ANDRÉ LUIS FERREIRA SANTOS

**COMPARAÇÃO ENTRE A REPETIÇÃO DA
COLPOCITOLOGIA ONCOLÓGICA COM
LEITURA POR DIFERENTES OBSERVADORES
E A CAPTURA HÍBRIDA II NO DIAGNÓSTICO
HISTOLÓGICO DE NIC 2 E/OU 3**

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

ORIENTADOR: Profa. Dra. SOPHIE F. MAURICETTE DERCHAIN

**UNICAMP
2001**

BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aluno: ANDRÉ LUIS FERREIRA SANTOS

Orientadora: Profa. Dra. SOPHIE F. MAURICETTE DERCHAIN

Membros:

1.

2.

3.

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

Data: 31/ 8 /2001

Dedico este trabalho...

... ao meu pai,
pelo exemplo e inspiração em fazer uma medicina decente e digna.

... à minha mãe,
pelo amor, carinho e base para vida.

...à minha filha,
pelo sentido e objetivo de viver.

... à minha esposa,
pelo apoio, companheirismo e paciência.

Agradecimentos

À Profa. Dra. Sophie Françoise Mauricette Derchain, pela grande contribuição nesta minha etapa de formação, através de seu intenso apoio, orientação, ensino, dedicação e exemplo.

Ao Edson Z. Martinez, pelo valioso apoio na realização deste trabalho.

Aos Professores Dra. Ellen Hardy, Dr. José Guilherme Cecatti, Dr. Luis Bahamondes, Dr. Juan Diaz, Dra. Eliana Amaral, Maria José Duarte Osis, Graciana Alves Duarte e Maria Helena de Sousa; por terem sido fundamentais em meu crescimento e formação.

Aos Professores Dr. Júlio César Teixeira e Dr. Luis Carlos Zeferino, pelas valiosas sugestões e ensino.

À Dra. Evelyn Bartholo Calvert, Dra. Rozany Mucha Dufloth, Dr. Marcos Roberto Martins, Elizabete Campos, Denise da Rocha P Lima de Moraes e Lúcia Maria Fagian de Carvalho; pelas valiosas participações neste trabalho.

A Nilvana Gomes F. Carmo, Margarete Amado S. Donadon e Sueli Chaves, pela atenção e auxílio.

Ao amigo e colega Gregório Lorenzo Acácio pelo incentivo e aconselhamento, que resultaram na acertada decisão de completar minha formação nesta instituição.

À Débora Resende, pela valiosa ajuda nesta dissertação.

Aos Professores Dra. Valéria Holmo Batista Tuffi e Dr. Xenofonte P. R. Mazzini, pelo apoio, incentivo, confiança e amizade.

À Universidade de Taubaté, pelo apoio e incentivo.

Este estudo foi
financiado pela FAPESP
(processo 99/11264-0)

Sumário

Símbolos, Siglas e Abreviaturas	
Resumo	
Summary	
1. Introdução	1
2. Objetivos	12
2.1. Objetivo geral	12
2.2. Objetivos específicos	12
3. Sujeitos e Métodos	14
3.1. Tipo de estudo	14
3.2. Seleção dos sujeitos	14
3.3. Variáveis e conceitos	15
3.4. Procedimentos utilizados para obtenção dos dados	17
3.5. Processamento de dados e análise estatística	23
3.6. Aspectos Éticos	25
4. Resultados	27
4.1. Avaliação da taxa de concordância interobservadores do mesmo laboratório no resultado citológico	27
4.2. Avaliação da taxa de concordância interobservadores de laboratórios diferentes no resultado citológico	29
4.3. Comparação entre os resultados citológicos de encaminhamento, do observador 1, do consenso e do observador 3, com o diagnóstico histológico e captura híbrida II	30
4.4. Avaliar o papel da captura híbrida II para identificação e quantificação do DNA-HPV de alto risco oncogênico na determinação diagnóstica	38
4.5. Avaliação do desempenho dos resultados citológicos e da captura híbrida II no diagnóstico histológico de NIC 2 e 3	40
5. Discussão	42
6. Conclusões	48
7. Referências Bibliográficas	50
8. Bibliografia de Normatizações	59
9. Anexos	60
9.1. ANEXO 1	60
9.2. ANEXO 2	63
9.3. ANEXO 3	64

Símbolos, Siglas e Abreviaturas

ASCUS	atipias de significado indeterminado de células do epitélio escamoso
AGUS	atipias de significado indeterminado de células do epitélio glandular
CAISM	Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher
CH II	captura híbrida II
CO	colpocitologia oncológica
DNA	ácido desoxirribonucléico
DP	Desvio-padrão
ECTO	Ectocérvice
ENDO	Endocérvice
et al.	e outros, e outras
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
HPV	vírus do papiloma humano
HUT	Hospital Universitário de Taubaté
NIC	neoplasia intra-epitelial cervical
PCR	reação em cadeia de polimerase
RLU	unidade relativa da luz
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas

Resumo

O objetivo deste estudo de validação de teste diagnóstico foi comparar a repetição a colpocitologia oncológica (CO), com leitura realizada por diferentes observadores, e a captura híbrida II no diagnóstico histológico de NIC 2 e 3 em mulheres com CO inicial alterada. Foram estudadas 105 mulheres não-grávidas, encaminhadas por resultado da CO com atipias indeterminadas ou sugestivas de infecção pelo HPV e/ou NIC, atendidas entre agosto de 2000 e junho de 2001 no Ambulatório de Patologia do Trato Genital Inferior e Colposcopia do Hospital Universitário de Taubaté. Em todas as mulheres foram coletadas amostras de material do colo uterino para nova CO e para estudo de DNA-HPV por CH II. A seguir, todas foram avaliadas pela colposcopia e realizou-se biópsia de áreas colposcopicamente anormais em 91 delas. As lâminas da nova CO foram avaliadas separadamente por dois patologistas, classificadas segundo a rotina do laboratório, e verificada a variação intralaboratorial dos resultados. Os laudos discordantes foram identificados pelo pesquisador e as lâminas correspondentes revisadas pelos patologistas para consenso. Posteriormente, as lâminas foram avaliadas por um terceiro patologista, de outro laboratório, para verificar a variação dos resultados. O teste de CH II foi classificado em positivo ou negativo para

detecção do DNA-HPV de alto risco oncogênico, e nos casos positivos, foi quantificada a carga viral. O padrão-ouro para o diagnóstico foi o resultado histopatológico e nos casos em que não foi realizada biópsia, considerou-se a colposcopia satisfatória e normal como resultado negativo (normal). A análise estatística utilizada para avaliação da concordância dos resultados citológicos foi o coeficiente kappa. A concordância entre os observadores do mesmo laboratório foi muito boa (coeficiente kappa 0,6741) e péssima quando interlaboratorial (kappa 0,0734). Utilizamos as estimativas de sensibilidade e especificidade para a comparação citoistológica. A sensibilidade da CO de encaminhamento para NIC 2 e 3 foi de 60%; com a nova coleta e leitura de consenso entre os dois primeiros patologistas esse valor aumentou para 80%, com redução da taxa de falso-negativo (40% para 20%). A sensibilidade da CO do terceiro patologista para NIC 2 e 3 foi de 45%. A CH II foi positiva para o DNA-HPV de alto risco oncogênico em 85% das mulheres com NIC2 e 3 ($p=0,02$), com quantificação fortemente associada ($p<0,01$). Para avaliação do desempenho dos métodos comparando-os com o diagnóstico histológico de NIC 2 e 3, utilizamos a razão de verossimilhança positiva (RV+). O desempenho da CO de repetição não melhorou com a revisão para consenso (RV+ de 5,92 com a primeira leitura e 4,22 com o consenso). A CH II apresentou baixa especificidade (49%). Quando foi avaliado o desempenho das leituras da CO associadas à CH II para diagnóstico histológico de NIC 2 e 3, houve um aumento das taxas de sensibilidade para todas as leituras citológicas (70% para 100%), queda das taxas de especificidade (80% para 40%) e queda da RV+ (5,92 para 2,33). Não se observou diferença quando foi realizado o cálculo dessas taxas com correção, ou seja, incluindo os casos sem biópsia.

Summary

The purpose of this study was compare the result of out-service Pap smear with the result of in-service Pap smear with an inter observer and inter laboratory evaluation and to analyze the impact of Hybrid Capture II (CH II) in the detection of CIN 2 and 3. Population studied include 105 non pregnant women attending for an abnormal Pap smear, with atypical undetermined cells or HPV/intraepithelial neoplasia at the Pathological Lower Genital Tract and Colposcopic Service of the Taubaté University Hospital. All women repeated Pap smear and high-risk HPV-DNA CH II. All women performed a colposcopy and 91 had a biopsy taken from the abnormal colposcopic area. In-service cytological slides were evaluated separately by two independent pathologists - intra laboratory control - and classified in accordance with the laboratory routine criteria. The author identified discordant results and these slides were reviewed for consensus. In a second step, all slides were read by a third pathologist from outside laboratory - inter laboratory control. DNA-HPV was classified as negative or positive for high- risk HPV types, and in positive cases the viral load was measured. Histology result or colposcopy without any abnormality and visible transformation zone totally ectocervical were used as gold standard for

diagnosis. The intra laboratory agreement rate was very good (kappa coefficient 0,6741), however inter laboratory agreement rate was poor (kappa coefficient 0,00734). To compare cytologic and hystologic results, cases with biopsy were considered. The sensitivity of out-service cytology for CIN 2 and 3 was 60%, and with the in-service cytology and second pathologist analyzes this value increase to 80%. The evaluation by and out-service pathologist showed a low sensitivity for CIN 2 and 3 (45%). High risk HPV-DNA CH II was positive in 85% of the women with CIN 2 and 3 ($p=0,02$). Accessing the accuracy of these diagnostic methods for detection of CIN 2 and 3, sensitivity and specificity of pathologist (1) and (2) cytology and CH II were higher than out-service and pathologist (3) cytological evaluation. The accuracy of the second and consensus cytologic interpretation was similar before and after consensus (likelihood ratio, between 4,22 and 5,92). CH II showed a low specificity (49%). Evaluating the accuracy of the association between cytology and CH II in CIN 2 and 3 detection the sensitivity increase (70 to 100%), the specificity decrease (80 for 40%). The likelihood ratio, fall for 5,92 to 2,33. No important difference was observed when these accuracy dates were corrected in cases without biopsy.

1. Introdução

O câncer do colo uterino é o segundo mais freqüente em mulheres no mundo, refletindo a prevalência dos fatores de risco e a falta ou ineficiência de programas de prevenção. Embora seja um tipo de câncer evitável, no Brasil é um importante problema de saúde pública, com mortalidade quase estacionária nas últimas décadas e projeções nada animadoras. Refletindo esta situação, há um aumento da incidência das lesões precursoras, principalmente em jovens, com conseqüente diminuição da faixa etária das mulheres com lesão invasora (SCHIFFMAN & BRINTON, 1995; KLIGERMAN, 1998; MORAES, 1998; SVARE et al., 1998).

Está bem estabelecido o papel do papilomavírus humano (HPV) como o principal fator promotor da neoplasia cervical. A relação entre o HPV e a carcinogênese está associada com o tipo viral (se alto ou baixo risco oncogênico), com a carga viral e com a sua persistência e integração no DNA da célula hospedeira. A infecção pelo HPV é a doença sexualmente transmissível mais freqüente na população geral, com uma prevalência de 20 a 40% entre as mulheres jovens sexualmente ativas, porém, entre as mulheres infectadas pelo

HPV de alto risco, apenas 10% a 25% desenvolvem neoplasias intra-epiteliais de graus 2 e 3 (NIC 2 e 3) e, menos de 1%, câncer invasor. A infecção aguda costuma ser transitória, com duração de seis a dez meses, período em que as lesões consideradas de baixo grau, HPV e neoplasia intra-epitelial grau 1 (NIC1), regridem espontaneamente em 70% a 90% dos casos. As evidências sugerem que a infecção pelo HPV é necessária, mas fatores adicionais devem estar envolvidos na progressão das lesões precursoras (HERRERO et al., 1990; CUZICK et al., 1994; SCHIFFMAN & BRINTON, 1995; HO et al., 1998; SOUTHERN & HERRINGTON, 1998).

O objetivo principal dos programas de prevenção do câncer cervical é reduzir a mortalidade e morbidade através da detecção das lesões precursoras, NIC, que são suspeitadas por métodos morfológicos e incluem a citologia, o exame clínico e a colposcopia, e confirmadas pela histologia. A colpocitologia oncológica é o método mais difundido mundialmente para rastreamento das lesões precursoras do câncer cervical. Desde sua introdução por George Papanicolaou na década de 40, uma significativa redução das taxas (>70%) de incidência e mortalidade por câncer de colo uterino foi alcançada (SYRJÄNEN & SYRJÄNEN, 2000).

Nos últimos 50 anos, a classificação dos resultados da colpocitologia oncológica (CO) sofreu muitas alterações, refletindo a evolução do conhecimento da história natural do câncer cervical e a importância da citologia como método de rastreamento nos programas de prevenção em vários países (SYRJÄNEN, 2000).

