



DIAMA BHADRA ANDRADE PEIXOTO DO VALE

**IMPACT OF CERVICAL CYTOLOGY SCREENING ON THE
PREVALENCE OF CERVICAL CYTOLOGICAL RESULTS**

***IMPACTO DO RASTREAMENTO DO CÂNCER DO COLO DO
ÚTERO NA PREVALÊNCIA DE RESULTADOS CITOLÓGICOS***

**CAMPINAS
2013**



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Ciências Médicas

DIAMA BHADRA ANDRADE PEIXOTO DO VALE

IMPACT OF CERVICAL CYTOLOGY SCREENING ON THE
PREVALENCE OF CERVICAL CYTOLOGICAL RESULTS

ORIENTADOR: Prof. Dr. LUIZ CARLOS ZEFERINO

*IMPACTO DO RASTREAMENTO DO CÂNCER DO COLO DO ÚTERO
NA PREVALÊNCIA DE RESULTADOS CITOLÓGICOS*

Tese de Doutorado apresentada à Pós-Graduação em Tocoginecologia,
da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas
– UNICAMP, para obtenção de título de **Doutora em Ciências da Saúde,**
área de concentração em Oncologia Ginecológica e Mamária.

Doctorate thesis presented to the Tocogynecology Postgraduation
Programme of the School of Medical Sciences of the University of
Campinas to obtain the Ph.D grade in Health Sciences.

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE
DEFENDIDA PELA ALUNA DIAMA BHADRA ANDRADE PEIXOTO DO VALE
E ORIENTADA PELO Prof. Dr. LUIZ CARLOS ZEFERINO

Assinatura do Orientador

Campinas, 2013

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
MARISTELLA SOARES DOS SANTOS – CRB8/8402
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

V234i

Vale, Dama Bhadra Andrade Peixoto do, 1978-
Impacto do rastreamento do câncer do colo do útero
na prevalência de resultados citológicos / Dama Bhadra
Andrade Peixoto do Vale. -- Campinas, SP : [s.n.], 2013.

Orientador : Luiz Carlos Zeferino.
Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de
Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Displasia do colo do útero. 2. Papillomavirus
humano. 3. Esfregaço vaginal. I. Zeferino, Luiz Carlos,
1955-. II. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Impact of cervical cytology screening on the prevalence of cervical cytological results.

Palavras-chave em inglês:

Uterine cervical dysplasia
Human papillomavirus
Vaginal smears

Área de concentração: Oncologia Ginecológica e Mamária

Titulação: Doutora em Ciências da Saúde

Banca examinadora:

Luiz Carlos Zeferino [Orientador]
Sophie Françoise Mauricette Derchain
Luis Otávio Zanatta Sarian
Jurandyr Moreira de Andrade
Fábio Bastos Russomano

Data da defesa: 29-05-2013

Programa de Pós-Graduação: Tocoginecologia

Diagramação e arte-final: Assessoria Técnica do CAISM (ASTEC)

BANCA EXAMINADORA DA TESE DE DOUTORADO

Aluna: DIAMA BHADRA ANDRADE PEIXOTO DO VALE

Orientador: Prof. Dr. LUIZ CARLOS ZEFERINO

Membros:

1.

2.

3.

4.

5.

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

Data: 29/05/2013

201819337

Dedico este trabalho...

Dedico este trabalho à família, pelo suporte e acolhimento,

mãe, pai, avós, irmãos, tios e primas.

Aos alunos e residentes, pelo carinho e paciência.

Agradeço aos mestres por apresentarem os caminhos

e aos amigos por caminharem juntos.

Sobre consciência e libertação, social e coletiva.

“Mesmo quando você se sente, individualmente, mais livre, se esse sentimento não é um sentimento social, se você não é capaz de usar sua liberdade recente para ajudar os outros a se libertarem através da transformação da sociedade, então você só está exercitando uma atitude individualista no sentido do empowerment ou da liberdade.”

Paulo Freire, 1986.

