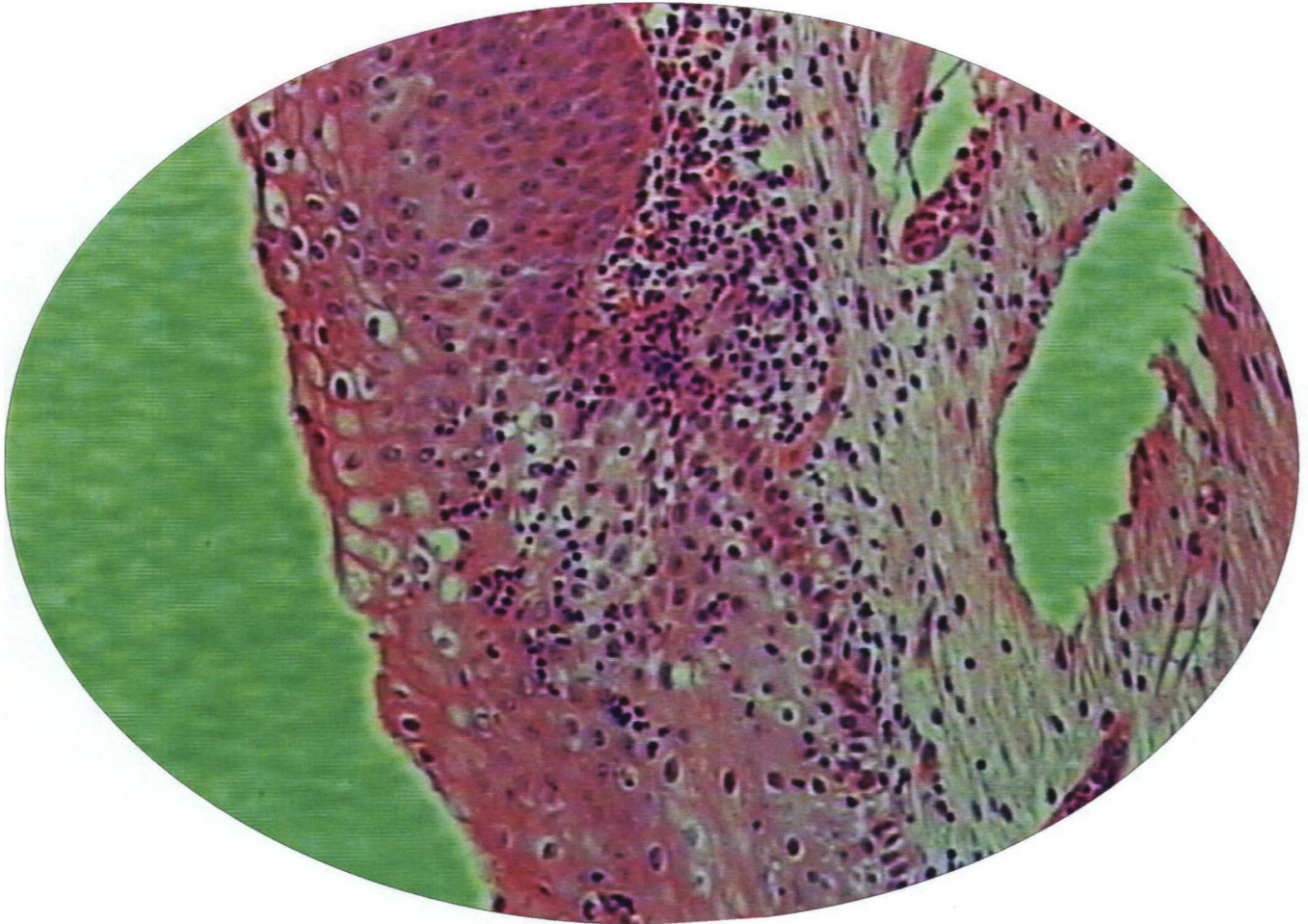


FIGURA 33: Corte histológico de colo de útero NIC I + HPV. Coloração HE. Aumento 100X.

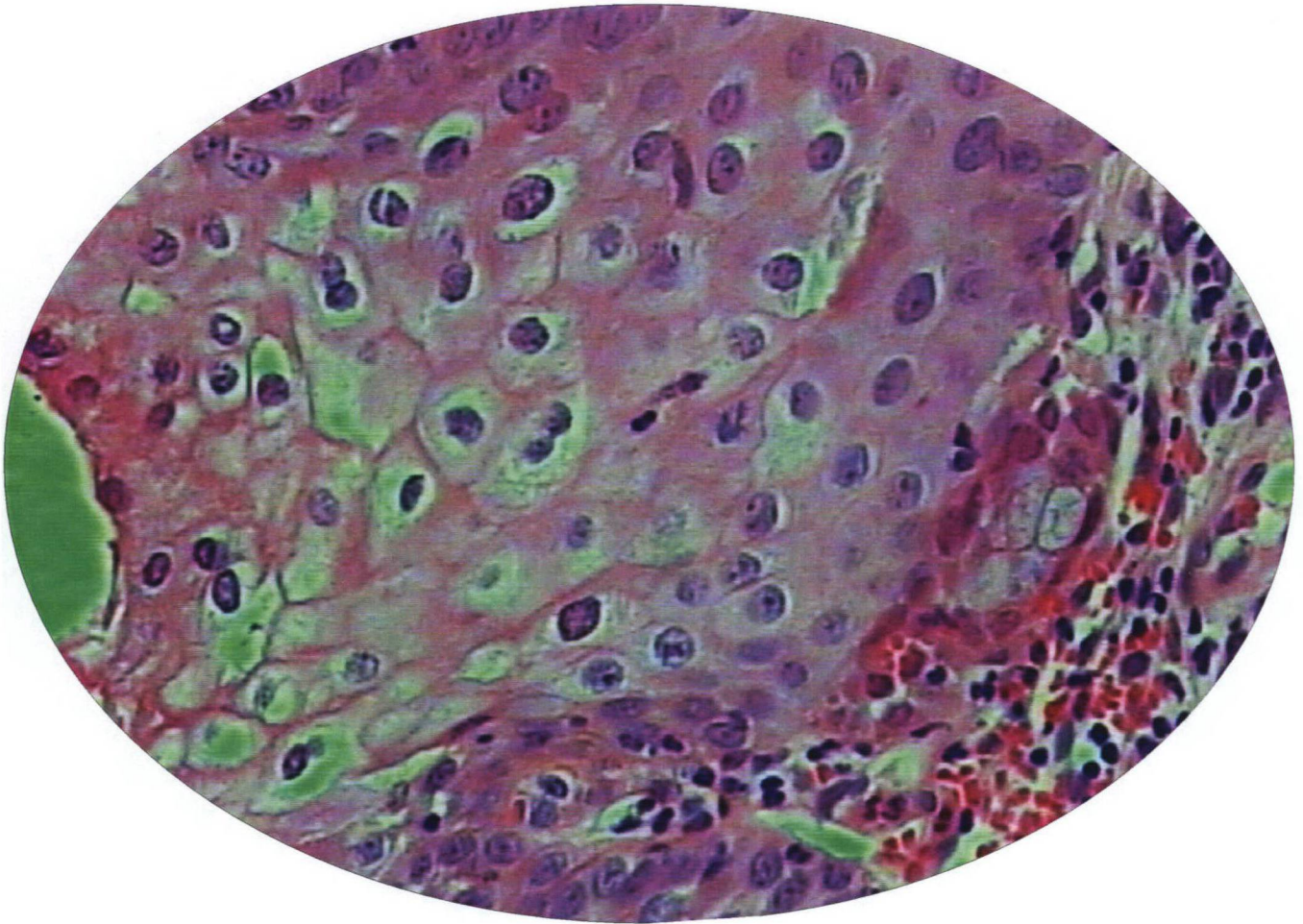


FIGURA 34: Corte histológico de colo de útero. NIC I + HPV. Coloração HE. Aumento 400X.