PAPANICOLAOU & TRAUT (1941) foram os primeiros a descrever os aspectos citológicos, normais e alterados, do colo uterino. Surgiu então a primeira classificação do resultado citológico, dividida em cinco classes: classe I, ausência de atipias celulares; classe II, atipias sem evidências de malignidade; classe III, atipias sugestivas de malignidade; classe IV, atipias fortemente sugestivas de malignidade; classe V, atipias conclusivas para malignidade (PAPANICOLAOU, 1963). Posteriormente, a classe III de Papanicolaou foi desmembrada em graus de displasia, através de uma adaptação da definição histológica para a classificação citológica. Subseqüentemente foi associada a essa classificação a nomenclatura criada por RICHART (1973) de neoplasia intra-epitelial cervical de grau 1 (NIC1), grau 2 (NIC2), e grau 3 (NIC3), correspondendo, respectivamente, à displasia leve, moderada e acentuada.

A necessidade de melhorar a correlação entre os achados histológicos com as alterações citológicas fez com que a *British Society for Clinical Cytology*, em 1986, criasse uma nova classificação baseada nas alterações celulares, e também, dividida em cinco categorias: 1) insatisfatória; 2) negativa; 3) alterações nucleares limítrofes sugerindo discariose leve; 4) células discarióticas: leve, moderada ou severa; e 5) células malignas sugestivas de câncer invasor escamoso ou adenocarcinoma (EVANS et al., 1986).

Um grupo de citologistas americanos do *National Cancer Institute*, em 1988, elaborou um sistema padrão de nomenclatura, atualmente utilizado, conhecido como o sistema de Bethesda. Essa nova classificação surgiu com os objetivos de reagrupar os novos conhecimentos, dar mais precisão na avaliação,

padronizar e facilitar a comunicação entre o laboratório e o clínico. Nesse sistema, as amostras dos esfregaços passaram a ser classificadas em satisfatórias ou não, surgiram as atipias de significado indeterminado de células dos epitélios escamoso (ASCUS) e glandular (AGUS), e uma divisão em dois grupos de lesões: lesões de baixo grau, compreendendo as alterações sugestivas de infecção pelo HPV e NIC1; e lesões de alto grau, compreendendo NIC2 e NIC3 (NATIONAL CANCER INSTITUTE WORKSHOP, 1989).

Entretanto, a CO vem sofrendo uma série de críticas nos últimos anos, devido às taxas de casos falso-negativos, que variam de 5% a 70%, e também de falso-positivos, entre 10% a 30%. Existem várias limitações comprovadas do método, como a possibilidade de amostra celular insuficiente, preparação inadequada dos esfregaços e leitura inadequada das lâminas. Questiona-se a subjetividade dos resultados citológicos e, conseqüentemente, o seu emprego (GAY, DONALDSON, GOELLNER, 1985; MITCHEL, MEDLEY, DRAKE, 1988; KOSS, 1989; FERENCZY et al., 1997;).

Estima-se que 20% dos resultados citológicos falso-negativos são devidos à falha na análise microscópica. Os estudos mostram uma grande variabilidade de discordância nos resultados citológicos entre diferentes observadores (10% a 100%). Conseqüentemente, têm-se criado categorias de alterações celulares correspondendo às diferentes fases evolutivas das lesões precursoras. As atipias discretas e as lesões consideradas de baixo grau são confusas em sua interpretação, sem precisão diagnóstica. Muitas vezes os processos inflamatórios e a metaplasia imatura geram confusão na interpretação.

Os números de falso-negativos e falso-positivos aumentam em pacientes com mais de 40 anos de idade. Nas citologias inconclusivas, admite-se que 40% a 80% das pacientes são submetidas a colposcopias desnecessárias (GAY et al., 1985; FRABLE, AUSTIN, GREENING, 1998; APGAR & BROTZMAN, 1999; MORIN et al., 2000).

Resultados promissores são demonstrados com avaliação de critérios morfológicos individuais para melhorar o desempenho do método de análise citológica, sem aumentar o custo. São analisados critérios morfológicos separadamente, alguns mais valorizados que outros, dando-lhes uma graduação. Procura-se correlacionar cada um desses critérios com a gravidade do diagnóstico histológico final (MORIN et al., 2000).

Diante desses dados, aumentou-se muito a preocupação com a garantia de qualidade dos laboratórios, intensificando melhorias nas técnicas de exame, nos critérios citológicos analisados e releitura de lâminas. Nos EUA foram estabelecidas normas com o objetivo de melhorar o desempenho dos laboratórios (FRABLE et al., 1998; VACHER-LAVENU, 2000). No Brasil ainda não existem regulamentações específicas, porém, a necessidade de um programa de controle de qualidade já é reconhecida pelas entidades da área (MENDONÇA, 1998).

Vários métodos de garantia de qualidade em diagnóstico citológico estão sendo avaliados. Dentre eles, sistemas automatizados para o reconhecimento de padrões citológicos que apresentem bons resultados, porém, são efetivos

somente para laboratórios de grande porte e sua utilização é restrita devido ao alto custo dos equipamentos e operacionalização (MELAMED, 1996; LINDER & ZAHNISER, 1998; VACHER-LAVENU, 2000).

Os sistemas de coleta de material em meio líquido têm reduzido erros de amostragem da CO, já que possibilitam homogeneização do material colhido e permitem amostragem uniforme. Ao invés de espalhar o material na lâmina, o mesmo é colocado em solução fixadora e as células são coletadas seletivamente em um filtro, sendo posteriormente transferidas para a lâmina. Essa técnica permite remover muco e hemáceas, melhorando a fixação e preservação da estrutura, facilitando a leitura. Porém, este método gera diferenças morfológicas que podem dificultar a leitura, exigindo um treinamento específico, além do maior custo (HUTCHINSON, 2000).

O método mais utilizado para controle de qualidade de exames citológicos é a revisão de 10% dos mesmos de forma randomizada; porém, parece não ser o mais eficaz para detectar lesões não diagnosticadas, além do tempo adicional despendido (MELAMED & FLEHINGER, 1992; FRABLE et al., 1998; LEMAY & MEISELS, 1999).

Alguns estudos recentes estão utilizando o método de revisão rápida de 100% dos exames citológicos negativos para reduzir os falso-negativos. Entre os métodos manuais de revisão, este é o que parece possuir melhor relação custo-benefício. Porém, este método exige grande experiência e agilidade do revisor (FRABLE et al., 1998; RENSHAW et al., 1998; LEMAY & MEISELS, 1999).

A utilização de testes de DNA-HPV tem sido muito estudada como método auxiliar para melhorar o desempenho no diagnóstico das lesões precursoras do câncer cervical. Estes testes, utilizando-se de metodologia biomolecular, têm sido empregados em pesquisas como métodos associados ao exame citológico ou até mesmo substituindo-o no rastreamento inicial. Estudos mostraram que o teste para detecção de DNA-HPV é mais sensível que a repetição da citologia para a detecção de lesões de alto grau (APGAR & BROZMAN, 1999; CLAVEL et al., 1999; MANOS et al., 1999; LIAW et al., 2000; MEIJER et al., 2000; MONSONEGO, 2000; VACHER-LAVENU, 2000).

Na tentativa de definir qual a evolução natural de determinada lesão, buscam-se marcadores como a detecção e tipagem do HPV, pois os métodos diagnósticos morfológicos não identificam o vírus, mas apenas seus efeitos citopáticos, não exclusivos. Os métodos biomoleculares são meios de detecção gênica, identificam o DNA viral através de reações de hibridização utilizando a especificidade das ligações químicas entre as seqüências conhecidas de ácidos nucléicos (sondas) e da amostra em teste. São considerados métodos de melhor desempenho para detecção do DNA-HPV. São realizados sob duas formas: 1) Identificação do ácido nucléico diretamente: Southern Blot, captura híbrida e hibridização *in situ*. 2) Amplificação dos ácidos nucléicos seguidos de identificação dos produtos: reação em cadeia de polimerase ou PCR (ALVES, 1996; LÖRINCZ, 1997).

A hibridização por Southern Blot era a considerada ideal, porém, mostrou-se útil apenas em pesquisa, principalmente pela demora para ser

executado. A hibridização *in situ* permite a localização tecidual do vírus, porém, sua sensibilidade é muito baixa, pois exige uma alta carga viral para uma boa visualização das reações. Já o PCR é o melhor e mais sensível método de detecção do DNA até o momento. Porém, apesar de detectar quantidades mínimas de DNA-HPV, o PCR disponível para aplicação clínica é um método semiquantitativo, de alto custo e que exige um laboratório adequado devido à alta taxa de contaminação do material com conseqüente comprometimento dos resultados (LIZARD et al., 1998; SYRJANEN & SYRJANEN, 2000).

Na última década foi introduzido um novo método de detecção viral, a captura híbrida (Digene Diagnostics Inc.), que foi desenvolvido por LÖRINCZ et al. (1992), com bons índices de sensibilidade e especificidade, realização das provas em cinco a seis horas e boa relação custo-benefício. Tem a vantagem de ser comercializado em forma de *kits* padrões. LÖRINCZ (1997) mostrou utilidade prática em mulheres com citologias sugestivas de NIC. O método baseia-se em uma reação de hibridização realizada entre diferentes tipos de soluções com sondas não-radioativas de ácidos ribonucléicos ou desoxirribonucléicos com amostras desnaturadas do DNA pesquisado. São utilizados dois tubos, um com sondas homólogas a genótipos de HPV de baixo risco oncogênico, como os tipos 6, 11, 42, 43 e 44, e outro tubo com sondas de genótipos de vírus de alto risco oncogênico, como os tipos 16, 18, 31, 33, 35, 45, 51, 52 e 56 (FERENCZY, 1995).

Neste método, chamado de captura híbrida I e realizado em tubos, sua sensibilidade variava entre 70% e 75%, sendo considerada baixa (LÖRINCZ,

1997; DERCHAIN et al., 1999). Atualmente, essa técnica foi aperfeiçoada, denominada de captura híbrida II (CH II), sendo realizada em microplacas semelhantes às reações imunoenzimáticas tipo Elisa, de procedimento rápido e leitura confiável, antecipando uma estratégica possibilidade de estudo de HPV em grandes amostras. Apresenta uma significativa diminuição do tempo de preparo, em torno de três horas, expressivo aumento da sensibilidade, próximo do PCR, e podendo ser realizada em aparelhos comumente utilizados na rotina dos laboratórios de patologia clínica. É quantitativo, identificando as cargas virais que são medidas em unidades relativas da luz (RLU) em um quimioluminômetro, sendo que a intensidade da luz é proporcional à carga de DNA-HPV. Ao *pool* de vírus originais, acrescentaram-se os tipos 39, 58, 59 e 60, de alto risco oncogênico. Com isso, a CH II pode detectar 99% dos tipos conhecidos de HPV considerados de alto risco oncogênico para o trato genital inferior. Alguns estudos demonstraram que este teste é capaz de detectar quantidades de DNA-HPV entre 0,2 a 1 pg HPV-DNA/ml. Embora não se saiba o ponto de corte da carga viral, alguns estudos mostram uma associação diretamente proporcional entre a carga viral e o grau de lesão cervical (CLAVEL et al., 1998; PEYTON et al., 1998).

Outros estudos, nos EUA, demonstraram melhor relação custo-benefício com o teste de detecção de HPV realizado através da CH II, comparado à CO, diminuindo as taxas de falso-negativos, com maior sensibilidade e valor preditivo negativo, reduzindo a necessidade de colposcopias e biópsias, e aumentando o intervalo de *screening*. Autores mostraram uma sensibilidade de

90% da CH II na detecção de lesões de alto grau comparado com 75% da citologia. Quando se obteve uma citologia negativa associada à CH II negativa, o valor preditivo negativo variou entre 97% e 100%. Porém, apenas 20% das mulheres infectadas pelo HPV de alto risco apresentam NIC, e a infecção é transitória em 80% dos casos. Isso significa sensibilidade desejada, porém, especificidade inaceitável, e a sua utilização como *screening* resultou em exames desnecessários. O valor preditivo do teste para *screening* é questionável (SEDLACEK et al., 1991; APGAR & BROTZMAN, 1999; CLAVEL et al., 1999; MANOS et al., 1999; MONSONEGO et al., 1999; LIAW et al., 2000; MEIJER et al., 2000; MONSONEGO, 2000; VACHER-LAVENU, 2000).

O Ministério da Saúde estabeleceu um protocolo de aguardar seis meses para repetir a CO nos casos de atipias indeterminadas ou de suspeita de lesão citológica de baixo grau, e encaminhar para colposcopia os casos suspeitos de alto grau (MORAES, 1997). Porém, ainda não existe um consenso em relação a esta conduta, devido aos questionamentos sobre a confiabilidade da CO e da situação epidemiológica da doença nos países em desenvolvimento (GAY et al., 1985; HERRERO et al., 1990; KLIGERMAN, 1998).

Frente a uma mulher com CO alterado, não está suficientemente claro qual seria o melhor caminho propedêutico: se realizar a colposcopia com biópsia dirigida; repetir a citologia ou aguardar; indicar ou não a revisão da CO; ou ainda acrescentar o teste biomolecular.

Ainda não se definiu a utilidade máxima dos métodos morfológicos e biológicos no diagnóstico das lesões cervicais iniciais. Falta definir o grau de confiabilidade no resultado da CO e o valor do controle de qualidade, e também mensurar o valor dos testes biomoleculares para detecção e tipagem do DNA-HPV no diagnóstico do grau da lesão cervical e ainda a associação da estimativa da carga viral com o grau da lesão intra-epitelial. Assim, este estudo foi projetado com o propósito de avaliar os métodos propedêuticos utilizados no diagnóstico das lesões precursoras do câncer cervical; e definir critérios para suas indicações, particularmente, a repetição da CO, a revisão dos esfregaços e a CH II.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Comparar a repetição da colpocitologia oncológica com leitura por diferentes observadores e a captura híbrida II no diagnóstico histológico de NIC 2 e 3 em mulheres com citologia inicial alterada.