Sumário

Símbolos, Siglas e Abreviaturas	vii
Resumo	ix
Summary	xi
1. Introdução	13
2. Objetivos	28
2.1. Artigo 1	28
2.2. Artigo 2	28
3. Sujeitos e Método	29
3.1. Rastreamento do câncer do colo do útero na região de Campinas.....	29
3.2. Amostra	33
3.3. Análise dos dados	33
4. Publicações	35
4.1. Artigo 1	36
4.2. Artigo 2	56
5. Discussão.....	76
6. Conclusões.....	82
6.1. Artigo 1	82
6.2. Artigo 2	83
7. Referências Bibliográficas.....	84
8. Anexos	91
8.1. Anexo 1 – Formulário de Requisição e Resultados de Exames.....	91
8.2. Anexo 2 – Critérios Morfológicos para Resultados Citológicos em Lesões Escamosas Precursoras	92
8.3. Anexo 3 – Parecer da Comissão de Ética em Pesquisa.....	93

Símbolos, Siglas e Abreviaturas

AGC – Células Glandulares Atípicas de Significado Indeterminado

AGC-FN – Células Glandulares Atípicas de Significado Indeterminado, quando não se pode excluir lesão intraepitelial de alto grau

AGC-NOS – Células Glandulares Atípicas de Significado Indeterminado, possivelmente não neoplásicas

AIS – Adenocarcinoma *in situ*

ASC – Células escamosas atípicas de significado indeterminado

ASC-H – Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado, quando não se pode excluir lesão intraepitelial de alto grau

ASC-US – Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado, possivelmente não neoplásicas

CAISM – Hospital da Mulher Prof. Dr. José Aristodemo Pinotti -Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher

CIN 1 – Neoplasia Intraepitelial Grau 1

CIN 2 – Neoplasia Intraepitelial Grau 2

CIN 2+ – Neoplasia Intraepitelial Grau 2 ou lesão mais grave

CIN 3 – Neoplasia Intraepitelial Grau 3

CIN 3+ – Neoplasia Intraepitelial Grau 3 ou lesão mais grave

- DNA** – Ácido Desoxirribonucleico
- HC2** – Teste de Captura Híbrida 2
- HPV** – Papilomavírus Humano
- HSIL** – Lesão Intraepitelial de Alto grau
- HSIL-CIN 2** – Neoplasia Intraepitelial grau 2 Citológico
- HSIL-CIN 3** – Neoplasia Intraepitelial grau 3 Citológico
- Ia** – Câncer microinvasivo do colo do útero
- Ib+** – Câncer do colo do útero francamente invasor
- INCA** – Instituto Nacional do Câncer
- LSIL** – Lesão Intraepitelial de Baixo Grau
- p53** – Proteína Citoplasmática 53
- PCR** – Teste de Reação em Cadeia da Polimerase
- pRb** – Proteína do Retinoblastoma
- RP** – Razão de Prevalência
- SUDS** – Sistema Unificado e Descentralizado da Saúde
- SUS** – Sistema Único de Saúde
- UNICAMP** – Universidade Estadual de Campinas

Resumo

INTRODUÇÃO: O exame citológico ainda é o método de rastreamento mais utilizado para a prevenção do câncer do colo do útero. Apesar da sua alta eficiência na prevenção do carcinoma escamoso invasivo, esses benefícios não são tão claros para as lesões escamosas em mulheres jovens e para o adenocarcinoma invasivo. Além disso, esse efeito protetor varia de acordo com o intervalo de realização dos controles. Uma vez que o teste de HPV não é recomendado para mulheres com menos de 30 anos de idade, a avaliação cuidadosa do desempenho do rastreamento neste grupo etário pode auxiliar os médicos a selecionar criteriosamente aquelas que irão ser encaminhadas para prosseguimento diagnóstico. **OBJETIVO:** Avaliar o impacto do rastreamento do câncer do colo do útero na prevalência dos resultados citológicos em função da idade da mulher e do intervalo entre os controles. **MÉTODOS:** Foi analisado o banco de dados de um laboratório central de citopatologia. O estudo incluiu 2.002.472 testes obtidos de mulheres previamente rastreadas e 217.826 testes obtidos de mulheres não previamente rastreadas. A Razão de Prevalência (RP) com um intervalo de confiança de 95% foi calculada para os resultados de testes de mulheres rastreadas em relação aos testes de mulheres não rastreadas, em função da idade. O laboratório utiliza o Sistema de Bethesda desde 1998, mas ainda subdivide o resultado Lesão Intraepitelial de Alto Grau (HSIL) em dois níveis: HSIL-CIN 2 e HSIL-CIN 3. **RESULTADOS** Para HSIL, a RP dos testes de mulheres rastreadas