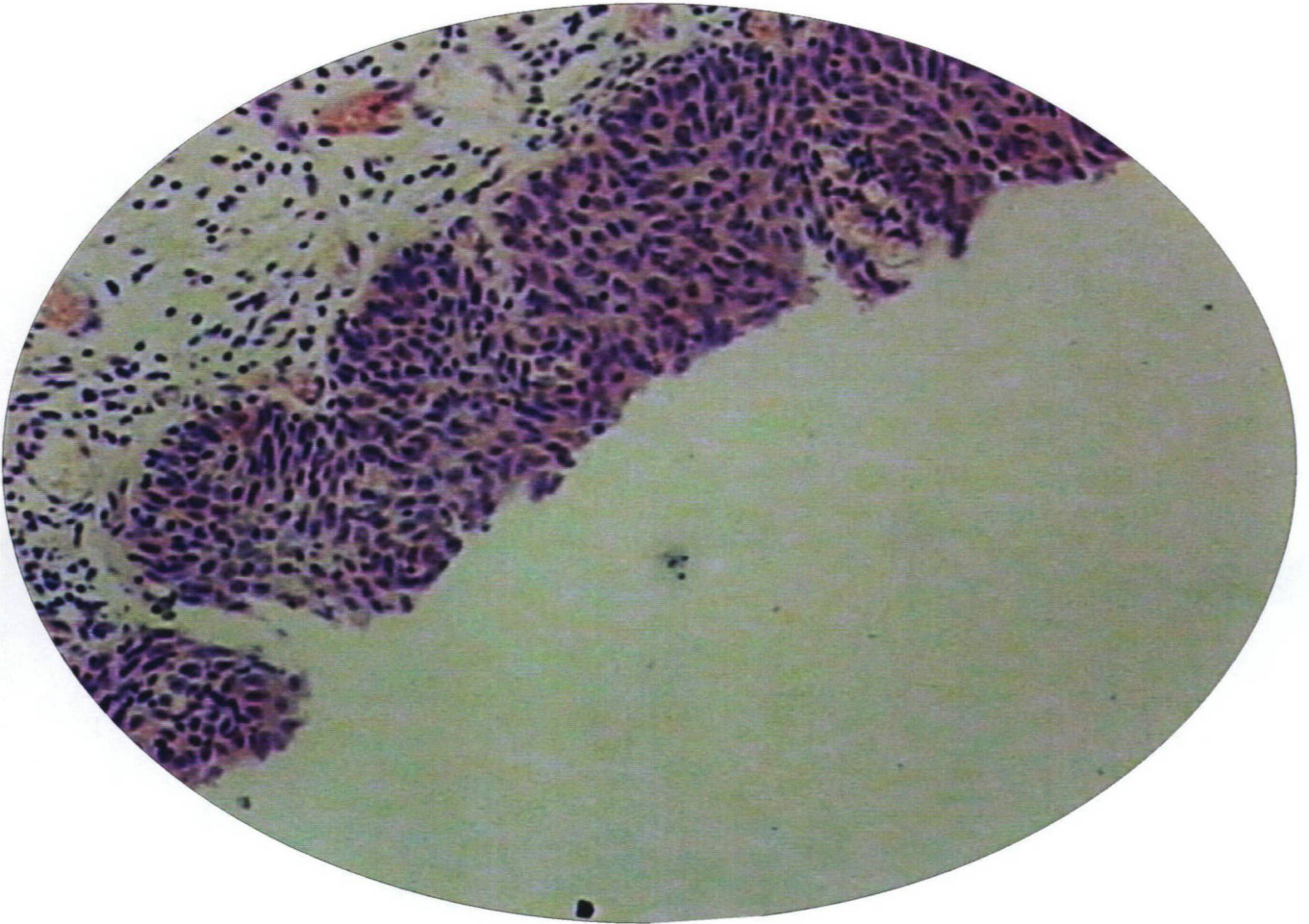


FIGURA 36: Corte histológico de colo de útero. NIC III (Coloração HE. Aumento de 100X)

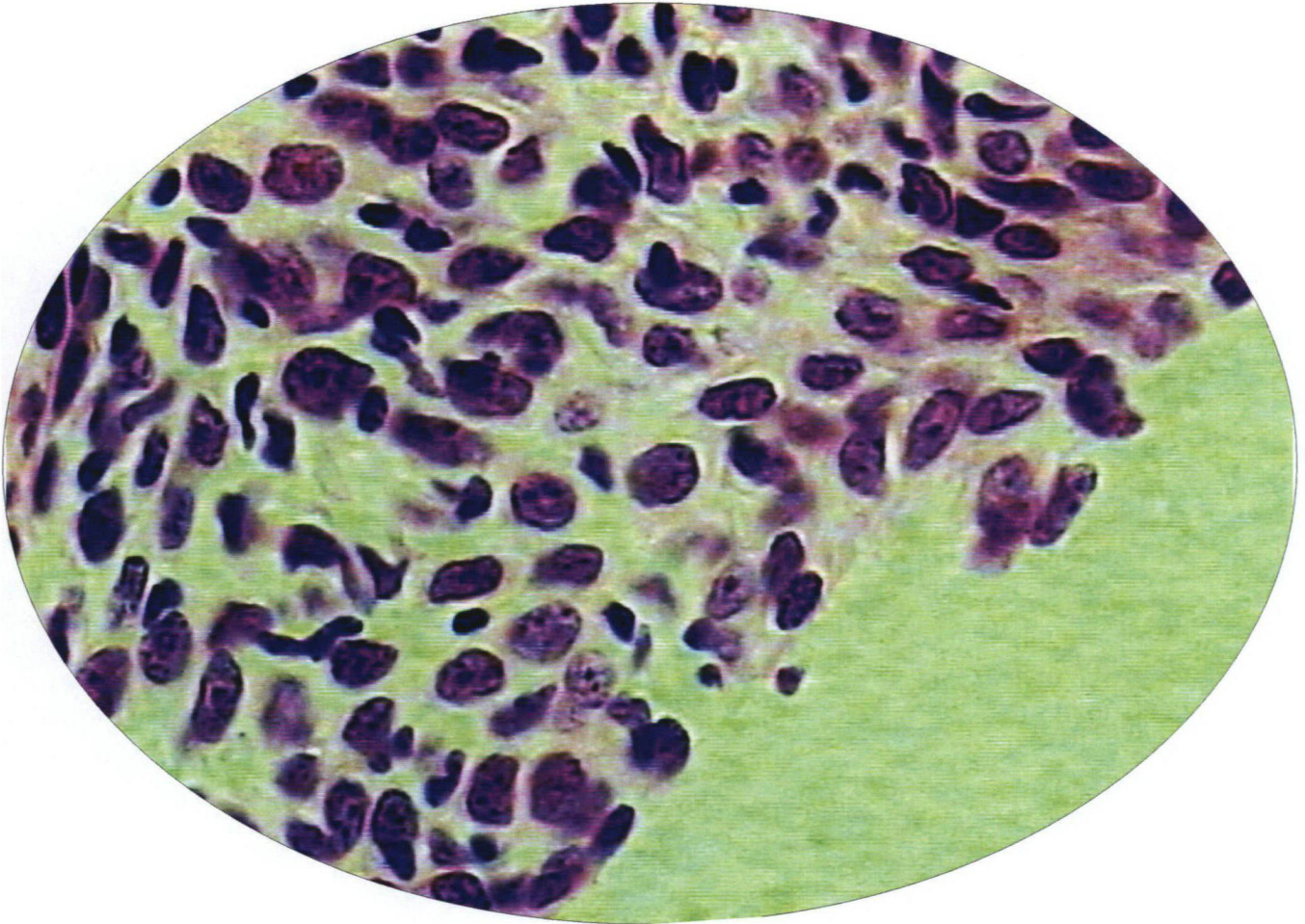


FIGURA 37: Corte histológico de colo de útero NIC III. Coloração HE. Aumento 400X..

### 5.2.2.3.2 Presença de células endocervicais

No âmbito da presença de células endocervicais no esfregaço, o critério utilizado para a positividade das mesmas foi o recomendado pelo SBT, que traduz o encontro de pelo menos 2 grupos de células endocervicais com pelo menos 5 células cada um, para o método convencional e de pelo menos 10 células agrupadas ou isoladas nos esfregaços de monocamada (KURMANN e SOLOMON, 1994; BETHESDA, 2001). Os resultados obtidos foram: dos 50 esfregaços realizados pelo método convencional, amostras IIa, 35 (70%) foram positivas para essas células contra 15 (30%) negativas para as mesmas (TABELA 9); nos 50 esfregaços realizados pela citologia de monocamada após coleta convencional, amostras IIb, o índice de positividade foi de 32 (64%) e de negatividade 18 (36%) (TABELA 9).

Dos 50 esfregaços realizados diretamente pela citologia de monocamada, amostras IIc, 36 (72%) apresentaram células endocervicais (FIGURAS 38 e 39) e 14 (28%) não apresentaram (TABELA 19). Essas amostras que não apresentaram células endocervicais foram consideradas satisfatórias, porém limitadas por não apresentarem este requisito. Duas amostras foram consideradas inadequadas por apresentarem número mínimo de células inferior ao preconizado pelo BETHESDA, 2001.

	<b>células endocervicais presentes</b>	<b>células endocervicais ausentes</b>
<b>Amostras IIa</b>	<b>*35 – (70%)</b>	<b>*15 – (30%)</b>
<b>Amostras IIb</b>	<b>*32 – (64%)</b>	<b>*18 – (36%)</b>
<b>Amostras IIc</b>	<b>*36 – (72%)</b>	<b>*14 – (28%)</b>

TABELA 9: Presença de células endocervicais. Amostras IIa, IIb e IIc

\*(P>0.05)

Na correlação ou estudo comparativo cruzado das 50 amostras (mulheres) que originaram as lâminas IIa e IIb e as duas metodologias aí empregadas, quanto à presença ou não de células endocervicais, verificou-se o mesmo resultado num total de 31 amostras (62%), sendo que, 24 foram positivas (48%) e 7 foram negativas (14%) (TABELA 10).

No entanto, houve discordância nos resultados em 19 amostras (38%), onde 11 amostras (22%) foram positivas pelo método convencional e negativas pela monocamada e 8

amostras (16%) foram negativas pelo método convencional e positivas pela monocamada (Tabela 11). Esses valores foram significativos ( $P < 0,05$ ) (TABELA 12).