2.2. Objetivos específicos

1. Avaliar a taxa de concordância interobservadores do mesmo laboratório no resultado citológico.
2. Avaliar a taxa de concordância interobservadores de laboratórios diferentes no resultado citológico.
3. Comparar os resultados citológicos de encaminhamento, do observador 1, do consenso, e do observador 3, com o diagnóstico histológico e com a detecção do DNA-HPV pela captura híbrida II.

4. Avaliar o papel da captura híbrida II para identificação e quantificação do DNA-HPV de alto risco oncogênico na determinação diagnóstica.
5. Comparar o desempenho das citologias e associação da captura híbrida II no diagnóstico histológico de NIC 2 e 3.

3. Sujeitos e Métodos

3.1. Tipo de estudo

Estudo de validação de teste diagnóstico

3.2. Seleção dos sujeitos

Para este estudo foram selecionadas 105 mulheres, atendidas consecutivamente no Ambulatório de Patologia do Trato Genital Inferior e Colposcopia do Hospital Universitário de Taubaté (HUT), entre agosto de 2000 e junho de 2001, por resultado de CO com atipias indeterminadas ou sugestivo de infecção pelo HPV e/ou NIC. Foram excluídas as mulheres grávidas, as com diagnóstico prévio de câncer do trato genital inferior e as que já tinham sido submetidas a tratamento para NIC e/ou infecção pelo HPV. O projeto foi aprovado pelas Comissões de Pesquisa e de Ética da Universidade de Taubaté e financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Todas as mulheres aceitaram participar do estudo, após consentimento livre e informado (Anexo 1).

3.3. Variáveis e conceitos

3.3.1. CO de encaminhamento

Foi utilizado o resultado do exame sem revisão, não sendo determinada a data de sua realização, e categorizado em: baixo grau, quando ASCUS, AGUS e sugestivo de infecção pelo HPV ou NIC 1; e alto grau, quando sugestivo de NIC 2 ou 3.

3.3.2. CO do observador 1

Resultado da repetição da CO, com leitura realizada pelo primeiro patologista, que foi o responsável pela rotina assistencial do serviço. Categorizado em: normal ou inflamatório; baixo grau, quando ASCUS, AGUS e sugestivo de infecção pelo HPV ou NIC 1; e alto grau, quando sugestivo de NIC 2 ou 3.

3.3.3. CO do observador 2

Resultado da revisão das lâminas da CO de repetição, com leitura realizada pelo segundo patologista, sem conhecimento do laudo do primeiro patologista. O resultado foi utilizado apenas para avaliar a variação dos resultados citológicos no mesmo laboratório e permitir um posterior consenso entre os dois patologistas. Categorizado em: normal ou inflamatório; baixo grau, quando ASCUS, AGUS e sugestivo de infecção pelo HPV ou NIC 1; e alto grau, quando sugestivo de NIC 2 ou 3.

3.3.4. CO do consenso

Resultado da revisão das lâminas da CO com laudos discordantes entre os dois primeiros patologistas, que emitiram um resultado final de consenso. Esta variável incluiu também os laudos concordantes e foi utilizada para avaliar o valor da revisão no mesmo laboratório, correlacionando com o diagnóstico histológico de NIC 2 e 3, e comparando com o desempenho do observador 1. Categorizado em: normal ou inflamatório; baixo grau, quando ASCUS, AGUS e sugestivo de infecção pelo HPV ou NIC 1; e alto grau, quando sugestivo de NIC 2 ou 3.

3.3.5. CO do observador 3

Revisão das lâminas da CO de repetição por um terceiro patologista, de outro laboratório, sem conhecimento dos laudos prévios, cujo resultado foi utilizado para avaliar a variação interlaboratorial. Categorizado em: normal ou inflamatório; baixo grau, quando ASCUS, AGUS e sugestivo de infecção pelo HPV ou NIC 1; e alto grau, quando sugestivo de NIC 2 ou 3.

3.3.6. Captura híbrida II

Categorizada em positiva ou negativa de acordo com a detecção do DNA-HPV de alto risco oncogênico (vide item 3.3).

3.3.7. Carga viral

Medida em unidades (*Relative Light Unit – RLU*) para quantificar o DNA-HPV nos casos de CH II positiva (vide item 3.3).

3.3.8. Diagnóstico histológico

Resultado da análise do material obtido por biópsia ou conização do colo uterino dirigida por colposcopia. Foi considerado o padrão-ouro. Categorizado em: colo normal e cervicite, agrupados na categoria sem lesão induzida por HPV; condiloma e NIC 1, agrupados na categoria NIC1; NIC 2 e NIC 3 agrupados na categoria NIC 2 ou 3 (vide item 3.4).

3.3.9. Diagnóstico colpo-histológico

Esta variável foi utilizada para estimativa da sensibilidade e especificidade, ditas corrigidas, através da inclusão na categoria sem lesão induzida por HPV da histologia descrita anteriormente, para os casos não biopsiados por apresentarem colposcopia satisfatória e normal.

3.4. Procedimentos utilizados para obtenção dos dados

Na primeira consulta, as mulheres responderam a um questionário e foram submetidas a exame clínico cuidadoso, com inspeção dos genitais externos e região perianal, na procura de lesões. A seqüência dos exames, realizada pelo pesquisador, obedeceu à seguinte ordem: coleta de material para colpocitologia oncológica, coleta de amostra para captura híbrida, colposcopia e biópsia dirigida, quando necessário. Após, os materiais das coletas foram enviados para o laboratório, e separados exclusivamente para a pesquisa. Todos os dados necessários à pesquisa foram anotados em uma ficha pré

codificada, especialmente desenhada para este estudo. Seu preenchimento foi realizado pelo pesquisador. As fichas pré-codificadas foram guardadas em um arquivo próprio para a pesquisa. Todos os resultados de exames foram anotados nas mesmas, à medida que foram disponibilizados. A seqüência dos exames é descrita detalhadamente a seguir.

3.4.1. Colpocitologia oncológica

A citologia foi colhida pelo pesquisador após controle de possíveis processos infecciosos. O esfregaço foi constituído de três amostras, representativas do fundo de saco vaginal, raspado ectocervical e endocervical. Foram utilizadas espátulas de Ayre e escovinhas para as coletas. O material foi estendido em lâminas de vidro, identificadas e fixadas rapidamente, evitando seu ressecamento.

As lâminas foram encaminhadas para o Laboratório de Citopatologia do HUT, juntamente com uma solicitação constando informações clínicas. As lâminas foram processadas na rotina do serviço e coradas pelo método de Papanicolaou. Cada lâmina foi examinada por dois patologistas, considerados observador 1 e 2, que separadamente, classificaram os resultados através do sistema *Bethesda* (NATIONAL CANCER INSTITUTE WORKSHOP, 1989), utilizado rotineiramente pelo laboratório e descrito no Quadro 1, e emitiram laudos individuais. O pesquisador conferiu os laudos e identificou os casos discordantes, reencaminhando os respectivos esfregaços para ambos patologistas que, após consenso, emitiram um laudo único.

A seguir, todas as lâminas foram enviadas para o Laboratório de Citopatologia do Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher (CAISM) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), onde outro patologista, chamado de observador 3, fez a leituras das lâminas, utilizando a mesma classificação anterior, sem conhecimento dos laudos prévios e dados clínicos.

QUADRO 1

CLASSIFICAÇÃO DO RESULTADO CITOLÓGICO UTILIZADO PELOS OBSERVADORES

Categorias	Descrição
Normal	ausência de alterações celulares.
Inflamatória	alterações celulares inflamatórias não-induzidas pelo HPV.
Atipias indeterminadas de células escamosas (ASCUS) ou glandulares (AGUS).	alterações celulares de caráter indeterminado, apresentando leves atipias inconclusivas.
Baixo grau (HPV/NIC 1)	presença de poucas células alteradas, mostrando apenas coilocitose e binucleação, predominando células superficiais, com pequeno aumento da relação núcleo-citoplasma, discreta hiper Cromasia e cromatina homogênea e finamente granular.
Alto grau (NIC 2 e 3)	Esfregaços com maior número de células ovóides, redondas, poligonais ou até fusiformes das camadas intermediária, basal ou parabasal, com núcleos alterados, maior relação núcleo-citoplasma, cromatina grosseira e perda da coesividade celular.
Invasor	Células isoladas, em placas ou rosetas, alongadas, descamação em fila indiana, aumento nuclear, hiper Cromasia acentuada, cromatina irregular, membrana nuclear espessa e irregular, e diátese tumoral.

❖ Adaptado do sistema *Bethesda* (NATIONAL CANCER INSTITUTE WORKSHOP, 1989)

Neste trabalho, para fins de análise, agruparam-se as categorias dos resultados citológicos, classificados pelo sistema *Bethesda*, da seguinte maneira:

QUADRO 2
CATEGORIAS DOS RESULTADOS CITOLÓGICOS NO TRABALHO

Categorias no trabalho	Resultados citológicos
Normal	Normal e inflamatório
Baixo grau	ASCUS, AGUS, HPV, NIC 1
Alto grau	NIC 2 ou 3
Câncer invasor	Câncer invasor

❖ MINISTÉRIO DA SAÚDE/INCA (BRASIL, 2000)

Essa mesma categorização dos resultados citológicos para análise estatística, foi utilizada pelo Ministério da Saúde e Instituto Nacional do Câncer (INCA) na avaliação do programa de combate ao câncer de colo uterino no Brasil, e é fundamentada em protocolo de condutas, estabelecido pelos mesmos, frente a esses resultados citológicos (BRASIL, 2000).

3.4.2. Captura híbrida II

O material para CH II foi obtido com a utilização de um cotonete estéril de dacron, próprio do *kit*, usado para coleta de células do orifício externo e interno do colo do útero, abrangendo a zona de transformação e ectocérvice. O

material foi transportado em meio adequado para evitar contaminação e processado pelo Laboratório de Marcadores Biológicos do CAISM, UNICAMP, segundo as instruções do fabricante, a *Digene Diagnostics Inc.*

Para classificar o resultado da captura híbrida II e quantificar a carga viral, utilizou-se a razão entre a unidade de quimioluminescência medida, *RLU*, e a média dos calibradores positivos, *cut off*, que tem uma variação e é definido conforme controle do dia. As amostras com emissão de luz maior que o ponto de corte foram consideradas positivas e aquelas com emissão de luz menor foram consideradas negativas. Nos casos positivos, foram identificadas as cargas virais medidas em *RLU* por um quimioluminômetro, sendo que a intensidade da luz é proporcional à carga de DNA-HPV. Neste estudo, utilizamos sondas contendo DNA-HPV dos tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 60, considerados de alto risco oncogênico (SUN et al.,1995; WRIGHT, SUN, KOULOS, 1995; LÖRINCZ et al., 1992).

3.4.3. Colposcopia e coleta de material para biópsia

O exame colposcópico foi realizado com aparelho da marca DF-Vasconcelos, modelo CP-M7 e seguiu os seguintes tempos:

- 1º) Limpeza das estruturas com soro fisiológico, com observação do colo uterino e vagina;
- 2º) Estudo da vascularização com filtro verde;

- 3º) Embrocação do colo e da vagina com solução de ácido acético a 3%, seguida de avaliação das imagens;
- 4º) Teste de *Schiller*, para aplicação de solução iodo-ioduretada;
- 5º) Biópsia dos aspectos alterados com pinça *Gaylor-Medina*.

A colposcopia foi caracterizada em satisfatória ou não, conforme a visualização total ou não da junção escamo-colunar, e isso direcionou a propedêutica complementar. Os aspectos colposcópicos encontrados foram classificados de acordo com a Nomenclatura Internacional dos Achados Colposcópicos. Sumariamente classificada em: normal, alterações menores, alterações maiores e suspeita de invasor (STAFIL & WILBANKS, 1991).

3.4.4. Diagnóstico histológico

A biópsia foi realizada sob visão colposcópica, sendo retiradas amostras das regiões anormais. As mulheres com colposcopia insatisfatória e/ou discordância citoistológica com suspeita de lesão de alto grau foram submetidas à biópsia cônica por cirurgia de alta frequência com alça. Não foi realizada biópsia nos casos de colposcopia satisfatória e normal.

O material obtido com a biópsia foi fixado em solução de formol a 10% e encaminhado para o Laboratório de Patologia para processamento pelo método de hematoxilina-eosina. Adotou-se a classificação da Organização Mundial da Saúde para diagnóstico histológico (SCULLY et al., 1994). Os resultados foram categorizados em: colo normal e cervicite, agrupados na categoria sem lesão

induzida por HPV; condiloma e NIC 1, agrupados na categoria NIC1; NIC 2 e NIC 3 agrupados na categoria NIC 2 ou 3. A histologia foi considerada o padrão-ouro.