em relação aos testes de mulheres não rastreadas foi de 0,97 (0,83-1,13) em mulheres abaixo de 20 anos e 0,99 (0,86-1,14) para mulheres entre 20 e 24 anos, diminuindo significativamente em mulheres entre 25 e 29 anos (RP 0,63, 0,52-0,76). As RP para o carcinoma espinocelular (SCC), adenocarcinoma *in situ* (AIS) e adenocarcinoma invasivo apresentaram uma redução significativa em todos os grupos etários acima de 30 anos. Para o grupo etário 30 a 59 anos, a proteção conferida pelo rastreamento para SCC, AIS e adenocarcinoma invasivo foi de 83% ou mais, para intervalos de realização dos exames entre 1 e 5 anos. Para mais de cinco anos de intervalo, o efeito protetor oferecido para SCC foi de 50%. Nas mulheres não previamente rastreadas, a prevalência de lesões intraepiteliais de baixo grau (LSIL) e HSIL-CIN 2 diminuiu com a idade, enquanto que para HSIL-CIN 3 a prevalência aumentou. Ainda nesse grupo de testes, a prevalência de HSIL-CIN 2 foi maior do que a de HSIL-CIN 3 para mulheres de até 29 anos (RP = 4,73, 3,90-5,75) e mais baixa para os grupos de 30 a 49 anos (RP = 0,66, 0,50-0,87) e 50 anos ou mais (RP = 0,21, 0,12-0,36). No grupo de testes de mulheres rastreadas, a prevalência de HSIL-CIN 2 foi maior nas faixas etárias até 29 anos (RP = 2,72, 2,49-2,97). **CONCLUSÕES** O rastreamento citológico reduziu a prevalência dos diagnósticos citológicos de HSIL, CEC, AIS e adenocarcinoma invasivo. Um intervalo de 3 anos para a realização dos controles foi apropriado para reduzir os resultados citológicos. O perfil da prevalência de HSIL-CIN 2 se assemelha ao padrão de prevalência de LSIL e foi mais prevalente do que HSIL-CIN 3 em mulheres jovens. O impacto do rastreamento foi menos evidente quando HSIL foi sugestivo de CIN 2. O rastreamento citológico em mulheres abaixo de 25 anos deve ser criteriosamente avaliado.

Summary

BACKGROUND Cervical cytology still is the cervical cancer screening test for women more used. Even though there is no doubt about the impact of cytology screening on invasive squamous cervical cancer, this issue is not as clear for squamous lesions on young women and for invasive adenocarcinoma. Moreover this protective effect varies according to interval tests. HPV testing is not recommended for women under age 30, and the carefully analysis of the performance of screening on this age group can help physicians to qualify their approach. **OBJECTIVE** To evaluate the impact of cervical cytology screening on the prevalence of cervical cytological results in women, as a function of age and the interval between tests. **METHODS** A central cytopathology laboratory database for cervical screening was analyzed. It included cytology screening data of 2.002.472 tests obtained from previously screened women and 217.826 tests from unscreened women. A prevalence ratio (PR) with a 95% confidence interval for screened women was calculated, in relation to unscreened women, as a function of age. The laboratory has been using the Bethesda System since 1998, but maintain the sub-categorization of HSIL in two levels: HSIL-CIN 2 and HSIL-CIN 3. **RESULTS** For high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL),