	Positivos	Negativos	Total
<b>Resultados concordantes</b>	<b>24 (48%)</b>	<b>7 (14%)</b>	<b>31 (62%)</b>

TABELA 10: Resultados comparativos concordantes. Amostras IIa e IIb

	Convencional + Monocamada -	Convencional - Monocamada +	Total
<b>Resultados discordantes</b>	<b>11 (22%)</b>	<b>8 (16%)</b>	<b>19 (38%)</b>

TABELA 11: Resultados comparativos discordantes. Amostras IIa e IIb

	IIb		
		+	-
IIa	+	<b>24</b>	<b>*11</b>
	-	<b>*8</b>	<b>7</b>

TABELA 12: Comparativo cruzado entre as tabelas 10 e 11

\*( $P < 0,05$ )

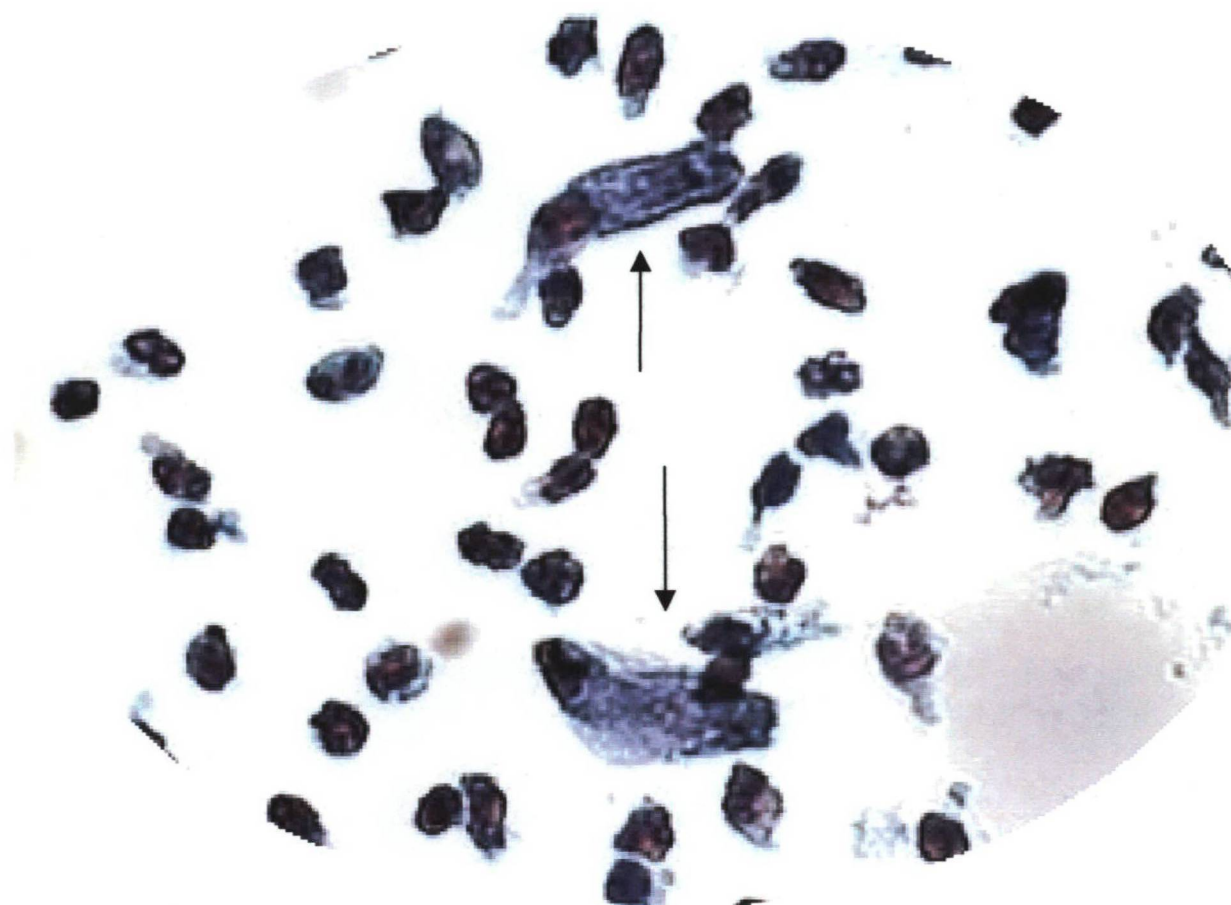


FIGURA 38: Células endocervicais isoladas (setas). (Alguns neutrófilos. Coloração de Papanicolaou. Aumento 400X)

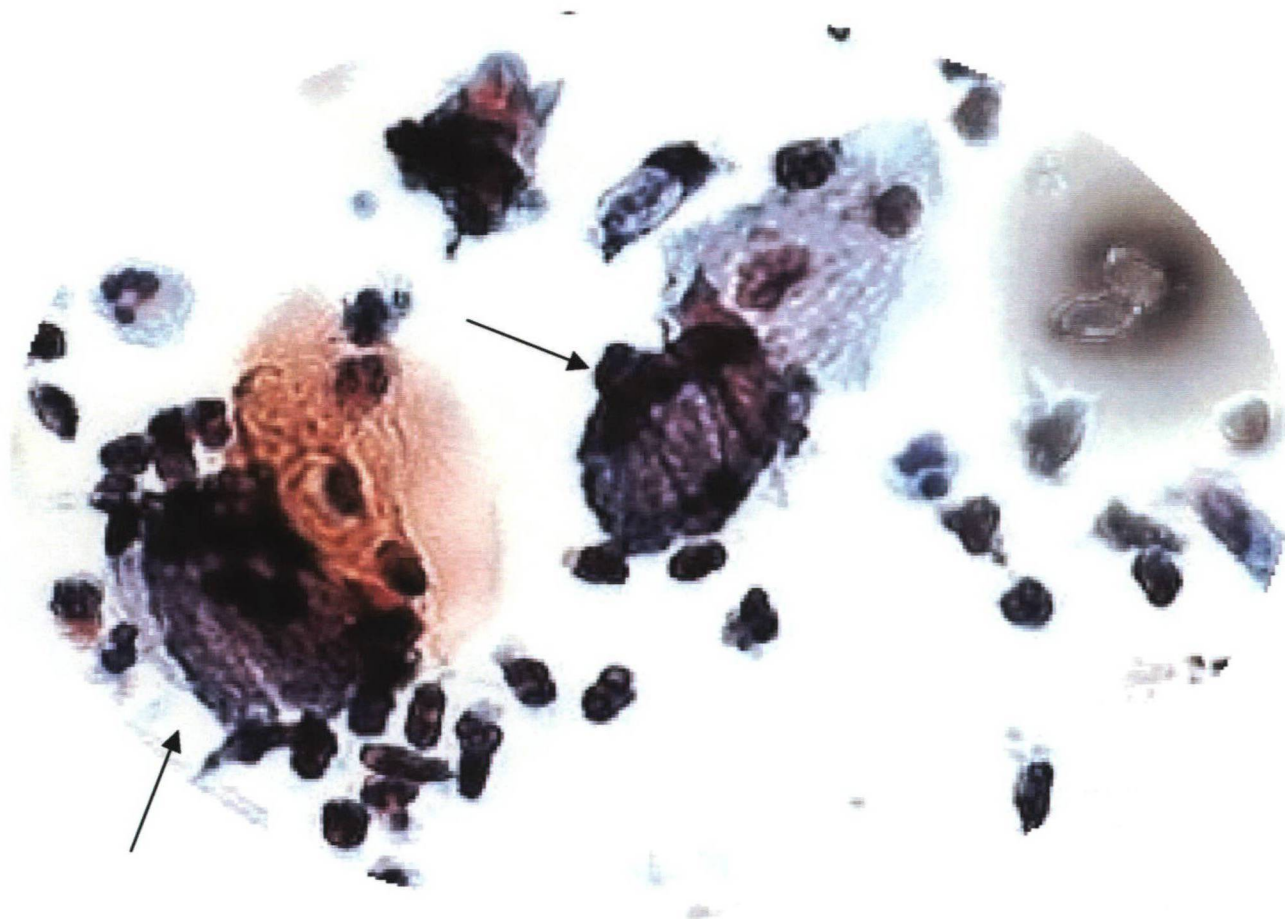


FIGURA 39: Células endocervicais agrupadas em paliçada (setas). (Células escamosas e alguns neutrófilos também estão presentes. Coloração de Papanicolaou. Aumento 400X)

### 5.2.2.3.3 Presença de flora bacteriana

Quanto à flora bacteriana presente no esfregaço das amostras IIa e IIb, foram considerados apenas os cocobacilos sugestivos de *Gardnerella vaginalis* (FIGURA 40), onde a incidência foi de 7 casos (14%) e de 5 casos (10%), respectivamente (TABELA 13). Nas amostras IIa a distribuição por grupo etário foi de 1 caso no grupo B, 3 casos no grupo C, 2 casos no grupo D e 1 caso no grupo E; já nas amostras IIb a ocorreram 2 casos no grupo B, 1 caso no grupo C, 1 caso no grupo D e 1 caso no grupo E.