3.5. Processamento de dados e análise estatística

Para registrar em computador os dados referentes às variáveis envolvidas neste estudo, utilizou-se o gerenciador de banco de dados *Excel*. Foram realizados: a revisão manual dos formulários, digitação dupla e programa para verificação de consistência lógica dos dados. Em seguida, o arquivo gerado foi transportado para o programa de computador *SAS* (*SAS Institute Inc.; Cary, NC*), que auxiliou na análise estatística. As taxas de concordância interobservadores, intra e interlaboratorial, foram estimadas pelo coeficiente *kappa* (LANDIS & KOCH, 1977), com seu respectivo intervalo de confiança de 95%, classificado segundo o quadro abaixo:

QUADRO 3
CATEGORIAS SEGUNDO O COEFICIENTE KAPPA

Coeficiente <i>kappa</i>	Categorias
Menor que zero	Péssimo
> 0 a 0,2	Mal
> 0,2 a 0,4	Razoável
> 0,4 a 0,6	Bom
> 0,6 a 0,8	Muito bom
> 0,8 a 1,0	Excelente

LANDIS & KOCH (1977)

Na comparação dos diagnósticos citológicos com o diagnóstico histológico foram estimados valores de sensibilidade para cada classificação citológica. Estas medidas são apresentadas também com seus intervalos de confiança de 95%, calculados pelo método exato. O resultado da citologia do observador 2 não foi comparado com o diagnóstico histológico, nem com a CH II, porque foi utilizado apenas para avaliar a discordância no mesmo laboratório e permitir o consenso para avaliar o valor da revisão de lâminas. A associação entre o resultado citológico e a positividade do DNA-HPV de alto risco oncogênico por CH II, assim como a correlação dessa positividade com o diagnóstico histológico, foram avaliadas pelo teste exato de Fisher, e razões de prevalência foram utilizadas para descrever as magnitudes destas associações em cada classificação histológica. Para associar a quantificação do DNA-HPV pela CH II com o diagnóstico histológico, foi utilizada a comparação entre as médias de *RLU* pelo teste *t* de Student com o respectivo desvio-padrão (AGREFTI,1990).

Para cálculo do desempenho dos exames no diagnóstico das lesões de alto grau, foi utilizada, neste trabalho, a seguinte categorização:

QUADRO 4
CATEGORIZAÇÃO DOS EXAMES PARA AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO

Exame	Negativo	Positivo
Citologia	Normal/inflamatória/ ASCUS/ AGUS/ baixo grau	Alto grau
Padrão-ouro = colpo-histológico	Normal/cervicite/ sem lesão induzida por HPV/condiloma e NIC 1	NIC 2 ou 3
Captura híbrida	Negativo	Positivo

Para o cálculo do desempenho da citologia associada à captura híbrida II, utilizou-se exame positivo quando pelo menos um resultado foi positivo, ou seja, CO e/ou captura positivos. O exame negativo significa que todos os resultados dos exames foram negativos, ou seja, CO e captura negativos.

Os desempenhos da CO e da detecção do DNA-HPV de alto risco oncogênico por CH II no diagnóstico de NIC 2 e 3, foram descritos por estimativas de sensibilidade e especificidade, tendo a histologia como padrão-ouro. Entretanto, casos sugestivamente sem lesão pela colposcopia não foram submetidos à biópsia, o que leva a uma superestimação da sensibilidade e a uma subestimação da especificidade. Este efeito é, na literatura, denominado tendenciosidade devido à verificação (BEGG, 1987) e correções devem ser introduzidas nas estimativas das medidas de desempenho. A correção utilizada seguiu a proposta de CHOI (1992). A utilidade prática do teste é descrita pela razão de verossimilhança positiva (RV+).

3.6. Aspectos Éticos

Os programas de controle de câncer cérvico-uterino têm, basicamente, duas formas de atuação: oferecer periodicamente a colpocitologia oncológica às mulheres e oferecer a propeidêutica complementar para o diagnóstico e tratamento das lesões neoplásicas cervicais pré-invasoras e invasoras. Esta pesquisa destinou-se a testar o desempenho dos métodos utilizados para diagnosticar a gravidade das lesões precursoras do câncer cervical selecionadas

por estes programas. Em relação à paciente não ofereceu riscos, pois seguiu o que já é preconizado pelos programas de prevenção do câncer cervical, não adicionando nenhuma propedêutica experimental. Esta investigação exigiu a colaboração da paciente que foi submetida aos exames ginecológicos no Ambulatório de Patologia Cervical do Hospital Universitário de Taubaté (exame físico, colpocitologia oncológica, captura híbrida II, colposcopia e biópsia dirigida). Estes exames não implicaram maiores riscos para a paciente, pois são procedimentos rotineiros e simples dentro da especialidade. O tratamento foi realizado conforme a necessidade de cada caso. A pesquisa manteve o anonimato da mulher e a aceitação da paciente em participar do estudo incluiu também o direito de ser tratada e seguida por outro ginecologista após o diagnóstico. A não-aceitação na participação do estudo não implicou que ela perdesse os direitos iniciais rotineiramente oferecidos pelo ambulatório. A participação da paciente foi realizada, exclusivamente, após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 2). Foram cumpridas as recomendações do *Guiding Medical Doctors in Biomedical Research Involving Human Subjects* da Declaração de Helsinki, com as diversas modificações já ocorridas (Declaração DE HELSINK, 1990). Também foi observada a Resolução 196/96 do Ministério da Saúde (Brasil, 1996).

4. Resultados

4.1. Avaliação da taxa de concordância interobservadores do mesmo laboratório no resultado citológico

A concordância entre os observadores 1 e 2 foi muito boa (coeficiente *kappa* 0,6741). A concordância absoluta ocorreu em 85 casos (81%), sendo a variação de mais ou menos um grau detectada em 16 casos (15%), e a divergência superior a um grau em 4 casos (4%). Pode-se observar na diagonal representada pelas caselas marcadas da TABELA 1, a concordância absoluta entre o diagnóstico dado pelos dois observadores em diferentes cortes.

TABELA 1
COMPARAÇÃO DO DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO
INTEROBSERVADORES NO MESMO LABORATÓRIO

Observador 2	Observador 1			
	Normal ou inflamatória	Baixo grau	Alto grau	Invasor
Normal ou inflamatória	9	4	0	0
Baixo grau	4	54	3	0
Alto grau	4	4	22	1
Invasor	0	0	0	0
TOTAL	17	62	25	1

Coeficiente *kappa* = 0,6741 IC 95% (0,5456 a 0,8025) (Landis & Koch, 1977)

❖ Foi desconsiderado para o cálculo do *kappa* o caso em que o patologista encontrou invasor

A concordância entre o observador 1 e o consenso foi muito boa (coeficiente *kappa* 0,7482). Pode-se observar na diagonal representada pelas caselas marcadas da TABELA 2, a concordância absoluta entre o diagnóstico do observador 1 e o resultante do consenso. A concordância absoluta ocorreu em 90 casos (86%), sendo a variação de mais ou menos um grau detectada em 13 casos (12%), e a divergência superior a um grau em 2 casos (2%). Portanto, a concordância absoluta e a discordância, quando considerada a variação de mais ou menos um grau, não se alteraram significativamente com o consenso (*kappa* entre 0,6 a 0,8), exceto quando considerada uma discordância com variação superior a um grau, em que foi observada uma redução.

TABELA 2
COMPARAÇÃO ENTRE O DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO DO
OBSERVADOR 1 E O CONSENSO

Consenso	Observador 1			
	Normal ou inflamatória	Baixo grau	Alto grau	Invasor
Normal ou inflamatória	9	2	0	0
Baixo grau	6	55	0	0
Alto grau	2	5	25	0
Invasor	0	0	0	1
TOTAL	17	62	25	1

Coeficiente *kappa* = 0,7482 IC 95% (0,6325 a 0,8639) (Landis & Koch, 1977)

❖ Foi desconsiderado para o cálculo do *kappa* o caso em que o patologista encontrou invasor

4.2. Avaliação da taxa de concordância interobservadores de laboratórios diferentes no resultado citológico

Houve uma péssima concordância interlaboratoriais entre o observador 3 e o consenso (*kappa* 0,0734), com uma discordância muito grande quando considerada uma variação de mais ou menos um grau. A concordância absoluta interlaboratoriais ocorreu em 40 casos (38%), sendo a variação de mais ou menos um grau detectada em 59 casos (56%), e a divergência superior a um grau em 6 casos (6%). Pode-se observar na diagonal representada pelas caselas marcadas da TABELA 3, a concordância absoluta entre o diagnóstico dado pelo observador 3 e o consenso.

TABELA 3
COMPARAÇÃO ENTRE O DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO DO OBSERVADOR 3 E O CONSENSO

Consenso	Observador 3			
	Normal ou inflamatória	Baixo grau	Alto grau	Invasor
Normal ou inflamatória	7	4	0	0
Baixo grau	37	24	0	0
Alto grau	5	18	9	0
Invasor	0	1	0	0
TOTAL	49	47	9	0

Coeficiente *kappa* = 0,0734 IC 95% (- 0,0531 a 0,1998) (Landis & Koch, 1977)

❖ Foi desconsiderado para o cálculo do *kappa* o caso em que o patologista encontrou invasor

4.3. Comparação entre os resultados citológicos de encaminhamento, do observador 1, do consenso e do observador 3, com o diagnóstico histológico e captura híbrida II

Para a comparação citoistológica foram considerados os 91 casos com biópsia. O diagnóstico citológico de encaminhamento foi concordante com o diagnóstico histológico em 70 casos (77%), como mostra a TABELA 4, sendo verdadeiramente positivo para lesão de baixo grau em 58 casos (sensibilidade de 86%), e para lesão de alto grau em 12 casos (sensibilidade de 60%). Foi falso-positivo em apenas 4 casos (4%) sem lesão histológica. Portanto, a citologia de encaminhamento apresentou alta taxa de falso-negativo para lesão cervical histológica de alto grau (40%).

TABELA 4
COMPARAÇÃO ENTRE O DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO DE
ENCAMINHAMENTO E O HISTOLÓGICO

CO de encaminhamento	Histológico			Se % (IC 95%)
	Normal ou inflamatório	HPV/NIC1	NIC 2 ou 3	
Baixo grau	2	58	8	86,6 (76,0 a 93,7)
Alto grau	2	9	12	60,0 (36,0 a 80,9)
TOTAL	4	67	20	-

Se = sensibilidade

IC = intervalo de confiança

O resultado citológico do observador 1 foi concordante com o diagnóstico histológico em 67 casos (74%), conforme mostra TABELA 5, sendo verdadeiramente positivo para lesão de baixo grau em 51 casos (sensibilidade de 76%), e para lesão de alto grau em 15 casos (sensibilidade de 75%). Esses dados mostram uma maior sensibilidade do resultado citológico do observador 1 em relação à citologia de encaminhamento para o diagnóstico de lesão cervical de alto grau, com uma redução da taxa de falso-negativo (40% para 25%).

TABELA 5
COMPARAÇÃO ENTRE O DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO DO
OBSERVADOR 1 E O HISTOLÓGICO

CO do observador 1	Histológico			Se % (IC 95%)
	Normal ou inflamatório	HPV/NIC1	NIC 2 ou 3	
Normal ou inflamatória	1	7	2	25,0 (0,6 a 80,6)
Baixo grau	2	51	3	76,1 (64,1 a 85,7)
Alto grau	0	9	15	75,0 (50,9 a 91,3)
Invasor	1	0	0	-
TOTAL	4	67	20	-

Se = sensibilidade

IC = intervalo de confiança

O resultado citológico de consenso (observadores 1 e 2) foi concordante com o diagnóstico histológico em 67 casos (74%), conforme mostra a TABELA 6, sendo verdadeiramente positivo para lesão de baixo grau em 50 casos (sensibilidade de 75%) e para lesão de alto grau em 16 casos (sensibilidade de 80%). Esses dados mostram um desempenho semelhante com o resultado citológico do observador 1, com pequena melhora da sensibilidade para o diagnóstico das lesões cervicais de alto grau. Não houve diferença estatística.

TABELA 6
COMPARAÇÃO ENTRE O DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO DO
CONSENSO E O HISTOLÓGICO

CO do consenso	Histológico			Se % (IC 95%)
	Normal ou inflamatório	HPV/NIC1	NIC 2 ou 3	
Normal ou inflamatória	1	3	2	25,0 (0,6 a 80,6)
Baixo grau	2	50	2	74,6 (62,5 a 84,5)
Alto grau	0	14	16	80,0 (56,3 a 94,3)
Invasor	1	0	0	-
TOTAL	4	67	20	-

Se = sensibilidade

IC = intervalo de confiança

O resultado citológico do observador 3 foi concordante com o diagnóstico histológico em 40 casos (44%), conforme mostra a TABELA 7, sendo verdadeiramente positivo para lesão de baixo grau em 30 casos (sensibilidade de 45%), e para lesão de alto grau em 9 casos (sensibilidade de 45%). Esses dados mostram uma sensibilidade baixa quando comparados aos resultados citológicos de encaminhamento, do observador 1 e do consenso.

TABELA 7
COMPARAÇÃO ENTRE O DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO DO
OBSERVADOR 3 E O HISTOLÓGICO

CO do observador 3	Histológico			Se % (IC 95%)
	Normal ou inflamatório	HPV/NIC1	NIC 2 ou 3	
Normal ou inflamatória	1	37	1	25,0 (0,06 a 80,6)
Baixo grau	3	30	10	44,8 (32,6 a 57,4)
Alto grau	0	0	9	45,0 (23,1 a 68,5)
TOTAL	4	67	20	-

Se = sensibilidade

IC = intervalo de confiança

Comparando o resultado da CO de encaminhamento com a CH II, como mostra a TABELA 8, observou-se que dos 56 casos com CH II positiva, 42 casos (75%), a CO diagnosticou como lesão de baixo grau, e dos 49 casos de CH II negativa, 10 casos (20,4%) a CO diagnosticou como lesão de alto grau. A quantificação da carga viral esteve proporcionalmente maior na CO de alto grau.