the PR was 0.97 (0.83–1.13) for women aged 20 or younger and 0.99 (0.86–1.14) for women aged 20–24 years, decreasing significantly in women aged 25–29 years (PR 0.63, 0.52–0.76). The PR for squamous cell carcinoma (SCC), adenocarcinoma in situ (AIS) and invasive adenocarcinoma showed a significant reduction in all age groups over 30 years. For the age group ranging from 30–59 years, protection conferred by screening for SCC, AIS and invasive adenocarcinoma was 83% or higher for screening intervals ranging from 1–5 years. For 5-year intervals or longer, the protective effect offered for SCC was 50%. For unscreened women, the prevalence of Low Grade Intraepithelial Lesions (LSIL) and HSIL-CIN 2 decreased with age, whereas HSIL-CIN 3 prevalence increased. The prevalence of HSIL-CIN 2 was higher than that of HSIL-CIN 3 for women up to 29 years (PR=4.73, 3.90–5.75) and lower for age groups 30–49 years (PR=0.66, 0.50–0.87) and 50 years or more (PR=0.21, 0.12–0.36). For screened women, the prevalence of HSIL-CIN 2 was also higher in age groups up to 29 years (PR=2.72, 2.49–2.97). **CONCLUSIONS** Cytology screening reduced the prevalence of HSIL, SCC, AIS and invasive adenocarcinoma cytological results. A three-year interval was appropriate for the reduction of these lesions. HSIL-CIN 2 resembles the prevalence pattern of LSIL and was more prevalent than HSIL-CIN 3 in younger women. The impact of screening was less evident when HSIL is suggestive of CIN 2. Cervical cytology screening in women 25 or younger should be critically evaluated.

1. Introdução

O câncer do colo do útero é a terceira neoplasia mais comum entre as mulheres em todo o mundo, com uma incidência estimada de 530.000 casos novos por ano. Aproximadamente 85% dos casos ocorrem em países em desenvolvimento. Na América Latina e Caribe, África Subsaariana e sul e sudeste da Ásia, as taxas de incidência ajustadas são superiores a 23 casos por 100.000 mulheres/ano. Já na América do Norte e Austrália, são inferiores a 6 casos por 100.000 mulheres/ano. Essa neoplasia também é responsável por cerca de 275.000 mortes por ano, sendo que cerca de 88% destas ocorrem nas regiões menos desenvolvidas (1).

No Brasil, as estimativas de câncer indicam cerca de 17.540 casos novos de câncer do colo do útero para o ano de 2012, com uma incidência estimada de 17,49 casos a cada 100 mil mulheres, porém com grande variabilidade regional. Sem considerar os tumores de pele não melanoma, o câncer do colo do útero é o mais incidente na região Norte (23,62/100.000), ocupa a segunda posição nas regiões Centro-Oeste (27,71/100.000) e Nordeste (17,96/100.000), a terceira posição na região Sudeste (15,53/100.000) e a quarta na região Sul

(13,88/100.000). O estado do Mato Grosso do Sul é o que apresenta a maior taxa de incidência, estimada em 35,13 casos por 100.000 mulheres (2).

As diferenças observadas nas taxas de incidência dessa neoplasia nas diversas regiões no Brasil e no mundo refletem as influências de fatores diversos, entre eles a eficiência dos programas de rastreamento. Esses programas compreendem a identificação de mulheres sob risco de desenvolver a neoplasia, o diagnóstico das lesões precursoras e o seu tratamento oportuno(3). As regiões que conseguem controlar todas as etapas desse processo são aquelas que apresentam as menores taxas de incidência da doença invasora (4,5).

A citologia é o teste de rastreamento mais utilizado no mundo todo. A partir da década de 60 passou a ser largamente empregada em países desenvolvidos como técnica de prevenção de câncer (3). A análise do impacto da citologia como teste de rastreamento se confunde com a própria história do controle do câncer do colo do útero. As melhores evidências das variações das taxas de incidência e mortalidade desse câncer estão disponíveis nas regiões que possuem registros de base populacional (3-5). Estados Unidos, Canadá e a maioria dos países europeus, especialmente os da região nórdica, experimentaram uma redução significativa das taxas de incidência por essa neoplasia a partir da década de 60 (3,6-8).

Já nos países em desenvolvimento os dados sobre o impacto da citologia em função do tempo são limitados. A literatura sugere que essas taxas mantêm-se estáveis ou apresentam modestos declínios nas últimas décadas (9). Essa diferença observada nas variações entre países refletem a ausência de

programas de rastreamento ou, quando eles estão presentes, a baixa cobertura da população e a qualidade deficiente da citologia (4,10,11). Na América Latina, esse efeito protetor do rastreamento é mais evidente entre mulheres de grupos etários medianos (30-69 anos) (6).