Na correlação dos dados entre essas amostras, pode-se verificar todas as amostras IIa e IIb estavam nos grupos B, C, D e E, não existindo nenhum caso nos grupos A, F e G. Apenas o predomínio do grupo etário foi diferente entre elas, onde no primeiro a maior incidência foi no grupo C (3 casos) e no segundo no grupo B (2 casos). Ainda analisando-se o cruzamento dos dados entre as amostras IIa e IIb, observou-se concordância em 46 amostras (92%), onde 4 amostras (8%) foram positivas e 42 (84%) foram negativas (TABELA 14). Houve discordância em apenas 4 casos (8%), sendo 3 casos (6%) positivos nas amostras IIa e negativos nas amostras IIb e em um caso (2%) ocorreu o inverso (TABELA 15). Somente essas amostras foram contempladas com essa avaliação.

Estes resultados estão em concordância com o anteriormente verificado no estudo retrospectivo, não sendo verificada diferença significativa na frequência observada ( $P > 0,05$ ).

	Amostras IIa	Amostras IIb
<b>Gardnerella vaginalis</b>	<b>7 – (14%)</b>	<b>5 – (10%)</b>

TABELA 13: Incidência de *G. vaginalis* nas amostras IIa e IIb

	Positivos	Negativos	Total
<b>Resultados concordantes</b>	<b>4 (8%)</b>	<b>42 (84%)</b>	<b>46 (92%)</b>

TABELA 14: Estudo comparativo cruzado. Resultados concordantes para *G. vaginalis*. Amostras IIa e IIb

	<b>Convencional + Monocamada -</b>	<b>Convencional - Monocamada +</b>	<b>Total</b>
<b>Resultados discordantes</b>	<b>3 (6%)</b>	<b>1 (2%)</b>	<b>4 (8%)</b>

TABELA 15: Estudo comparativo cruzado. Resultados discordantes para *G. vaginalis*.. Amostras IIa e IIb

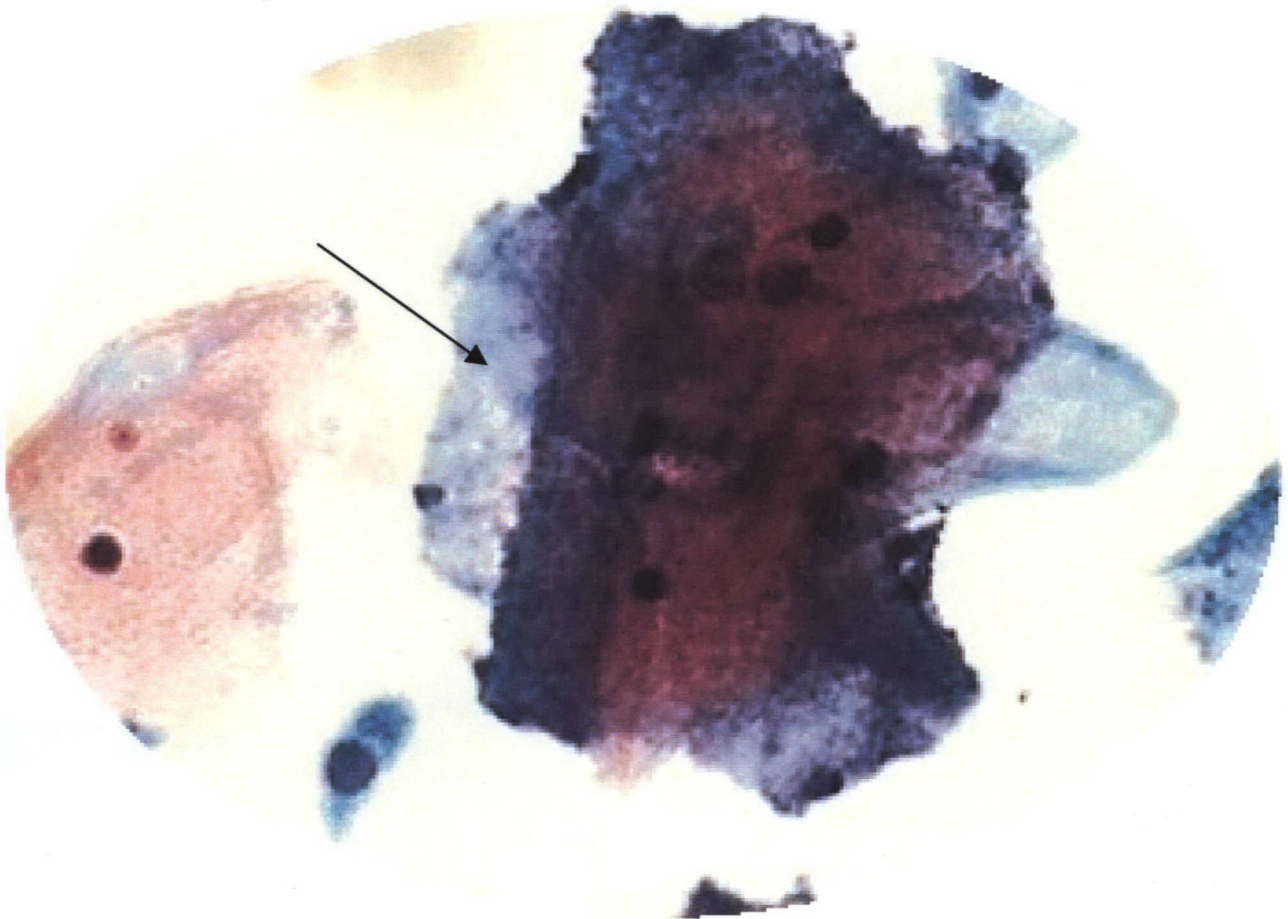


FIGURA 40: *Gardnerella vaginalis*. "Clue cells" (setas). (Coloração de Papanicolaou. Aumento de 400X)

#### 5.2.2.3.4 Presença de *Candida spp*

Neste estudo prospectivo, os critérios determinantes utilizados para se evidenciar a presença de *Candida spp* no esfregaço das amostras IIa e IIb, foram os mesmos utilizados no estudo retrospectivo (Figura 15). Foram encontrados 2 casos (4%) nas amostras IIa e também 2 casos (4%) nas amostras IIb (TABELA 16). Em ambas as amostras, todos os casos estavam inseridos no grupo C, quanto à faixa etária das mulheres.

Resultados semelhantes foram encontrados no estudo retrospectivo, não sendo verificada diferença significativa nas frequências observadas ( $\chi^2 = 0,0870$ ;  $P > 0,05$ ).

	Amostras IIa	Amostras IIb
Cândida spp	2 (4%)	2 (4%)

TABELA 16: Incidência de *Candida spp* nas amostras IIa e IIb

## 6 DISCUSSÃO

O presente trabalho teve como proposta maior, a elucidação de questionamentos acerca da metodologia clássica dos exames colpocitológicos de rotina, em particular o método convencional de Papanicolaou, no que se refere à representatividade das amostras coletadas por este processo.

Para tal investigou-se inicialmente os resultados de exames de uma amostragem de aproximadamente 1000 mulheres, avaliadas pela metodologia convencional, com a finalidade de se estabelecer um padrão quantitativo de referência (estudo retrospectivo ou amostras do grupo I).

Uma vez definidas as características gerais da população em estudo, o trabalho concentrou-se nas questões metodológicas dos sistemas de triagem, convencional e de monocamada. Com esta finalidade, utilizou-se como principal estratégia de abordagem, a observação das amostras colhidas e processadas pelo método convencional (amostras IIa); a observação do material residual retido nos instrumentos de coleta, após a confecção destas lâminas, avaliadas a partir desse momento pela metodologia de monocamada (amostras IIb) e na observação dos achados citológicos de amostras obtidas diretamente pela monocamada (amostras IIc). Propôs-se também a comparação entre os resultados obtidos na avaliação dessas amostras nas diferentes metodologias, onde essas análises como um todo, foram referidas como estudo prospectivo ou amostras do grupo II.

A análise das características gerais das amostras avaliadas no presente estudo revelou que cerca de 70% das mulheres participantes dos programas de prevenção para o câncer de colo de útero, estavam entre 21 e 40 anos de idade. Tal fato ficou demonstrado tanto no estudo retrospectivo (TABELA 1 - FIGURA 11) como no prospectivo (FIGURAS 23, 24 e 25), não havendo diferença significativa na média das idades ( $t = 0,5308$ ;  $P > 0,05$ ). Estes resultados estão de acordo com os trabalhos de VASSILAKOS et al. (1998) com prevalência de exames em mulheres com idade entre 20 e 49.

As pacientes em questão possuíam, em sua grande maioria (86%), escolaridade de nível médio ou universitário (Figura 26). Tal fato reflete uma realidade sócio-econômica, na qual o acesso à rede privada de saúde é, ainda, privilégio das classes mais abastadas e com maior grau de instrução. Esses dados vêm de encontro com os estudos referidos por KLINGERMAN, (1998) e ERIGOS, (2001).

A iniciação sexual ou idade do primeiro coito foi predominantemente abaixo dos 20 anos de idade (88%) (FIGURA 27), independente da idade da mulher no momento do exame, dado este de importante relevância, pois segundo McMICHAEL e HILLER, 1989 e SCHIFFMANN, 1995, o mesmo é considerado fator de risco isolado para o câncer cervical, tendo em vista provável imaturidade histológica do colo uterino na adolescência.