TABELA 8
COMPARAÇÃO ENTRE A CITOLOGIA DE ENCAMINHAMENTO E A CAPTURA HÍBRIDA II

CO de encaminhamento	Captura		Carga Viral	
	Negativo (n)	Positivo (n)	Média (RLU)	DP
Baixo grau	39	42	384,2	573,5
Alto grau	10	14	781,4	999,1
TOTAL	49	56		

teste exato de *Fisher*, $p = 0,65$

Comparando o resultado da CO do observador 1 com a CH II, observou-se que dos 56 casos com CH II positiva, a CO diagnosticou 6 casos (10,9%) como normal ou inflamatório, conforme mostra a TABELA 9. Entre os 49 casos com CH II negativa, a CO diagnosticou 5 casos (10,2%) como lesão de alto grau. A quantificação da carga viral esteve proporcionalmente maior na CO de alto grau. Não se considerou para essa análise um caso em que a CO sugeriu câncer, não confirmado pelo padrão-ouro histológico. Em relação à CO de encaminhamento, houve aumento da relação entre o diagnóstico de alto grau com a CH II positiva.

TABELA 9
COMPARAÇÃO ENTRE A CITOLOGIA DO OBSERVADOR 1 E A CAPTURA HÍBRIDA II

CO do observador 1	Captura		Carga Viral	
	Negativo (n)	Positivo (n)	Média (RLU)	DP
Normal ou inflamatório	11	6	455,5	770,28
Baixo grau	33	29	217,3	437,60
Alto grau	5	20	900,5	859,92
TOTAL	49	55		

teste exato de *Fisher*, $p < 0,01$

Comparando a CO de consenso com a CH II, dos 55 casos com CH II positiva, 5 casos (9,1%) a CO diagnosticou como normal ou inflamatória, como mostra a TABELA 10. Entre os 49 casos com CH II, a CO diagnosticou 8 casos (16,3%) como lesão de alto grau. A quantificação da carga viral esteve proporcionalmente maior na CO de alto grau. Não foi considerado para essa análise um caso em que a CO sugeriu câncer, não confirmado pelo padrão-ouro histológico. Em relação à CO do observador 1, antes da revisão de lâmina, observou-se relação semelhante entre o diagnóstico de alto grau com a CH II positiva.

TABELA 10
COMPARAÇÃO ENTRE A CITOLOGIA DE CONSENSO E A CAPTURA HÍBRIDA II

CO do consenso	Captura		Carga Viral	
	Negativo (n)	Positivo (n)	Média (RLU)	DP
Normal ou inflamatório	6	5	141,13	283,96
Baixo grau	35	26	236,44	458,61
Alto grau	8	24	841,30	861,97
TOTAL	49	55		

teste exato de *Fisher*, $p < 0,01$

Comparando a CO do observador 3, de laboratório diferente, com a CH II, observou-se que dos 55 casos com CH II positiva, 16 casos (28,6%), a CO diagnosticou como normal ou inflamatório, como mostra a TABELA 11. Entre os casos com CH II negativa, a CO não diagnosticou lesão de alto grau. A quantificação da carga viral esteve proporcionalmente maior na CO de alto grau. Comparando com a CO dos observadores do primeiro laboratório, observou-se com o observador 3, aumento do percentual de casos considerados normal ou infamatório com a CH II positiva, e entre os casos com CH II positiva, menor proporção de casos com diagnóstico de alto grau.

TABELA 11
COMPARAÇÃO ENTRE A CITOLOGIA DO OBSERVADOR 3 E A CAPTURA HÍBRIDA II

CO do observador 3	Captura		Carga Viral	
	Negativo (n)	Positivo (n)	Média (RLU)	DP
Normal ou inflamatório	33	16	40,0	61,95
Baixo grau	16	31	452,6	578,85
Alto grau	0	9	1378,5	976,20
TOTAL	49	56		

teste exato de *Fisher*, $p < 0,01$

4.4. Avaliar o papel da captura híbrida II para identificação e quantificação do DNA-HPV de alto risco oncogênico na determinação diagnóstica

Em 85% das mulheres com lesão cervical histológica de alto grau, a CH II foi positiva, contra apenas 51% das mulheres com lesão cervical histológica de baixo grau, conforme mostra a TABELA 12, com uma diferença estatisticamente significativa ($p= 0,02$).

TABELA 12
POSITIVIDADE DO DNA-HPV POR CAPTURA HÍBRIDA II
SEGUNDO O DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO

Diagnostico histológico	Captura		RP (IC 95%)
	Negativa	Positivo	
Normal ou inflamatório	2	2	Ref
HPV/NIC 1	33	34	1,0 (0,1 – 7,7)
NIC 2 e 3	3	17	5,7 (0,5 – 57,0)
TOTAL	38	53	-

Teste exato de *Fisher*, $p = 0,02$

RP = razão de prevalência

A quantificação do DNA-HPV de alto risco oncogênico pela CH II, medida em *RLU*, apresentou um aumento diretamente proporcional à gravidade da lesão cervical, como mostra a TABELA 13, estatisticamente significativa ($p < 0,01$).

TABELA 13
COMPARAÇÃO ENTRE A CARGA VIRAL MÉDIA MEDIDA NAS 53 MULHERES COM CAPTURA HÍBRIDA II POSITIVA E O DIAGNÓSTICO COLPO-HISTOLÓGICO

Diagnostico colpo Histológico	Carga viral (<i>RLU</i>)		
	(n)	Média	DP
HPV/NIC 1	34	3,9	(2,12)
NIC 2 e 3	17	6,1	(2,09)

teste *t* de *Student*, $p < 0,01$

RLU = unidade relativa da luz

4.5. Avaliação do desempenho dos resultados citológicos e da captura híbrida II no diagnóstico histológico de NIC 2 e 3

Avaliando o desempenho, isoladamente, das leituras citológicas e da CH II para a detecção de NIC 2 e 3, as taxas de sensibilidade do observador 1, do consenso e da CH II, foram maiores quando comparadas com a da citologia de encaminhamento e com a do observador 3, como mostra a TABELA 14. Não se observou diferença importante quando realizado o cálculo dessas taxas com correção, ou seja, incluindo os casos em que não houve biópsia. Já as taxas de especificidade foram mais altas com a citologia do observador 3 (100%) em relação às demais, e mais baixas com a CH II (49%). A razão de verossimilhança positiva foi menor com a CH II.

TABELA 14
AValiação do desempenho das leituras citológicas e da CH II isoladamente para a detecção das lesões histológicas de alto grau (NIC 2 e 3)

Exames	Histologia positiva		Histologia negativa		Sem biópsia	Se %	Se _{corr} %	Es %	Es _{corr} %	RV+
	VP	FN	VN	FP						
Citologia de encaminhamento	12	8	60	11	14	60	55	84	87	4,23
Citologia do observador 1	15	5	61	10	14	75	71	86	88	5,92
Citologia de consenso	16	4	56	15	14	80	76	79	82	4,22
Citologia do observador 3	9	11	71	0	14	45	41	100	100	*
Captura híbrida	17	3	35	36	14	85	81	49	57	1,88

VP = verdadeiro positivo; FN = falso negativo; VN = verdadeiro negativo; FP = falso positivo;
 Se = sensibilidade; Se_{corr} = sensibilidade corrigida; Es = especificidade; Es_{corr} = especificidade corrigida;
 RV+ = razão de verossimilhança positiva

* Razão de verossimilhança não estimada, Es = 100%

Avaliando o desempenho das leituras citológicas associadas a CH II para a detecção de NIC 2 e 3, houve um aumento das taxas de sensibilidade para todas as leituras citológicas, atingindo 100%, com exceção da leitura do observador 3, que atingiu 85%, como mostra a TABELA 15. Conseqüentemente, as taxas de especificidade diminuíram, com melhora após correção do cálculo, incluindo os casos sem biópsia. Mesmo assim, essas taxas foram baixas. A razão de verossimilhança positiva foi mais baixa com a associação da CH II, variando entre 1,8 e 2,3.

TABELA 15
AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DAS LEITURAS CITOLÓGICAS ASSOCIADAS A CH II
PARA A DETECÇÃO DAS LESÕES HISTOLÓGICAS DE ALTO GRAU (NIC 2 E 3)

Exames	Histologia positiva		Histologia negativa		Sem biópsia	Se %	Se _{corr} %	Es %	Es _{corr} %	RV+
	VP	FN	VN	FP						
Citologia de encaminhamento + CH	20	0	29	42	14	100	100	41	51	2,04
Citologia do observador 1 + CH	20	0	34	37	14	100	100	48	57	2,33
Citologia de consenso + CH	20	0	32	39	14	100	100	45	54	2,17
Citologia do observador 3 + CH	17	3	35	36	14	85	81	49	57	1,88

VP = verdadeiro positivo; FN = falso negativo; VN = verdadeiro negativo; FP = falso positivo;
 Se = sensibilidade; Se_{corr} = sensibilidade corrigida; Es = especificidade; Es_{corr} = especificidade corrigida;
 RV+ = razão de verossimilhança positiva

5. Discussão

Este estudo demonstrou que diante de uma CO alterada, é útil uma nova coleta, preferencialmente em serviço de referência, com leitura feita por um patologista experiente em patologia cervical e que tenha conhecimento dos dados clínicos, pois houve melhora na sensibilidade do método para diagnóstico de lesões cervicais histológicas de alto grau, quando comparado com a CO de encaminhamento. Em relação à revisão de lâmina, nossos resultados não mostraram vantagens na sua realização. Quanto à utilização de um método biomolecular, representado neste estudo pela CH II, detectando e quantificando o DNA-HPV de alto risco oncogênico, nossos resultados mostraram que sua utilização aumentou a sensibilidade da CO para o diagnóstico das lesões cervicais histológicas de alto grau, porém, diminuiu a especificidade e a razão de verossimilhança positiva.

Existe atualmente uma grande preocupação com a melhoria dos programas de rastreamento do câncer cervical, e também com a necessidade de se estabelecer um protocolo mais adequado para ser utilizado nos serviços de referência para patologia do colo uterino. As taxas de falso-negativos e falso-

positivos da citologia são muito altas. A discordância de dois ou mais graus entre citologia e biópsia terá repercussão no tratamento e seguimento dessas mulheres. Muitas delas procuram os serviços especializados devido a alterações citológicas e, após serem submetidas à investigação, não são constatadas lesões cervicais significativas. Isso é explicado pela variabilidade dos resultados citológicos e conseqüente questionamento do desempenho deste método. Ao mesmo tempo, a falta de definição quanto ao melhor caminho propedêutico deixa profissionais da saúde e mulheres apreensivos, com dúvidas quanto ao subdiagnóstico e ao superdiagnóstico, utilizando-se procedimentos desnecessários (MITCHEL et al., 1988; KOSS, 1989; FERENCZY et al., 1997; FRABLE et al., 1998).

Em nosso estudo, a elevada taxa de concordância intralaboratorial dos resultados citológicos no serviço de referência (81%) e os desempenhos dos mesmos, antes e após revisão para consenso, quando comparados ao diagnóstico histológico de NIC2 e 3 (sensibilidade de 75% e 80%), não justificaram a revisão da lâmina. Quando comparado com a CO de encaminhamento, a repetição da citologia no setor de referência diminuiu as taxas de falso-negativos (40% para 25%) para o diagnóstico histológico de NIC 2 e 3. Isso pode ser explicado pelo maior rigor na técnica metodológica da CO nos serviços de referência, diminuindo os erros de amostragem, de leitura e interpretação, que conforme alguns estudos, estão diretamente relacionados com o desempenho da CO (GAY et al., 1985; MITCHEL et al., 1988; MENDONÇA, 1998; VACHER-LAVENU, 2000).

Em relação à avaliação interlaboratorial da leitura citológica para a baixa concordância (38%) com o terceiro observador, e baixa sensibilidade (45%) no diagnóstico histológico de NIC 2 e 3, algumas hipóteses podem ser levantadas: a falta do conhecimento dos dados clínicos pelo patologista, a realização de leitura rápida e a utilização de critérios morfológicos diferentes entre os laboratórios. A literatura mostra taxas de concordância semelhantes (FRABLE et al., 1998; APGAR & BROTZMAN, 1999; MORIN et al., 2000).

Analisando a maior concordância e o melhor desempenho dos resultados citológicos obtidos no serviço de referência, intralaboratorial, em comparação com os resultados da CO de encaminhamento e da leitura interlaboratorial, evidenciados neste estudo, acreditamos nas seguintes justificativas: maiores cuidados técnicos, da coleta à fixação; leituras realizadas por patologistas do setor, habituados com esse tipo de patologia, que pelo fato de trabalharem juntos, utilizam critérios semelhantes para análise; conhecimento dos dados clínicos das mulheres; leitura da citologia realizada por citotécnicos na rotina habitual dos laboratórios, que encaminham para o patologista apenas as lâminas que julgam alteradas e uma pequena porcentagem das lâminas normais; e também o tempo entre a CO de encaminhamento e de repetição, que não foi controlado em nosso estudo.

Como o padrão-ouro de nosso estudo foi a histologia, que foi analisada pelo primeiro patologista, responsável pela parte assistencial do serviço de referência, existe a possibilidade de uma tendenciosidade quanto à avaliação do desempenho dos resultados citológicos. E por isso, comparamos também os

resultados citológicos com a CH II, independentemente do diagnóstico histológico. Foi uma forma de avaliarmos as citologias sem essa possível tendenciosidade. E os resultados obtidos mostraram aumento da relação entre o diagnóstico citológico de alto grau e a CH II positiva na CO de repetição analisada no primeiro laboratório, quando comparado ao da CO de encaminhamento. Em relação à CO de repetição analisada no outro laboratório, observamos aumento do percentual de casos considerados normal ou infamatório com a CH II positiva, e entre os casos com CH II positiva, menor proporção de casos com diagnóstico de alto grau. A quantificação da carga viral esteve proporcionalmente maior na CO com diagnóstico de alto grau de todos observadores.