A redução da incidência do câncer do colo do útero é, portanto, mais evidente nas regiões que adotam programas organizados de rastreamento. Estes seguem um conjunto de ações programadas, com população-alvo e periodicidade definidas (3,5,6,12). Atingem alta cobertura da população por possuírem registros do universo das mulheres-alvo e dos históricos dos controles, de tal forma que possam ser convocadas de acordo com a periodicidade estabelecida (5,13). Também assumem a responsabilidade por outros elementos-chave do processo, como a qualidade da assistência e o seguimento das pacientes com lesões precursoras (14).

Em 1988, na Inglaterra, o Sistema Nacional de Saúde avançou ao passar a incluir em seu programa de rastreamento o controle de qualidade dos laboratórios de citologia e a identificação e convocação das mulheres sob risco. O componente-chave do programa foi a implantação do sistema de busca ativa “*call-recall*”, onde cada mulher na faixa etária-alvo receberia uma convocação regular para ser rastreada e seria reconvocada até que se manifestasse (12,13). O impacto da implementação do novo programa foi bastante significativo. A cobertura de mulheres rastreadas entre 1988 e 1994 dobrou e atingiu cerca de 85%. A incidência do câncer do colo do útero foi 35% menor em 1995 do que na década de 80 (13).

Quando a realização dos exames de rastreamento ocorre predominantemente a partir da procura ocasional dos serviços de saúde, de forma não relacionada às normas preconizadas, o rastreamento é denominado oportunístico (3,12). O programa oportunístico não é capaz de identificar as mulheres que estão sem controles e, desta forma, expostas ao risco de desenvolver um câncer invasor do colo do útero (14-16). Esta modalidade de programa atinge baixa cobertura, rastreia excessivamente um grupo parcial de mulheres e, portanto, é menos custo-efetiva do que um programa organizado (16). O rastreamento oportunístico é muito comum nos países em desenvolvimento, que têm em comum sistemas de saúde com dificuldades em estabelecer estratégias de promoção e prevenção à saúde, bem como garantir acesso aos serviços para o diagnóstico precoce e o tratamento das lesões precursoras (9,15,17,18).

No Brasil, o rastreamento é oportunístico. A citologia é utilizada desde a década de 60, mas foi no início dos anos 80, com o lançamento das Ações Programáticas Estratégicas para a Saúde da Mulher, que o teste passou a ser utilizado de forma mais rotineira (19). Em 1988, o Ministério da Saúde definiu que a citologia deveria ser realizada em mulheres entre 25 e 59 anos de idade, uma vez por ano, e, após dois exames anuais consecutivos negativos, a cada três anos. Recentemente estas normas foram ajustadas e houve a inclusão de mulheres com até 64 anos de idade (20).

Em 1995, o Instituto Nacional do Câncer (INCA) reconheceu a necessidade de qualificar o programa de controle do câncer do colo do útero em âmbito nacional e lançou um projeto-piloto denominado “Viva Mulher” em cinco

capitais. O programa consistiu de cinco etapas fundamentais: o recrutamento de mulheres entre 35 e 49 anos de idade, a coleta do material para o exame de Papanicolaou, o processamento desse material, o tratamento dos casos diagnosticados e a avaliação do programa (21).

Duas campanhas nacionais foram realizadas em 1998 e 2002, e resultaram no aumento de exames citológicos realizados no Brasil, de cerca de 6,5 milhões de exames em 1997 para aproximadamente 10 milhões de exames em 2003 (22). Apesar dessas iniciativas, a mortalidade ajustada por câncer do colo do útero no Brasil não apresentou variação entre 1988 e 2007, enquanto observou-se um discreto aumento da taxa bruta (23).

A dificuldade em reduzir as taxas de incidência e mortalidade por esse tipo de câncer nos países em desenvolvimento gera a necessidade de compreender os fatores que estão relacionados com os desafios para estabelecer programas organizados nessas regiões. Uma vez que a citologia é o teste de rastreamento utilizado por esses programas, a análise do seu desempenho nas populações é relevante.