Outro importante fator de risco observado, foi o número de diferentes parceiros sexuais até a data do exame, que demonstrou um predomínio de mulheres com número de parceiros entre 1 e 3 (82%) (Figura 28), ponderando uma média de 2,3 parceiros para cada mulher. Segundo McMICHAEL e HILLER, 1989, em seus estudos, observaram um aumento na incidência de câncer de colo uterino em até seis vezes em mulheres que apresentaram sete ou mais parceiros sexuais em sua vida.

Com relação aos principais agentes etiológicos encontrados com frequência nos exames colpocitológicos, LONGATTO E SILVA FILHO, 2000, estudando a infecção pelo HPV, descreveram a incidência percentual de condilomatose em alguns países, tais como, Canadá (1 a 3%), Estados Unidos da América (0,7 a 1,35%), França (1%), Finlândia (2 a 3%) e Brasil (1,25% na cidade de São Paulo e 0,7% na cidade de Curitiba). A média internacional, ainda segundo estes autores, oscila entre 0,5 e 2,5%.

No presente trabalho, a avaliação de um total de 1167 amostras (1067 amostras do estudo retrospectivo e 100 amostras do estudo prospectivo), ao considerar-se os sinais clássicos, como alterações celulares sugestivas dessa infecção viral, principalmente a coilocitose e disqueratose, resultou num valor de 0,77%. Tais resultados concordam plenamente com os valores encontrados por COSTA et al., (1992) com prevalência de 1 a 2%; por LOPES e FERNANDES, (2000) que foram também de 2%; por THIESEN et al., 2001 0,9% e como anteriormente citado por Longatto e Moraes Filho em Curitiba com 0,7%, cidade esta, local também da realização do estudo em tela. A faixa etária das mulheres positivas para HPV ficou entre 18 e 35 anos (grupos A, B e C), idade do primeiro coito abaixo dos 20 anos em 100% dos casos positivos (FIGURA 27), número de parceiros sexuais entre 2 e 4 (Figura 28) e em uma dessas mulheres foi constatada sorologia positiva para o vírus da imunodeficiência humana (HIV).

Levando-se em consideração a presença de estruturas fúngicas sugestivas de *Candida spp*, observou-se concordância entre os estudos retrospectivos (3,48%) e prospectivos (4%), entre os quais não houve diferença significativa ( $\chi^2 = 0,0870$ ;  $P > 0,05$ ).

Houve concordância em 100% nos achados entre as amostras IIa e IIb, onde as 2 amostras positivas (4%) na primeira, também mostraram-se positivas na segunda (4%) (TABELA 16).

A prevalência desse agente em vários estudos demonstrou uma variabilidade muito acentuada entre os mesmos: segundo ELEUTÉRIO JUNIOR et al., (2001) esse valor foi de 1,82%; GUERREIRO et al., (1987) de 7,2%; ROCHA e CUNHA, (1998) de 2,39%; THIESEN et al., (2001) de 14,4% e de NUNES e SILVA FILHO, (2001) que foi de 21,78%.

No presente estudo, essas mulheres eram pertencentes a faixa etária do grupo C (idade entre 31 e 40 anos), concordando com THIESEN et al., (2001), no qual a faixa etária ficou entre 26 e 46 anos.

Em relação à flora cocobacilar, sugerindo infecção por *Gardnerella vaginalis*, hoje denominada de vaginose bacteriana, levando em consideração a presença de “clue cells”, a incidência foi de 16% no estudo prospectivo, não havendo diferença significativa com o estudo retrospectivo, onde o resultado encontrado foi de 14,81% ( $\chi^2 = 0,0252$ ;  $P > 0,05$ ). Tais resultados assemelham-se aos descritos por KOOS e GOMPEL, 1997 que observou uma incidência de 10% deste agente e por ROCHA e CUNHA, 1998 que identificaram 12,23%. Porém discordaram dos achados de NUNES e SILVA FILHO, (2001) que referiram uma incidência de 25,25%.

Analisando-se as alterações citológicas sugestivas de alterações pré-neoplásicas, verificou-se que a incidência de ASCUS foi concordante no estudo retrospectivo (2,71%) (Figura 20) e no prospectivo (3%), onde, estatisticamente também não houve diferença significativa ( $\chi^2 = 1,18$ ;  $P > 0,05$ ). Embora VASSILAKOS et al., (1998) tenham descrito expressiva redução na incidência de ASCUS pela citologia de monocamada, neste estudo, comparando-se amostras IIa / IIb contra as amostras IIc, foi revelado uma melhora no diagnóstico dessa entidade nas amostras IIc, onde o número de casos foi maior que nas duas primeiras. Resultados semelhantes foram registrados por PITTOLI et al., (2001).

Pesquisando-se a presença de alterações celulares sugestivas de SIL, resultados diferentes foram encontrados entre o estudo retrospectivo (1,22%) (TABELA 3) e o estudo prospectivo (3,3%).

Utilizando-se a metodologia convencional, ZEFERINO et al., (2000) demonstraram uma incidência para LSIL e HSIL de 1,20% e 0,71%, respectivamente, concordando com este estudo. THIESEN et al., (2001), obteve 0,9% para LSIL, também pela

metodologia convencional. Estes resultados são concordantes com os registrados no estudo retrospectivo.

No prospectivo, no entanto, houve um sensível aumento do índice de detecção das SIL, principalmente nas amostras IIc, amostras essas colhidas e preparadas pela monocamada. Esses dados vão de encontro àqueles mencionados por PITTOLI et al., (2001), VASSILAKOS et al., (1998), INHORN, (1997) e HUTCHINSON et al., (1999), que igualmente constataram este fato no método de monocamada.

Quando comparados separadamente LSIL e HSIL, demonstrou-se que essas entidades foram melhor diagnosticadas citologicamente nas amostras IIc (monocamada) do que nas amostras IIa e IIb, corroborando mais uma vez os estudos dos autores supracitados. Porém não houve diferença entre as amostras IIa e IIb, onde a amostra positiva na primeira, também foi positiva na segunda.

Ambos os estudos, retrospectivo e prospectivo, apontaram prevalência de LSIL nos grupos etários A, B e C e HSIL nos grupos B e C.

A concordância existente entre os resultados obtidos pelos estudos retrospectivos e prospectivos, considerando idade, agentes etiológicos e achados sugestivos de alterações pré-neoplásicas, sugere que a população em estudo, ainda que composta por indivíduos diferentes, obedece a um certo grau de padronização, o que concentraria as variáveis mais relevantes aos métodos de triagem.

Dando início ao estudo comparativo entre as metodologias, verificou-se, em relação ao número de células, que nos dois primeiros grupos de amostras (IIa e IIb), 100% dessas apresentaram celularidade mínima proposta, conforme preconizado pelo Bethesda System Workshop 2001. Das 50 amostras IIb analisadas, 50 (100%) apresentaram celularidade média e contagem total de células considerados adequados quanto a estes parâmetros, na metodologia de monocamada. Os valores médios foram de 30,5 células / campo e 20.606 células / 13 mm, valores estes aproximadamente 4 vezes os valores recomendados para cada um.

Comparando-se esses achados numéricos em relação às amostras IIa e IIb e sabendo-se que as amostras IIb foram confeccionadas com as células ou material residual que permaneceram nos dispositivos de coleta após a realização do esfregaço convencional, a conclusão a que se chega é que o encontro de um expressivo número de células nessas lâminas, depõe contra a sensibilidade da metodologia convencional. Tal constatação implicaria em importante fonte de erro, causa de problemas diagnósticos ou resultados falso-

negativos, fazendo da metodologia de monocamada uma alternativa técnica a ser estudada e aplicada de forma rotineira e quem sabe substitutiva. Estes fatos demonstram de forma clara e objetiva a preocupação levantada por vários autores e que reflete o objetivo maior do presente trabalho.

Nas amostras IIc, 48 (96%) das mesmas apresentaram contagem média por campo microscópico e contagem total acima da quantidade mínima recomendada e apenas 2 amostras (4%) apresentaram contagens inferiores ao mínimo. Neste último caso, caracteriza-se o mesmo raciocínio observado acima, refletindo na falta de adequação da coleta, neste caso, em especial situação, que realmente não foram descamadas células suficientes para análise do esfregaço, sugerindo a inexistência de células retidas nos instrumentos de coleta por essa metodologia, já que todas as células são transferidas para o líquido preservante.

A análise dos resultados demonstrou não haver diferença significativa no aspecto quantitativo das amostras IIa e IIb (TABELAS 5 e 6), não evidenciando-se vantagem neste ponto, de uma metodologia testada sobre a outra. No entanto, particularmente expressiva parece ser a média das contagens nas amostras IIb, demonstrando a grande quantidade de células retidas na escova, que poderiam comprometer a representatividade da amostra na metodologia convencional.

Prosseguindo o estudo comparativo entre as metodologias, convencional e de monocamada, observou-se, com referência à presença de células endocervicais nos esfregaços, que os resultados para as amostras IIa (70%) e IIc (72%) foram muito próximos, não se percebendo diferença significativa entre elas ( $\chi^2 = 0,80121$ ;  $P > 0,05$ ). Porém, encontrou-se uma menor porcentagem nas amostras IIb (TABELA 9). Este dado concorda com o trabalho de BISHOP et al., (1998), que postulou como a causa provável, o fato dessas lâminas terem sido confeccionadas com as células remanescentes nos instrumentos de coleta, após a realização do esfregaço convencional, e que essas células teriam sido parcialmente transferidas para a lâmina no primeiro momento, de forma não randômica e sem prévia homogeneização.