A utilização da CH II para detecção do DNA-HPV de alto risco oncogênico com quantificação viral, realizada no setor de referência, aumentou a sensibilidade para o diagnóstico das lesões de alto grau (85% e 100%, isoladamente e associada à CO respectivamente), aumentando o verdadeiro positivo e diminuindo o falso-negativo. Simultaneamente, houve queda da especificidade (em torno de 40%) comparando-se com as leituras citológicas. Esses dados corroboram com alguns estudos recentes (CLAVEL et al., 1999; MANOS et al., 1999; MONSONEGO et al., 1999; LIAW et al., 2000; MEIJER et al., 2000; MONSONEGO, 2000).

Como se trata de um estudo de validação de testes diagnósticos, algumas considerações precisam ser feitas. As análises estatísticas para comparar o desempenho dos métodos diagnósticos são relativamente recentes, e devem

ser interpretadas com cautela. Para verificarmos a validade de um teste, precisamos compará-lo com meios precisos (padrão-ouro) de saber se a condição (doença) existe. Em patologia cervical, o diagnóstico considerado padrão-ouro é o histológico, do qual existe uma variabilidade de interpretação (ISMAIL et al., 1989; KOSS, 1989). Além disso, não faz sentido fazer biópsia indiscriminadamente, e com isso, surgem as limitações desses tipos de estudos. Primeiramente, quando biopsiamos é porque já temos uma citologia alterada e, portanto, uma amostra populacional com maior prevalência da condição em estudo. Isso pode nos levar a resultados perigosos para generalizar. KOSS (1989) critica essa forma de controle da citologia.

O raciocínio clínico diante de um teste é saber qual a probabilidade de doença. Para isso, utiliza-se o valor preditivo, que considera sensibilidade e especificidade de um teste, avaliando seu desempenho. Porém, o processo diagnóstico implica comparação de uma probabilidade pré e pós-teste. E conforme referido acima, a prevalência da condição em estudo impõe limitações na interpretação dos cálculos para avaliar o desempenho dos testes. Dependerá de qual população o teste será aplicado. E por esse motivo, na avaliação do desempenho dos testes, utilizamos em nosso estudo a razão de verossimilhança positiva, que é uma forma de medirmos esse desempenho sem a influência da prevalência. A $RV+$ compara doentes com não doentes, é uma forma de avaliarmos a utilidade prática do teste, contém informações sobre a sensibilidade e especificidade, e indica em quanto um determinado resultado

aumentará a probabilidade pré-teste da doença (JAESCHKE, GUYATT, SACKETT, 1994a.; 1994b).

Nesse estudo, utilizamos também a sensibilidade e especificidade corrigidas, ou seja, incluindo também os casos supostamente normais pela colposcopia e que não foram biopsiados. Com isso, evitamos a tendenciosidade (BEGG, 1987).

Esses resultados podem contribuir para melhorar o conhecimento sobre a utilidade dos métodos morfológicos e biomoleculares na propedêutica em patologia cervical. Foi definida a confiabilidade da CO a partir de sua repetição em serviço referenciado, com metodologia técnica respeitada, da coleta à fixação, com leitura feita por patologista familiarizado com patologia cervical, e a importância do conhecimento dos dados clínicos. Foi também analisada a utilização da CH II na detecção do DNA-HPV de alto risco oncogênico, que quando associada à CO, aumenta a sensibilidade, porém, diminui a especificidade e a razão de verossimilhança positiva.

Acreditamos que um maior número de casos com o seguimento dos mesmos nos permitirá maior análise desses achados e melhor entendimento sobre a história natural das lesões precursoras do câncer cervical, definindo o papel do teste biomolecular como fator prognóstico ou não, e os possíveis cofatores envolvidos na evolução das lesões. Este estudo já está em andamento, sendo uma continuação deste trabalho, e esperamos no futuro próximo, apresentar seus resultados.

6. Conclusões

1. A elevada concordância interobservadores dentro de um serviço de referência não justifica a necessidade de uma segunda leitura para um possível consenso na avaliação de mulheres com CO alterada.
2. A baixa concordância interlaboratorial demonstra uma subjetividade da leitura citológica, quando avaliados apenas os critérios morfológicos e sem dados clínicos.
3. Os desempenhos das citologias de encaminhamento, do observador 1 e do consenso, foram semelhantes, mostrando uma boa concordância com o diagnóstico histológico final. Ao contrário, a leitura do observador 3 mostrou uma sensibilidade inferior, não justificando a utilidade da avaliação interlaboratorial. Repetir a citologia no serviço de referência mostrou ser útil, já que este resultado citológico melhorou a sensibilidade para o diagnóstico histológico de NIC 2 e 3. Não foram demonstradas vantagens de se fazer a segunda leitura para possível consenso. Os resultados citológicos

sugestivos de alto grau estão fortemente associados com o DNA-HPV de alto risco oncogênico e com maior carga viral.

4. A CH II positiva para o DNA-HPV de alto risco oncogênico e com maior carga viral está fortemente associado à gravidade da lesão cervical histológica. Há aumento da sensibilidade quando utilizada em associação com a citologia, diminuindo o falso-negativo e a queda da especificidade, com altas taxas de falso-positivo.

5. Colher uma nova citologia em um serviço de referência, lida apenas por um observador, que seja um patologista, e com conhecimento dos dados clínicos, mostrou-se com desempenho adequado para iniciar a avaliação das mulheres com uma primeira citologia alterada. Não houve melhora do desempenho que justifique a utilização de uma segunda leitura para consenso, muito menos uma avaliação interlaboratorial. A associação da CH II para detecção do DNA-HPV de alto risco oncogênico aumentou a sensibilidade da citologia para diagnóstico das lesões cervicais histológicas de alto grau, e diminuiu a especificidade, com queda da razão de verossimilhança positiva.

7. Referências Bibliográficas

AGREFTI, A. - **Categorical data analysis**. John-Wiley, New York,1990. 558p.

ALVES, V.A.F. - Hibridização molecular de ácido nucleico para detecção de DNA de papilomavírus. In: XII CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE CITOPATOLOGIA, LIBRO DE RESUMENES,1996. v.2 p.63-70.

APGAR, B.S. & BROTZMAN, G. – HPV testing in the evaluation of the minimally abnormal papanicolaou smear. *Am. Fam. Physician*, **15**:2794-801, 1999.

BEGG, C.B. - Bases in the assessment of diagnostic tests. *Statist. Med.* **6**:411-23, 1987.

BRASIL. Ministério da Saúde/Conselho Nacional de Saúde – Resolução 196/96 sobre pesquisa envolvendo seres humanos. *Bioética*, **4(supl. 2)**:15-25, 1996.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Assistência à Saúde. Instituto Nacional do Câncer. **Estimativas da incidência e mortalidade por câncer no Brasil 2000**. Rio de Janeiro, 2000. 75p.

- CHOI, B.C.K. – Sensitivity and specificity of single diagnostic test in decrease of. Work-up bias. *J. Clin. Epidemiol.*, **45**:581-6, 1992.
- CLAVEL, C.; MASSURE, M.; PUTAUD, I.; THOMAS, K.; BORY, J.P.; GABRIEL, R.; QUEREUX, C.; BIREMBAUT, P. – Hybrid capture II, a new sensitive test for human papillomavirus detection. Comparison with hybrid capture I and PCR results in cervical lesions. *J. Clin. Pathol.*, **51**:737-40, 1998.
- CLAVEL, C.; MASSURE, M.; BORY, J.P.; PUTAUD, I.; MANGEONJEAN, C.; LORENZATO, M.; GABRIEL, R.; QUEREUX, C.; BIREMBAUT, P. - Hybrid capture II-based human papillomavirus detection, a sensitive test to detect in routine high-grade cervical lesions: a preliminary study on 1518 women. *Br. J. Cancer*, **80**:1306-11, 1999.
- CUZICK, J; TERRY, G; HO, L; HOLLINGWORTH, T; ANDERSON, M - Type-specific human Papillomavirus DNA in abnormal smears as a predictor of high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Br. J. Cancer*, **69**:167-71, 1994.
- DECLARAÇÃO DE HELSINKI - Recomendaciones para guiar los medicos en la investigacion biomedica en seres humanos- *Bol. Of. Sanit. Panam.* **108** (5-6):626-37, 1990.
- DERCHAIN, S.F.M.; ROTELI-MARTINS, C.M.; SYRJANEN, K.J.; ABREU, H.J.; MARTINEZ, E.Z.; ALVES, V.A.F. - Association of oncogenic human papillomavirus (HPV) DNA with high-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN 2 ou 3): the role of cigarette smoking. *Sex. Trans. Inf.*, **75**:406-8, 1999.

EVANS, D.M.; HUDSON, E.A.; BROWN, C.L.; BODDINGTON, M.M.; HUGHES, H.E.; MACKENZIE, E.F.; MARSHALL, T. - Terminology in gynaecological cytopathology: report of the working party of the British Society for Clinical Cytology. *J. Clin. Pathol.*, **39**:933-44, 1986.

FERENCZY, A. Viral testing for genital human papillomavirus infections: recent progress and clinical potentials. *Int. J. Gynecol. Cancer*, **5**:321-8, 1995.

FERENCZY, A.; KOSS, L.; SHERMAN, M.; McGOOGAN, E.; HAKAMA, M.; MONSONEGO, J. – Cervical pap smears: advantages, limitations and optimization. In: MONSONEGO, J. E. & FRANCO, E. (eds). Eurogyn-Who International joint meeting. **Cervical cancer control, general statements and guidelines**, 1997. p.20-3.

FRABLE, W.J.; AUSTIN, R.M.; GREENING, S.E. - **Medicolegal affairs**: iac task force summary. *Acta Cytol.*, **42**:76-132, 1998.

GAY, J.D.; DONALDSON, L.D.; GOELLNER, J.R. - False-negative results in cervical cytology studies. *Acta Cytol.*, **29**:1043-6, 1985.

HERRERO, R.; BRINTON, L.A.; REEVES, W.C.; BRENES, M.M.; TENORIO, F.; BRITTON, R.C.; GAITÁN, E.; MONTALVÁN, P.; GARCIA, M.; RAWLS, W.E. - Risk factors for invasive carcinoma of the uterine cervix in Latin America. *Bull. Pan. Am. Health Organ.*, **24**:263-6, 1990.

HO, G.Y.F.; KADISH, A.S.; BURK, R.D.; BASU, J.; PALAN, P.R.; MIKHAIL, M. – HPV 16 and cigarette smoking as risk factors for high-grade cervical intra-epithelial neoplasia. *Int. J. Cancer*, **78**:281-5, 1998.

HUTCHINSON, M.L. - Liquid based thinprep 2000 cytology improves screening accuracy and specimen adequacy. *CME J. Gynecol. Oncol.*, **5**:21-5, 2000.

ISMAIL, S.M.; COLCLOUGH, A.B.; DINNEN, J.S.; EAKINS, D.; EVANS, D.M.; GRADWELL, E. - Observer variation in histopathological diagnosis and grading of cervical intraepithelial neoplasia. *Br. Med. J.*, **298**:707-10, 1989.

JAESCHKE, R.; GUYATT, G.H.; SACKETT, D.L. - User's guides to the medical literature. III. How to use an article about a diagnostic test. A. Are the results of the study valid? *JAMA*, **271**:389-91, 1994a.

JAESCHKE, R.; GUYATT, G.H.; SACKETT, D.L. - User's guides to the medical literature. III. How to use an article about a diagnostic test. B. What are the results and will help me in caring for my patients? *JAMA*, **271**:703-7, 1994b.

KLIGERMAN, J. - A assistência oncológica no SUS. *Rev. Bras. Cancerol.*, **44**:6-9, 1998.

KOSS, L.G. - The Papanicolaou test for cervical cancer detection. A triumph and a tragedy. *JAMA*, **261**:737-43, 1989.

LANDIS, J.R.; KOCH, G.C. - The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*, **33**:159-74, 1977.

LEMAY, C. & MEISELS, A. - 100% rapid (partial) rescreening for quality assurance. *Acta Cytol.*, **43**:86-8, 1999.

- LIAW, K.L.; SCHIFFMAN, M.H.; COPE, J.U.; GLASS, A.G.; MANOS, M.M.; SHERMAN, M.E.; BURK, R.D.; HILDESSHEIN, A.; LORINCZ, A.T. - Update on recent clinical studies using HPV testing for screening and diagnosis of cervical neoplasia. **CME J. Gynecol. Oncol.**, 5:41-4, 2000.
- LINDER, J. & ZAHNISER, D. - ThinPrep Papanicolaou testing to reduce false-negative cervical cytology. **Arc. Pathol. Lab. Med.**, 122:139-44, 1998.
- LIZARD, G.; ROIGNOT, P.; BRUNET-LECOMTE, P.; CHARDONNET, Y. - Morphological analysis of in situ hybridization signals in cervical intraepithelial neoplasia containing human papillomavirus type 16 or 18: relationship with histological grade and DNA content. **Cytometry**, 34:180-6, 1998.
- LÖRINCZ, A.R.; REID, R.; JENSON, A.B.; GREENBERG, M.D.; LANCASTER, W.; KURMAN, R.J. - Human papillomavirus infection of the cervix: relative risk associations of 15 common anogenital types. **Obstet. Gynecol.**, 79:328-37, 1992.
- LÖRINCZ, A.T - Methods of DNA hybridization and their clinical applicability to human papillomavirus detection. In: FRANCO, E. & MONSONEGO, J. - **New developments in cervical cancer screening and prevention.** Blackwell Science, 1997. p.325-37.
- MANOS, M.; KINNEY, W.; HURLEY, L.B.; SHERMAN, R.J. - Utility of HPV DNA testing and liquid-based cytology in the triage of women with mild pap abnormalities. **JAMA**, 281:1605-10, 1999.