Entretanto, esses resultados foram parcialmente discordantes com o trabalho realizado por SPRENGER et al., (1996), que observou a presença de componentes celulares da zona de transformação em 75,2% das amostras pelo método de base líquida ou monocamada, contra apenas 56,5% pelo método convencional. Tal disparidade sugere, talvez, diferenças no treinamento e nas técnicas de coletas empregadas nos dois estudos citados.

O raciocínio inverso também é verdadeiro quando comparamos as lâminas IIa e IIb, ainda em relação às células endocervicais, tendo em vista que das 50 lâminas IIa, em 31 delas (62%), as células endocervicais não foram totalmente transferidas para as mesmas. Em 8 (16%), nenhuma célula endocervical foi transferida, ficando essas células retidas na espátula de Ayre e nas cerdas da escova endocervical. Sendo a retenção de células, embora de forma parcial no primeiro caso e total no segundo, demonstra mais uma vez, a quantidade relevante de amostras ou lâminas, onde a representatividade celular e conseqüentemente a avaliação oncótica, estariam visivelmente prejudicadas, tendo em vista que, essas células representariam a JEC e o canal endocervical, locais estes, principalmente o primeiro, de grande incidência dos tumores cervicais.

Em relação às lâminas IIc que não apresentaram células endocervicais, sugere-se simplesmente uma provável inadequação da coleta, já que a distribuição celular neste caso, ocorreu de forma randômica e após homogeneização, onde muitas vezes, uma das causas mais comuns nestas situações, é a dificuldade ou impossibilidade de visualização do colo uterino no momento da coleta, obtendo-se material apenas das paredes vaginais.

Através da análise estatística dos dados, pode-se constatar que não há correlação positiva entre a discordância registrada nos resultados IIa e IIb (TABELAS 10 e 11) e o método empregado para a coleta. No entanto, a explicação para esta controvérsia, seria considerada talvez, apenas a transferência de células, justificando que nos casos positivos em IIa e negativos em IIb, as células endocervicais tenham sido totalmente transferidas para as lâminas, ficando apenas retidas células escamosas e já nos casos negativos em IIa e positivos em IIb, não houve nenhuma transferência dessas células, sendo transferidas apenas células do epitélio pavimentoso pluriestratificado.

Analisando-se os achados indicativos de alterações pré-neoplásicas no presente estudo, a comparação entre as amostras IIa e IIb, onde a primeira utilizou diretamente e unicamente o método convencional e a segunda as células retidas nos instrumentos utilizados na coleta convencional e posteriormente processada pela monocamada, evidenciou-se a mesma conclusão diagnóstica em 47 amostras (94%), sendo que em 45 amostras, não foi encontrada nenhuma alteração celular ou grau de atipia (negativas para malignidade), concordando com o estudo de BISHOP et al., (1998), que concluiu não haver diferença na detecção de alterações benignas entre esses dois métodos avaliados.

Em 2 amostras (1 em IIa e outra em IIb) foram encontradas alterações celulares descritas como cariomegalia (aumento do volume nuclear), hiper Cromasia nuclear (absorção

tintorial do núcleo aumentada), anisocariose (variação dos volumes nucleares) e coilocitose (efeito citopático sugestivo de infecção viral pelo HPV), caracterizando um grau de atipia compatível com infecção viral pelo HPV e LSIL (KOSS e DURFEE, 1956). Essa boa correlação vai de encontro ao trabalho de HOWELL et al., que em 1998 obtiveram 94,5% de concordância.

Em relação às amostras IIC, a inadequação de 4% das amostras, provavelmente decorreram do acaso ou de falhas no ato da coleta, não ocorrendo à retenção de células nos dispositivos de obtenção das amostras, pois em se tratando da metodologia de monocamada ou base líquida, todas as células foram transferidas para o meio líquido preservante, antes das lâminas serem confeccionadas ou processadas.

No entanto, apesar de ter-se demonstrado que a eficácia de ambos os métodos possa ser prejudicada por uma coleta inadequada, pode-se verificar que, em relação às amostras IIC, que foram colhidas diretamente pela monocamada, os resultados do presente trabalho confirmam os de VASSILAKOS et al., (1998) e de BAI et al., (1999). Em acréscimo, pode-se também verificar, que o método de base líquida promove uma melhoria na adequação das amostras e na detecção de lesões intra-epiteliais escamosas, pois se evidencia uma sensível melhora na caracterização dos achados citológicos, na representatividade e na distribuição celular. Resultados semelhantes foram encontrados por BEDNOV et al. (1998) e PITTOLI et al., (2001).

Os resultados obtidos na conclusão diagnóstica dos exames citopatológicos das amostras IIC, revelaram a manutenção nos casos identificados como ASCUS e um aumento no número de achados diagnosticados como SIL, concordando com aqueles encontrados por VASSILAKOS et al., (1998), BEDNOV et al., (1998) e BAI et al., (1999).

Nos casos encontrados de LSIL, ainda nas amostras IIC, em apenas 1 caso foi realizado segmento com o estudo histopatológico, onde confirmou-se histologicamente o diagnóstico de LSIL e HPV (FIGURAS 33 e 34). No caso de HSIL, também houve segmento como estudo histopatológico, com diagnóstico de NIC III (FIGURAS 36 e 37). A correlação cito-histopatológica foi de 100%.

A análise conjunta das amostras do presente estudo, revelou um maior número de casos de LSIL e HSIL em mulheres jovens, grupos A, B e C (TABELA 8), sendo a média de idade para LSIL de 20,7 anos e para ASCUS e HSIL de 31,6 anos e 30,2 anos, respectivamente, concordando com os trabalhos de BRINGHENTI et al., (2001), os quais, observaram que as lesões precursoras de neoplasias cervicais afetam mulheres com idade

média de 35 anos e 47,8 anos para carcinoma invasores. No presente trabalho não foram detectados casos de carcinomas invasores, porém, seria de se esperar a ocorrência em mulheres de idade mais avançada, ainda conforme BRINGHENTI et al., (2001).

Em ambos os estudos, retrospectivo e prospectivo, levando-se em consideração a incidência de ASCUS, LSIL e HSIL e os grupos etários, apontaram uma prevalência para o primeiro nos grupos B e C, para o segundo nos grupos A, B e C e para o terceiro nos grupos B e C (TABELAS 3 e 8 – FIGURA 20).

Com relação ao estudo comparativo entre os métodos, no que se refere aos agentes etiológicos encontrados, pose-se observar que as alterações citopáticas causadas pelo HPV, foram mais facilmente identificáveis e distribuídas de forma homogênea em todo o esfregaço e mais abundantes, na metodologia de monocamada, favorecendo desta foram o diagnóstico e concordando com os trabalhos de MANOS et al., (1999), que demonstraram uma elevação nos índices de sensibilidade para 99,0%, especificidade 59,3%, valor preditivo positivo de 89,9% e valor preditivo negativo de 95,5% na detecção de infecção viral pelo HPV.

Pode-se observar uma menor concentração de bactérias no esfregaço de monocamada, quando comparada com o método convencional, porém sem perda da microflora, de maneira que sua presença pudesse passar despercebida. Isto demonstrou uma grande vantagem da monocamada, na qual o reagente de densidade e a centrifugação são responsáveis pelo aspecto mais limpo do esfregaço. Este fato também foi observado com as células leucocitárias em concordância com PITTOLI et al., (2001).

Sabe-se que muito ainda resta para ser criado, investigado e comparado entre o método convencional de Papanicolaou e as novas metodologias, entre essas, a de base líquida ou monocamada. Porém, o que ficou demonstrado no presente estudo, foi à necessidade imperativa de esforços contínuos, para que cada vez menos os erros inerentes às falhas metodológicas estejam presentes e sejam causa de óbito entre mulheres que participam sistematicamente dos programas de prevenção do câncer de colo uterino.

## 7 CONCLUSÕES

Pode-se concluir neste estudo, após a análise e discussão dos resultados encontrados, que:

a) a presença de lesões pré-neoplásicas como ASCUS, LSIL e HSIL também estavam dentro dos índices esperados e relatados pela literatura, no entanto, pudemos verificar uma melhor constatação desses achados nas lâminas confeccionadas diretamente pelo método de monocamada (amostras IIc) em relação àquelas da metodologia convencional (amostras IIa), onde também a correlação cito-histopatológica foi melhor, demonstrando uma melhora na sensibilidade da busca ativa dessas lesões pelo método de base líquida.

b) o perfil das mulheres estudadas demandou uma prevalência de idade entre 21 e 40 anos; número médio de parceiros sexuais de 2,3; nível de instrução considerado bom, prevalecendo mulheres com formação de nível médio e universitário e idade do primeiro coito abaixo dos 20 anos de idade, em mais de 80% dessas mulheres.

c) o acesso à rede privada de saúde no país, ainda é um privilégio de uma população com melhor nível sócio-econômico, ficando a população de baixa renda marginalizada e a mercê dos programas governamentais de prevenção do câncer de colo uterino, os quais nem sempre acontecem no tempo e de maneira ideal.

d) a incidência de vaginites e vaginoses causados por *Candida spp* e *Gardnerella vaginalis*, respectivamente, estava dentro dos índices descritos pela literatura.

e) houve confirmação da retenção de células nos instrumentos de coleta utilizados pelo método convencional (espátula de Ayre e escova endocervical) de forma quantitativa e qualitativa, tendo em vista a contagem elevada de células nas amostras IIb, bem como a presença de células endocervicais nestas lâminas, respectivamente. Em alguns casos estudados, pudemos evidenciar ainda, a completa retenção das células endocervicais, células estas, fundamentais para que o esfregaço seja considerado adequado.

f) pelo fato da distribuição celular nos esfregaços realizados pelo método de base líquida, acontecer de forma randômica e homogênea, as células consideradas representativas e de importância relevante para a avaliação oncótica do esfregaço, também estavam distribuídas desta forma, tornando-se mais fácil o seu encontro ao longo do esfregaço, no processo de leitura das lâminas.

g) em virtude dos esfregaços terem sido confeccionados após centrifugação com o líquido de densidade e colocados sobre lâmina recoberta com solução catiônica, no método de

monocamada, ocasionou sem sombra de dúvidas, um esfregaço muito mais limpo e com única camada de células, permitindo melhor observação morfológicas das células, diminuindo também de forma sensível a inadequação das amostras por obscurecimento, sem perda porém, da microflora.

h) nos casos em que houve presença de células atípicas no esfregaço, pudemos verificar uma melhor definição dessas alterações no método de base líquida. Porém, na ausência de atipias, houve uma equivalência entre as duas metodologias.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, G. H.; BOYES, D.A.; BENEDET, J.L. Organisation and results of the cytology screening programme in British Columbia. **Br. Med. J.**, v. 296, p. 975-978, 1988.
- ARENDS, M.; BUCKLEY, C. e WELLS, M. A etiology, pathogenesis and pathology of cervical neoplasia. **J. Clin. Pathol.**, v. 51(2), p. 96-103, 1998.
- AUSTIN, R. M.; RAMZY, I. Increased detection of epithelial cell abnormalities by liquid-based gynecologic cytology preparations. A review of accumulated data. **Acta Cytologica**, v. 42, p. 178–184, 1998.
- BAI, H.W.; SUNG, C.J.; STEINHOFF, M.M. The Thinprep pap test promotes detection of glandular lesions of the endocervix. **Lab. Invest.**, v. 79, p. 40, 1999.
- BICCA, M.; CASANOVA, M. Citopatológico de colo uterino: sua importância como método diagnóstico. **GO Atual**, v. 6, p. 46-50, 1998.
- BISHOP, W. J. Comparison of the cytorich system with conventional cervical cytology. **Acta Cytologica**, v. 41, p. 15–24, 1997.
- BISHOP, W.J.; BIGNER, S. H.; COLGAN, T. J.; HUSAIN, M.; HOWELL, L. P.; McINTOSH, K. M.; TAYLOR, D. A. e SADEGHI, M.H. Multicenter masked evaluation of the AutoCyte prep thin layers with matched conventional smears. **Acta Cytologica**, v. 42, p. 189–197, 1998.
- BEDNOV, Y.M.; BROSKY, K.R.; SIDAWY, M.K. Comparison of the efficacy of the Thinprep method with the conventional cervical smear. **Lab. Invest.**, v. 78, p. 36, 1998.
- BETHESDA SYSTEM WORKSHOP, 2001. **NCI Bethesda System**. National Cancer Institute, National Cancer Center, Bethesda, Md, 2001, p. 17.

- BERKOWITZ, R.S.; EHROMANN, R.L.; LAVIZCO-MOUREY, R.; KNEPP, R.D. Invasive cervical carcinoma in young women. **Gynecol. Oncol.**, v. 8, p. 311-316, 1979.
- BOGDANICH, W. The Pap test misses much cervical cancer through lab's errors. **Wall Street Journal**, 1987.
- BOYES, D.A.; NICHOLE, T.M.; MILLNER, A.M.; WORTH, A. J. Recent results from the British Columbia screening program for cervical cancer. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v. 128, p. 692-693, 1997.
- BOSCH, F.X. Prevalence use of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 87, p. 796-802, 1995.
- BRINGUETI, M. E. Z.; GONÇALVES, T. L. e RODRIGUES, Y. B. HPV na gênese de lesões cérvico-uterinas. Métodos diagnósticos (citopatologia –tipagem viral). **Revista Brasileira de Análises Clínicas**.v. 33(3), p. 117-120, 2001.
- CAVALCANTI, S.M.B. Human papillomavirus infection and cervical cancer in Brazil: a retrospective study. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 91, p. 433-40, 1996.
- COSTA, M. B.; PEREIRA, M. S.; SOUZA, D. G. O.; COSTA, E. M. M. B.; ARAÚJO, S. A. e SASAKI, R. S. A. Critérios citológicos para diagnóstico do papiloma cervical. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 24(4), p. 111-113, 1992.
- COX, J.T. Epidemiology of cervical intraepithelial neoplasia: the role of human papillomavirus. **Ballieres Clin. Obstet. Gynecol.**, v. 9, p. 1-37, 1995.
- CHRISTOPHERSON, W. M.; LUNDIN, F. E.; MENDEZ, W. M.; PARKER, J. R. Cervical cancer control: a study of morbidity and mortality trends over a 21 year period. **Cancer**, v. 38, p. 1357-1366, 1978.

- DAS DORES, G.; TATOMARU, E.; GALLO, C. Aspectos atuais do rastreamento das lesões HPV induzidas e do câncer do colo uterino com métodos morfológicos e biomoleculares. *News Lab*, v. 35, p. 196-204, 1999.
- DAVESSA, S. S. Descriptive epidemiology of cancer of the uterine cervix. *Obstet. Gynecol.*, v. 64, p. 605–612, 1984.
- ELEUTÉRIO JUNIOR, J.; BARBOSA, R. C. C.; COSTA, N. N.; CESAR, A. B. F. e SAMPAIO, S. B. Esfregaços endocervicais por escova: avaliação citológica e correlação clínico-colposcópica. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, v. 33, p. 175-178, 2001.
- ERIGOS, M. Diagnóstico do câncer está esquecido. [www.digene.com.br](http://www.digene.com.br) (2001).
- FLANNELLY, G. Management of women with mild and moderate cervical dyskaryosis. *B.M.J*, v. 308, p. 1399–1403, 1994.
- FERENCZY, A.; FRANCO, E.; ARSENEAU, J.; WRIGHT, T. C.; RICHART, R. M. Diagnostic performance of hybrid capture human papillomavirus deoxyribonucleic acid assay combined with liquid based cytologic study. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 175, p. 651–656, 1996.
- GAY, J. D.; DONALDSON, L. D.; GOELLNER, J. R. False-negative results in cervical cytologic studies. *Acta Cytologica*, v. 29, p 1043–1046, 1985.
- GUERREIRO, H. M. N.; HAGE, S.; CONCEIÇÃO FILHO, J. L. e BARBOSA, H. S. Vaginite por Gardnerella vaginalis – prevalência e avaliação metodológica para seu diagnóstico. *Revista de Microbiologia*, v. 18(4), p. 305-310, 1987.
- HERRINGTON, C. S. Human papillomavirus and cervical neoplasia: interaction of HPV with others factors. *J. Clin. Pathol.*, v. 48, p. 1-6, 1995.
- HILDESHEIN, A .M. Persistent of type-specific human papillomavirus infection among cytologically normal women. *J. Infect. Dis.*, v. 169, p. 135-240, 1994.

- HOWELL, L.P.; ROBIN, L. D.; BELK, T. I.; AGDIGOS, R.; e LOWE, J. The AutoCyte preparation system for gynecol cytology. **Acta Cytologica**, v. 42, p. 171-177, 1998.
- HUTCHINSON, M. L.; ISENSTEIN, L. M.; GOODMAN, A. H.; HURLEY, A.; DOUGLASS, K. L.; MUI, K. K.; PATTEN, F. W. e ZAHNISSER, D. J.. Homogeneous sampling accounts for the increased diagnostic accuracy using the Thinprep<sup>tm</sup> processor. **Am. J. Clin. Pathol.**, v. 101, p. 215 – 219, 1994.
- HUTCHINSON, M. L.; ZAHMSER, D. J.; SHERMANN, M. E.; HENERO, R.; ALVARO, M.; BRATTI, M. C.; HILDESLIEM, A; LORINCZ, A. T.; GREENBERG, M. D.; MORALES, J.e SCHIFFMAN, M. Utility of liquid-based cytology for cervical carcionoma screening. **Cancer**, v. 87, p. 48-55, 1999.
- INHORN, S. L. Comparison of conventional Papanicolaou smears and a fluid-based, thin layer system for cervical cancer screening. **Obstet. Gynecol.**, v. 90(2), p. 278-284, 1997.
- KESSLER, I. I. Perspectives on the epidemiology of cervical cancer with special reference to the herper virus hypothesis. **Cancer Res.**, v. 34, p. 1091–1110, 1974.
- KLINGERMAN, J. A Assistência Oncológica no SUS. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 44, p. 6–9, 1998.
- KNESEL, E.A. Roche image analyses system, inc. **Acta Cytologica**, v. 40, p. 60-66, 1996.
- KOSS, L. G. e DURFEE, G. R. Unusual patterns of squamous epitheial of uterine cervix; cytologic and pathologic study of koilocytotic atypia. **Ann. N.Y . Acad. Sci.**, v. 63, p. 1245-1261, 1956.
- KOSS, L. G. The Papanicolaou test for cervical câncer detection, a triumph and tragedy. **JAMA**, v. 261, p. 737–743, 1989a.
- KOSS, L. G. Cytology: accuracy of diagnosis. **Cancer**, v. 64, p. 249–257, 1989b.