- MEIJER, C.J.L.M.; ROZENDAAL, R.; VERHEIJEN, R.M.; WALBOOMERS, J.M.M. - Clinical role of HPV testing. **CME J. Gynecol. Oncol.**, 5:26-9, 2000.
- MELAMED, M.R. & FLEHINGER, B.J. - Reevaluation of quality assurance in the cytology laboratory. **Acta Cytol.**, 36:461-5, 1992.
- MELAMED, M.R. - Rescreening for quality control in cytology. **Acta Cytol.**, 40:2-3, 1996.
- MENDONÇA, C.R.L. - **Boas práticas em laboratório clínico**. Rio de Janeiro, Eventos de Teresópolis, 1998. 127p.
- MITCHEL, H.; MEDLEY, G.; DRAKE, M. - Quality control measures for cervical cytology laboratories. **Acta Cytol.**, 32:288-92, 1988.
- MONSONEGO, J.; SEMAILLE, C.; BEUMONT, M.; DACHEZ, R.; ZÉRAT, L.; BIANCH, A.; MALKIN, J.E. - Prediction of CIN by hybrid capture II HPV DNA testing. **Personal Comm.**, 1999.
- MONSONEGO, J. – Role of HPV testing in secondary and primary screening of cervical neoplasia. **CME J. Gynecol. Oncol.**, 5:64-5, 2000.
- MORAES, M.F. - Programa viva mulher. **Rev. Bras. Cancerol.**, 43:6-9, 1997.
- MORAES, M.F. - Estimativa da incidência e mortalidade por câncer no Brasil em 1998. **Rev. Bras. Cancerol.**, 44:6-7, 1998.

MORIN, C.; BAIRATI, I.; BOUCHARD, C.; FORTIER, M.; ROY, M.; MOORE, L.; MEISELS, A. - Cytologic predictors of cervical intraepithelial neoplasia in women an ASCUS pap smear. **Acta Cytol.**, **44**:576-86, 2000.

NATIONAL CANCER INSTITUTE WORKSHOP – The 1988 Bethesda system for reporting cervical/vaginal cytologic diagnoses. **J. Reprod. Med.**, **34**:778-9, 1989.

PAPANICOLAOU, G.N. - **Atlas of exfoliative cytology**. The Commonwealth Fund. Cambridge, MA. Harvard University Press, 1963.

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

PEYTON, C.L.; SCHIFFMAN, M.; LÖRINGZ, A.T.; HUNT, W.C.; MIELZYNSKA, I.; BRATTI, C.; EATON, S.; HILDESHEIM, A.; MORERA, L.A.; RODRIGUEZ, A.C.; HERRERO, R.; SHERMAN, M.E.; WHEELER, C.M. - Comparison of PCR- and hybrid capture-based human papillomavirus detection systems using multiple cervical specimen collection strategies. **J. Clin. Microbiol.**, **36**:3248-54, 1998.

RENSHAW, A.A.; BELLEROSE, B.; DINISCO, A.S.; MINTER, L.J.; LEE, K.R. - False negative rate of cervical cytology smear screening as determined by rapid recreening. **Acta Cytol**, **43**:344-50, 1998.

RICHART, R.M. - Cervical intraepithelial neoplasia. **Pathol Annu.**, **8**:301-28, 1973.

SAS Institute Inc. **SAS/STAT software changes and enhancements though release 6.11**. Cary, NC: SAS Institute, Inc.

- SCHIFFMAN, M.H. & BRINTON, L.A. - The epidemiology of cervical carcinogenesis. *Epidemiol. Biostat. Progr.*, **76(Suppl.10)**:1888-901, 1995.
- SCULLY, R.E.; BONFIGLIO, T.A.; KURMAN, R.J.; SILVERBERG, S.G.; WILKINS, E.J. - Histological typing of female genital tract tumors. – **World Health Organization** – International histological classification of tumors, 2th Ed., - 1994 Springer-Verlag, Berlin.
- SEDLACEK T.V.; SEDLACEK A.E.; NEFF, D.K.; RANDO, R.F. - The clinical role of human papillomavirus typing. *Gynecol. Oncol.*, **42**:222-6, 1991.
- SOUTHERN, A.S. & HERRINGTON, C.S. - Molecular events in uterine cervical cancer. *Sex. Transm. Infect.*, **74**:101-9, 1998.
- STAFI, A. & WILBANKS, G.D. - An international terminology of colposcopy: report of the Nomenclature Committee of the International Federation of Cervical Pathology and Colposcopy. *Obstet. Gynecol.*, **77**:313-4, 1991.
- SUN, X.W.; FERENCZY, A.; JOHNSON, D.; KOULOS, J.P.; LUNGUN, O.; RICHART, R.M.; WRIGHT, T.C. - Evaluation of the hybrid capture human papillomavirus deoxyribonucleic acid detection test. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **173**:1432-7, 1995.
- SVARE, E.I.; KJAER, S.K.; SMITS, H.L.; POLL, P.; TJONG-A-HUNG, S.P.; TER-CHEGGET, J. - Risk factors for HPV detection in archival Pap smears. A population-based study from Greenland and Denmark. *Eur. J. Cancer*, **34**:1230-4, 1998.

SYRJÄNEN, K.J. - Terminology used in cytopathology. ***CME J. Gynecol. Oncol.***, 5:12-7, 2000.

SYRJÄNEN, K.J. & SYRJÄNEN, S.M. - **Papillomavirus infections in human pathology**. Chichester, John Wiley & Sons LTD, 2000. 615p

VACHER-LAVENU, M.C. - Quality criteria of the pap smear. ***CME J. Gynecol. Oncol.***, 5 :18-20, 2000.

WRIGHT, T.C.; SUN, X.W.; KOULOS, J. - Comparison of management algorithms for the evaluation of women with low-grade cytologic abnormalities. ***Obstet. Gynecol.***, 85:202-10, 1995.

8. Bibliografia de Normatizações

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

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

Normas e procedimentos para publicação de dissertações e teses. Faculdade
de Ciências Médicas, UNICAMP. Ed. SAD - OF. CIR/ PRPG/06/95 -
Normas ABNT. 1995. 8p.

9. Anexos

9.1. ANEXO 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, Sra _____, atendida no Setor de Patologia Cervical do Hospital Universitário de Taubaté, fui convidada a participar de uma pesquisa porque o resultado do meu exame preventivo mostrou alterações que podem levar ao câncer do colo do útero. Essa pesquisa tem como objetivo investigar as possíveis causas que levam à esse tipo de câncer e dessa forma ajudar a evitar essa doença. Sei que responderei a um questionário sobre informações pessoais, mas meu nome e endereço não serão divulgados, constarão somente no meu prontuário, pois a ficha da pesquisa terá apenas números de série. Essa ficha ficará de posse dos médicos responsáveis pela pesquisa: André Luis Ferreira Santos e Sophie Françoise Mauricette Derchain.

Sei que serei submetida à uma investigação que é necessária para esclarecer as alterações encontradas no meu exame preventivo e receber o tratamento que for preciso. Essa investigação consta de novo preventivo, e da mesma forma, será

colhida secreção para descobrir se existe algum vírus que possa estar relacionado com o meu problema, exame este chamado de captura de híbridos. Será realizado também a colposcopia, na qual o médico vai olhar o colo do meu útero com lente de aumento, e caso seja encontrada alguma alteração, essa será biopsiada, ou seja, retirado um pedaço muito pequeno para saber com certeza o que eu tenho. Essa biópsia é feita no ambulatório, é simples, não dói e o máximo que pode causar é um pequeno sangramento, que logo pára. Caso seja descoberto que eu tenho uma alteração mais grave, ou seja, maior possibilidade de transformar-se em câncer, serei submetida a uma retirada de pedaço maior, feito com anestesia local para que eu não sinta dor. Esse procedimento também é simples, normalmente feito no ambulatório, e às vezes pode causar um sangramento maior, porém caso isso ocorra, serei tratada com segurança, pois estarei no hospital com médicos capacitados para resolver o problema.

Todos estes exames estão indicados para o esclarecimento, diagnóstico e tratamento de possíveis lesões do colo do útero que podem estar presentes em casos como o meu. Não serei submetida a exames desnecessários, tudo será feito como normalmente se faz, de acordo com os programas de prevenção do câncer do colo do útero, e tratamento adequado. O tratamento será realizado de acordo com a necessidade do meu caso, independente da pesquisa. Após o diagnóstico e tratamento inicial, deverei retornar em intervalos de mais ou menos 6 meses para acompanhamento e controle do meu problema, quando responderei a algumas perguntas e serei submetida aos mesmos exames já realizados. Isso tudo faz parte dos programas para prevenção do câncer e consta nessa pesquisa.

Fui esclarecida quanto ao meu direito de não participar da pesquisa ou sair em qualquer momento, e de ser atendida no ambulatório sempre que necessário e tratada

da mesma forma. Em caso de dúvidas ou esclarecimentos, tenho o direito de telefonar para o Dr. André Luis Ferreira Santos no número 253-7042 ou para o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário de Taubaté no número 233-4422 (ramal 251, falar com a secretária Débora). Sei que não serei paga para participar deste estudo.

Taubaté, dia / mês / ano.

Rubrica da paciente

Dr. André Luis Ferreira Santos

9.2. ANEXO 2

FICHA PRÉ-CODIFICADA PARA COLETA DE DADOS

NÚMERO: <input type="text"/>		DATA: / /
1. Idade: <input type="text"/> anos		
2. Escolaridade concluída: (1) Fundamental até 4ª série (4) Superior/universidade (2) Fundamental até 8ª série (5) Nenhum (3) Médio: 1º até 3º colegial		
3. renda familiar bruta no último mês: <input type="text"/> (em reais)		
4. Motivo da consulta: (1) Colo suspeito (2) CO alterado (3) outro		
5. Tabagismo: (1) Nunca (2) Ex-fumante: por qto tempo: _____ há qto tempo: _____ qtos cigarros/dia: ____ (3) Fumante atual: há qto tempo: _____ qtos cigarros/dia: _____ (4) Fumo passivo: 4A. Onde mora: (1) Não (2) Sim – qtos fumam? _____ contato diário médio _____ h. 4B. Onde trabalha: (1) Não (2) Sim – qtos fumam? _____ contato diário médio _____ h.		
6. Paridade: <input type="text"/> (número total de partos)		
7. Idade 1º coito: <input type="text"/> anos		
8. Nº parceiros sexuais: <input type="text"/>		
9. História DST: (1) Não (2) Sim – Qual? _____		
10. Uso de anticoncepcional hormonal: (1) Nunca (2) Sim – Qual? _____ Qto Tempo? _____		
11. Resultado da CO de encaminhamento (1) ASCUS (2) AGUS (3) HPV (4) NIC 1 (5) NIC 1 (6) NIC 2 (7) NIC 3		
12. Diagnóstico citológico intralaboratorial		
12.1 Citologico Obs1 (1) Normal (2) Inflamatório (3) ASCUS (4) HPV isolado (5) NIC 1 (6) NIC 2 (7) NIC 3 (8) Câncer	12.1 Citologico Obs2 (1) Normal (2) Inflamatório (3) ASCUS (4) HPV isolado (5) NIC 1 (6) NIC 2 (7) NIC 3 (8) Câncer	12.1 Citologico Consenso (1) Normal (2) Inflamatório (3) ASCUS (4) HPV isolado (5) NIC 1 (6) NIC 2 (7) NIC 3 (8) Câncer
13. Diagnóstico citológico interlaboratoriais / Colposcópico / Histológico		
13.1 Citologico Obs3 (1) Normal (2) Inflamatório (3) ASCUS (4) HPV isolado (5) NIC 1 (6) NIC 2 (7) NIC 3 (8) Câncer	13.2.1 Colposcópico (1) Normal (2) Alterações Menores (3) Alterações Maiores (4) Suspeita de Câncer 13.2.2 Colposcópico (1) Satisfatório (2) Insatisfatório	13.3 Histológico (1) Normal (2) Cervicite (3) HPV Isolado (4) NIC 1 (5) NIC 2 (6) NIC 3 (7) Câncer (8) Não realizado
14. Captura híbrida II (1) Positivo alto risco (0) Negativo Carga viral RLU <input type="text"/>		
15. Conduta em relação a patologia cervical (1) Cauterização (2) Conização (3) Exérese de condiloma (4) Seguimento		
16. Outros tratamentos: (1) Candida (2) Trichomonas (3) Vaginose (4) Outros		
Tratamento: _____		