- KOSS, L. G. e GOMPEL, C. **Citologia ginecológica e suas bases anatomoclínicas**. 1. ed. São Paulo: Manole, 1997.
- KOUTSKY, L. A .; GALLOWAY, D. A .; HOLMES, K. K. Epidemiology of genital human papillomavirus infection. **Epidemiol.**, v. 10, p. 122-163, 1988.
- KOUTSKY, L. A . Epidemiology of genital human papillomavirus infection. **Am. J. Med.**, v. 102, p. 3-8, 1997.
- KURMAN, R.J. e SOLOMON, D. **The Bethesda system for reporting cervical /vaginal cytologic diagnoses**. 1. ed. New York: Springer-Verlag, 1994.
- LAVERTY, C. R. The importance of the cell sample in cervical cytology: a controlled trial of a new sampling device. **Med. J. Aust.**, v. 150, p. 432–436, 1989.
- LIRA NETO, J.B. **Atlas de citopatologia e histopatologia do colo uterino**. 1. ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 2000.
- LONGATTO FILHO, A.; SILVA FILHO, A. M. **Colo uterino e vagina: processos inflamatórios, aspectos histológicos, citológicos e colposcópicos**. 1. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2000.
- LOPES, L. V. D. A. e FERNANDES, P. A. Infecção pelo papilomavírus humano: correlação cito-histológica e avaliação dos sinais citológicos não-clássicos. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 32 (1), p. 11-14, 2000.
- MANOS, M. M.; KINNEY, W. K. e HURLEY, L. B. Identifying women with cervical neoplasia: using human papillomavirus DNA testing for equivocal Papanicolaou results. **JAMA**, v. 281, p. 1605–1610, 1999.
- McMICHAEL, A. J. e HILLER, J. E. Pills, partners and preventive prospects: In-situ cancer of the cervix. **Med. J. Aust.**, v. 150, p. 114-116, 1989.

- MEIGS, J. V.; GRAHAM, R. M. e FREMONT-SMITH, M. The value of the vaginal smear in the diagnosis of the uterine cancer. **Surg. Gynecol. Obstet.**, v. 77, p. 449-461, 1943.
- MONSONEGO, F.E. e FRANCO, E. **New developments in cervical cancer screening and prevention**. 1. ed. London: Blackell Science, 1997.
- MURTA, E. F. C. Aspectos epidemiológicos da infecção pelo papilomavírus humano. **J. Bras. Ginecol.**, v. 107, p. 95-99, 1997.
- MURTA, E. F. C. Influência da idade materna, do período gestacional e do número de gestações na infecção pelo papilomavírus humano. **Ver. Bras. Ginecol. Obstet.** v. 20, p. 33-35, 1998.
- NATIONAL CANCER INSTITUTE WORKSHOP, 1988. The 1988 Bethesda System for Reporting Cervical/vaginal Cytological Diagnoses. **Journal of the American Medical Association**, v. 262(7), p. 931-934, 1989.
- NUNES, E. e SILVA FILHO, M. G. Estudo comparativo de exames colpocitológicos em dois serviços de saúde localizados no município de Belém-PA, no período de janeiro a dezembro de 1997. **Newslab**, v. 45, p. 92-96, 2001.
- PIMENTEL, G. F. **Curso de estatística experimental**. 15. ed. Piracicaba: Editora Nobel, 1996.
- PITTOLI, J. E.; GUEDES, A. C.; PEREIRA, S. M. M.; UTAGAWA, M. L.; LONGATTO FILHO, A.; MARTINS, C. R.; MAEDA, M. Y. S. e LORETO, C. Citologia de base-líquida na detecção de lesões de colo uterino. estudo preliminar. **Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, 2001.
- RICHART, R. M. The natural history of cervical intraepithelial neoplasia. **Clin. Obstet. Gynecol.** v. 10, p. 748-784, 1967.

- RICHART, R. M. e BARRON, B. A. A follow up study of patientes with cervical dysplasia. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v. 10, p. 386, 1969.
- RICHART, R. M. e WRIGTH, T. C. Controversie in the management of the low-grade cervical intraepithelial neplasia. **Cancer**, v. 71, p. 1431-1421, 1993.
- ROCHA, F. J. S. e CUNHA, G. M. A. Estudo retrospectivo da incidência de vulvovaginites, cervicites e neoplaisas intra-epiteliais cervicais em mulheres atendidas pelo serviço de prevenção ao câncer ginecológico e de mama no município de Aracati-CE. **Revista Brasileira de Análise Clínicas**, v. 30 (2), p. 45-48, 1998.
- SAWAYA, G. F. e EUGENE, W. A. Cervical cancer screening: wich techniques should be used and why? (controversies in gynecology). **Clinical Obstetrics and Gynecology**, v. 42(4), p. 922, 1999.
- SCHIFFMANN, M. H e SHERMAN, M. E. HPV Testing to Improve Cervical Cancer Screening. In: SRIVATSAVA, S; LIPPMAN, S. M; HONG, W. K.; MULSHINE, J. L. editors. **Early Detection of Cancer: Molecular Markers**. 1. ed. New York: Futura Publishing Co. Inc., 1994.
- SCHIFFMAN, M. H. New epidemiology of human papillomavirus infection and cervical neoplasia. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 87, p. 1345-1347, 1995.
- SCHOELL, W.; JANICEK, M. e MIRHASHEMI, R. Epidemiology and biology of cervical cancer. **Semin. Surg. Oncol.**, v. 16(3), p. 203-211, 1999.
- SHERMAN, M. E. Toward objective quality assurance in cervical cytophatology. **Am. J. Clin. Pathol.**, v. 102, p. 182-187, 1994.

- SPRENGER, E.; SCHWARZMANN, P.; KIKPATRICK, M.; FOX, W.; HEINZERLING, R. H.; GEYER, J. W. e KNESEL, E.A. The false negative rate in cervical cytology: comparison of monolayers to conventional smears. **Acta Cytologica**, v. 1, p. 10-18, 1996.
- SURIS, J.; DEXEUS, S.; LÓPEZ-MARIN, L. Epidemiology of preinvasive lesions. **Eur. J. Gynecol. Oncol.**, v.20 (4), p. 302-305, 1999.
- THIESEN, K.; SILVA, A. S.; FILIPINNI, C. A. F.; ROPELLATO, C.; BIANCHINI, E. e HAAS, P. Avaliação do diagnóstico citológico cérvico-vaginal na policlínica de referência I de Florianópolis. **LAES & HAES**, v. 32, p. 190-201, 2001.
- VAN DER GRAAF, Y. e VOOIJS, G. P. False negative rate in cervical cytology. **J. Clin. Pathol.**, v. 40, p. 438 – 442, 1987.
- VASSILAKOS, P.; COSSALI, D.; ALBE, X.; ALONSO, L.; HOHENER, R. e PUGET, E. Efficacy of monolayer preparations for cervical pathology: emphasis on subotimal specimens. **Acta Cytologica**, v. 40, p. 496-500, 1996.
- VASSILAKOS, P.; GRIFFIN, S.; MEGEVAND, E. e CAMPANA, A. Cytorich liquid-based cervical cytology test: screening results in a routine cytopathology service. **Acta Cytologica**, v. 42, p. 51-55, 1998.
- VASSILAKOS, P.; SAUREL, J.; RONDEZ, R. Direct-to-vial use of the AutoCyte prep liquid-based preparation for cervical-vaginal specimens in three european laboratories. **Acta Cytologica**, v. 43(1), p. 65-68, 1999.
- VOOIJS, P. G.; ELIAS, A.; GRAAF, Y.; VELING, S. Relationship between the diagnosis of epithelial abnormalities and composition of cervical smears. **Acta Cytologica**, v. 29, p. 232-238, 1985.
- ZEFERINO, L. C.; CATHARINO, J. M. R.; ARAUJO, M. A. S.; SILVA, L. C. B.; VEDOATO, S. R.; TAMBASCIA, J. K. e MARTINEZ, E. Z. Desempenho das amostras

do canal cervical e do fundo do saco no diagnóstico da neoplasia de colo uterino. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 22(3), p. 129-134, 2000.

ZUR HAUSEN, H. Intracellular surveillance of persisting viral infections: human genital cancer results from deficient cellular control of papillomavirus gene expression. **Lancet**, v. 2, p. 489-491, 1986.

ZUR HAUSEN, H. Molecular pathogenesis of cancer of the cervix and its causation by specific human papillomavirus types. **Curr. Top. Microbiol. Immunol.**, v. 186, p. 131-156, 1994.