9.3. ANEXO 3

LISTAGEM DAS PACIENTES ESTUDADAS

nº	Data	Idade	Coloscopia	Co encami- nhamento	CO observador1	CO observador2	Coconsenso	CO observador3	Histologia	CH II	Carga viral
1	08/08/00	18	normal	NIC 1	normal/ inflamatório	normal/ inflamatório	normal/ inflamatório	HPV	não biopsiado	positiva	7,46
2	25/08/00	16	alterações menores	NIC2	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	negativa	0
3	20/10/00	40	alterações menores	NIC 1	NIC1	NIC1	NIC1	normal/ inflamatório	NIC1	negativa	0
4	12/09/00	41	normal	HPV	HPV	HPV	HPV	normal/ inflamatório	não biopsiado	negativa	0
5	22/08/00	43	alterações menores	NIC 1	normal/ inflamatório	normal/ inflamatório	normal/ inflamatório	normal/ inflamatório	NIC1	negativa	0
6	22/09/00	38	alterações maiores	NIC1	NIC3	NIC3	NIC3	NIC3	NIC3	positiva	1277,62
7	22/09/00	43	normal	NIC2	normal/ inflamatório	normal/ inflamatório	normal/ inflamatório	normal/ inflamatório	não biopsiado	negativa	0
8	05/09/00	21	alterações menores	HPV	HPV	HPV	HPV	normal/ inflamatório	NIC1	negativa	0
9	01/09/00	21	alterações menores	NIC1	normal/ inflamatório	NIC2	NIC2	HPV	NIC3	positiva	1944,82
10	21/11/00	18	alterações menores	HPV	normal/ inflamatório	normal/ inflamatório	normal/ inflamatório	HPV	NIC1	positiva	648
11	08/12/00	24	alterações menores	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	HPV	normal/ cervicite	positiva	94,79
12	18/08/00	17	normal	NIC1	normal/ inflamatório	normal/ inflamatório	normal/ inflamatório	normal/ inflamatório	não biopsiado	negativa	0
13	18/08/00	54	alterações maiores	NIC3	câncer	NIC2	câncer	AGUS	normal/ cervicite	positiva	31,99
14	01/09/00	21	alterações menores	NIC2	NIC2	NIC1	NIC2	HPV	NIC1	positiva	551,86
15	15/09/00	26	alterações menores	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	normal/ inflamatório	NIC1	positiva	49,01
16	15/09/00	36	alterações maiores	NIC3	NIC3	NIC3	NIC3	NIC2	NIC3	positiva	1058,29
17	19/09/00	21	alterações menores	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	ASCUS	NIC1	positiva	1669,3
18	26/09/00	16	alterações menores	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	normal/ inflamatório	NIC1	positiva	100,12
19	29/09/00	20	alterações menores	HPV	NIC1	NIC1	NIC1	normal/ inflamatório	NIC1	positiva	30,24
20	10/10/00	36	alterações menores	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	normal/ inflamatório	NIC1	negativa	0
21	07/10/00	28	alterações menores	NIC2	NIC1	NIC1	NIC1	normal/ inflamatório	NIC1	negativa	0
22	20/10/00	23	alterações menores	NIC1	NIC1	NIC2	NIC2	normal/ inflamatório	NIC1	positiva	103,53
23	20/10/00	18	alterações menores	NIC1	NIC2	NIC2	NIC2	NIC1	NIC1	positiva	1173,29
24	24/10/00	33	alterações menores	NIC1	NIC2	NIC2	NIC2	normal/ inflamatório	NIC1	positiva	31,62
25	10/11/00	21	normal	HPV	normal/ inflamatório	NIC2	ASCUS	ASCUS	não biopsiado	positiva	83,58

26	17/11/00	41	alterações maiores	NIC1	NIC2	NIC2	NIC2	NIC1	NIC1	positiva	500,48
27	05/12/00	40	alterações menores	NIC1	NIC3	NIC3	NIC3	ASCUS	NIC3	positiva	19,16
28	05/12/00	47	alterações maiores	NIC2	NIC2	NIC2	NIC2	ASCUS	NIC2	negativa	0
29	08/12/00	43	alterações menores	NIC1	HPV	NIC1	NIC1	normal/ inflamatório	NIC1	negativa	0
30	14/12/00	26	alterações maiores	NIC2	NIC2	NIC3	NIC3	NIC3	NIC3	positiva	657,01
31	14/12/00	46	normal	NIC2	normal/ inflamatório	NIC1	NIC1	NIC1	normal/ cervicite	negativa	0
32	14/12/00	23	alterações menores	HPV	NIC1	ASCUS	NIC1	NIC1	NIC1	positiva	296,39
33	14/12/00	38	alterações menores	NIC1	NIC3	NIC3	NIC3	NIC3	NIC3	positiva	1432,5
34	19/12/00	18	alterações menores	NIC2	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	positiva	9,21
35	21/12/00	18	alterações menores	NIC1	normal/ inflamatório	NIC1	NIC1	ASCUS	NIC1	negativa	0
36	21/12/00	26	alterações menores	HPV	NIC1	NIC1	NIC1	normal/ inflamatório	NIC1	negativa	0
37	21/12/00	43	alterações maiores	NIC2	NIC1	NIC1	NIC1	ASCUS	NIC1	negativa	0
38	08/01/01	36	alterações menores	NIC1	normal/ inflamatório	NIC2	NIC1	ASCUS	NIC1	negativa	0
39	16/01/01	24	alterações menores	NIC1	HPV	NIC1	NIC1	normal/ inflamatório	NIC1	positiva	2,35
40	25/01/01	19	alterações menores	HPV	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	NIC2	positiva	1756,1
41	01/02/01	46	alterações menores	NIC2	NIC1	NIC1	NIC1	normal/inflam atório	NIC1	negativa	0
42	01/02/01	31	alterações menores	NIC1	normal/ inflamatório	normal/ inflamatório	normal/ inflamatório	HPV	NIC1	positiva	2,72
43	02/02/01	20	alterações menores	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	condiloma	positiva	230,5
44	08/02/01	31	alterações menores	HPV	NIC2	NIC2	NIC2	NIC1	NIC1	positiva	1444,93
45	08/02/01	26	alterações menores	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	normal/ inflamatório	NIC1	negativa	0
46	08/02/01	19	alterações menores	NIC1	NIC3	NIC3	NIC3	NIC3	NIC3	positiva	1107,77
47	08/02/01	46	normal	NIC1	normal/ inflamatório	NIC3	NIC2	ASCUS	não biopsiado	negativa	0
48	13/02/01	22	alterações menores	HPV	NIC1	ASCUS	NIC2	ASCUS	NIC1	positiva	7,95
49	15/02/01	17	alterações menores	HPV	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	positiva	82,14
50	15/02/01	19	normal	HPV	NIC1	NIC1	NIC1	normal/ inflamatório	não biopsiado	negativa	0
51	20/02/01	23	alterações menores	HPV	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	condiloma	negativa	0
52	20/02/01	35	alterações menores	HPV	NIC1	ASCUS	NIC1	normal/ inflamatório	NIC1	positiva	41,43
53	22/02/01	20	alterações maiores	NIC2	NIC2	NIC2	NIC2	NIC2	NIC2	positiva	2575,73
54	06/03/01	17	alterações menores	NIC1	NIC1	NIC2	NIC2	ASCUS	NIC1	positiva	125,26
55	08/03/01	21	alterações menores	HPV	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	positiva	34,67

56	09/03/01	31	alterações menores	NIC2	normal/ inflamatório	NIC1	NIC1	normal/ inflamatório	NIC1	negativa	0
57	09/03/01	20	alterações maiores	NIC2	NIC2	NIC2	NIC2	NIC2	NIC2	positiva	942,48
58	13/03/01	28	alterações menores	NIC2	NIC2	NIC2	NIC2	NIC1	NIC3	positiva	1073,87
59	15/03/01	24	alterações maiores	NIC2	NIC2	NIC2	NIC2	NIC1	condiloma	positiva	225,13
60	15/03/01	17	alterações maiores	NIC2	NIC3	NIC2	NIC2	NIC2	NIC2	positiva	3276,19
61	15/03/01	47	alterações menores	NIC2	NIC2	NIC2	NIC2	NIC3	NIC2	positiva	78,65
62	16/03/01	50	alterações menores	NIC1	normal/ inflamatório	ASCUS	ASCUS	normal/ inflamatório	NIC1	negativa	0
63	20/03/01	24	alterações menores	NIC1	HPV	normal/ inflamatório	ASCUS	ASCUS	NIC1	negativa	0
64	20/03/01	23	alterações menores	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	ASCUS	NIC1	positiva	487,77
65	23/03/01	28	alterações menores	NIC3	ASCUS	normal/ inflamatório	normal/ inflamatório	normal/ inflamatório	NIC2	positiva	1,16
66	29/03/01	44	alterações menores	NIC1	HPV	NIC1	NIC1	normal/ inflamatório	NIC1	positiva	1,43
67	29/03/01	19	alterações menores	HPV	NIC1	NIC1	NIC1	normal/ inflamatório	NIC1	positiva	2,73
68	30/03/01	27	alterações maiores	NIC2	NIC2	ASCUS	NIC2	ASCUS	NIC2	negativa	0
69	05/04/01	21	alterações maiores	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	normal/ inflamatório	NIC1	positiva	236,52
70	19/04/01	42	alterações menores	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	ASCUS	NIC1	negativa	0
71	19/04/01	35	alterações menores	NIC1	NIC1	NIC2	NIC2	ASCUS	NIC1	negativa	0
72	24/04/01	26	alterações maiores	NIC2	NIC2	NIC1	NIC2	ASCUS	NIC2	negativa	0
73	26/04/01	17	alterações menores	HPV	NIC1	NIC1	NIC1	ASCUS	NIC1	positiva	402,9
74	08/05/01	46	alterações menores	HPV	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	positiva	55,16
75	10/05/01	40	alterações menores	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	normal/ inflamatório	NIC1	negativa	0
76	10/05/01	40	normal	NIC1	normal/ inflamatório	normal/ inflamatório	normal/ inflamatório	normal/ inflamatório	não biopsiado	negativa	0
77	11/05/01	52	alterações menores	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	normal/ inflamatório	NIC1	positiva	14,18
78	11/05/01	52	alterações menores	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	normal/ inflamatório	NIC1	negativa	0
79	11/05/01	44	alterações menores	HPV	NIC2	NIC2	NIC2	ASCUS	NIC1	negativa	0
80	15/05/01	53	alterações menores	NIC1	NIC2	NIC2	NIC2	NIC1	NIC1	positiva	11,45
81	22/05/01	27	alterações menores	HPV	NIC2	NIC2	NIC2	NIC1	NIC2	positiva	562,73
82	17/05/01	30	alterações menores	ASCUS	normal/ inflamatório	normal/ inflamatório	normal/ inflamatório	ASCUS	NIC3	positiva	46,29
83	18/05/01	36	alterações menores	NIC2	NIC2	NIC2	NIC2	normal/ inflamatório	NIC1	positiva	8,85
84	22/05/01	32	alterações menores	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	normal/ inflamatório	NIC1	negativa	0
85	24/05/01	20	alterações menores	NIC1	NIC1	NIC2	NIC2	normal/ inflamatório	NIC1	negativa	0

86	24/05/01	36	alterações menores	ASCUS	NIC1	NIC1	NIC1	normal/ inflamatório	NIC1	negativa	0
87	24/05/01	33	alterações menores	NIC2	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	NIC3	positiva	448,95
88	24/05/01	50	alterações menores	HPV	NIC1	normal/ inflamatório	normal/ inflamatório	normal/ inflamatório	normal/ cervicite	negativa	0
89	25/05/01	34	alterações menores	HPV	HPV	HPV	HPV	normal/ inflamatório	condiloma	negativa	0
90	29/05/01	34	alterações menores	ASCUS	HPV	HPV	HPV	normal/ inflamatório	NIC1	negativa	0
91	29/05/01	63	alterações menores	HPV	HPV	HPV	HPV	normal/ inflamatório	condiloma	positiva	1,28
92	31/05/01	48	normal	ASCUS	NIC1	normal/ inflamatório	NIC1	normal/ inflamatório	NIC1	negativa	0
93	31/05/01	33	alterações menores	ASCUS	NIC1	ASCUS	NIC1	normal/ inflamatório	NIC1	positiva	11,74
94	31/05/01	25	normal	ASCUS	NIC1	ASCUS	NIC1	normal/ inflamatório	não biopsiado	negativa	0
95	31/05/01	28	normal	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	normal/ inflamatório	não biopsiado	negativa	0
96	01/06/01	33	alterações menores	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	normal/ inflamatório	NIC1	negativa	0
97	01/06/01	47	normal	ASCUS	NIC1	NIC1	NIC1	normal/ inflamatório	não biopsiado	negativa	0
98	01/06/01	32	normal	ASCUS	normal/ inflamatório	normal/ inflamatório	normal/ inflamatório	normal/ inflamatório	não biopsiado	negativa	0
99	05/06/01	51	normal	NIC1	NIC2	NIC2	NIC2	normal/ inflamatório	não biopsiado	negativa	0
100	05/06/01	33	alterações menores	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	normal/ inflamatório	NIC1	negativa	0
101	05/06/01	39	alterações menores	NIC1	NIC1	ASCUS	ASCUS	ASCUS	NIC1	negativa	0
102	07/06/01	36	alterações menores	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	ASCUS	NIC1	negativa	0
103	07/06/01	21	alterações menores	HPV	NIC1	NIC1	NIC1	normal/ inflamatório	condiloma	negativa	0
104	07/06/01	18	alterações menores	NIC1	NIC1	NIC1	NIC1	normal/ inflamatório	NIC1	positiva	3,71
105	07/06/01	24	normal	NIC1	NIC1	ASCUS	ASCUS	ASCUS	não biopsiado	positiva	1,27