O teste citológico ainda é o principal responsável pela redução da mortalidade por câncer do colo do útero. Entretanto, possui algumas fragilidades relacionadas à sua aplicação. Uma avaliação de cinco estudos que reuniram cerca de 30.000 mulheres em países em desenvolvimento revelou que a sensibilidade da citologia para detectar lesões do tipo Neoplasia Intraepitelial Grau II (CIN 2) ou lesão mais grave (CIN 2+), variou de 44 a 78%, e a especificidade de 91 a 96% (24). É sugerido que esta variabilidade esteja

relacionada com a dificuldade em manter a qualidade do exame (11). Estas características da citologia induziram a avaliação de outros métodos de rastreamento, especialmente na última década, com a disponibilização dos testes de identificação do papilomavírus humano (HPV), principal agente causador do câncer do colo do útero (25).

A primeira evidência que sugeriu a associação do câncer do colo do útero com o comportamento sexual data de 1842, quando o então fisiologista italiano Rigoni-Stern publicou sua análise sobre a frequência elevada desse câncer em mulheres sexualmente ativas, em contraste com a frequência baixa observada em virgens e freiras. Com o rápido desenvolvimento da bacteriologia a partir dos anos 60, o vírus Herpes Simples foi postulado como um provável agente etiológico. Vários trabalhos testaram essa associação, até que, definitivamente, em 1984, um grande estudo prospectivo – na antiga Tchecoslováquia – de Vonka e colaboradores, falhou em confirmar essa associação (26).

Em 1976, Meisels e Fortin demonstraram que as alterações citológicas previamente descritas como displasia leve nos esfregaços cervicais eram semelhantes às alterações observadas nas lesões condilomatosas e, portanto, poderiam representar a alteração citomorfológica da presença do vírus HPV nas células cervicais (27). Mas foi a partir dos anos 80 que o conhecimento sobre o papel do HPV na carcinogênese do colo do útero ganhou grande dimensão, quando surgiram as primeiras demonstrações morfológicas do vírus. Zur Hausen, pesquisador alemão, intrigado com a diversidade de genótipos do HPV, iniciou naquele momento uma série de publicações em que sugeria que o

câncer do colo do útero pode surgir da transformação maligna do mesmo vírus presente nas lesões condilomatosas genitais. Apesar de, na época, esta sugestão não ser consensual, seus trabalhos posteriores confirmaram essa hipótese, o que lhe rendeu o prêmio Nobel em 2008 (28).

Em 1983, Durst e zur Hausen, utilizando a técnica de Hibridização com sonda de DNA do HPV tipo 11 em fragmentos de tecido de câncer do colo do útero, puderam identificar uma sequência de DNA viral que até aquele momento não possuía homologia com nenhum outro tipo de HPV já identificado. Foi batizado como HPV tipo 16. Em seguida, o mesmo grupo isola e mapeia parcialmente, em amostras de câncer do colo do útero, o DNA de um outro tipo de HPV, que hoje é conhecido como HPV 18 (26). Ainda que naquele momento os estudos epidemiológicos não pudessem demonstrar a relevância do achado, hoje se sabe que ambos os tipos virais são observados em quase 70% dos cânceres do colo do útero (25).

A partir daí, as linhas de pesquisa concentraram-se em demonstrar as bases biomoleculares do processo oncogênico das células infectadas. A identificação dos genes virais E6 e E7 em meados da década de 80 é o fato mais marcante na compreensão deste processo (26). Hoje se sabe que estes genes são responsáveis pela indução e manutenção do fenótipo das células do câncer do colo do útero, e que o evento deflagrador desse processo é a interação da proteína do gene E6 com a p53, e da proteína do gene E7 com a pRb, interferindo diretamente com as etapas do ciclo celular (29). Esta instabilidade genômica distingue a infecção transformante e verdadeiramente

precursora da infecção produtiva e transitória. Assim, passa-se a questionar se todas as alterações observadas nos esfregaços de mulheres submetidas ao rastreamento devam ser valorizadas, já que apenas uma parte destas irá evoluir para doença invasora e necessitará ser abordada.

Em 1999, uma publicação de um grupo sueco demonstrou que a presença do DNA do HPV em testes citológicos normais estava associada a um risco quatro vezes maior de desenvolvimento do câncer após seis anos de observação, além de existir uma forte concordância entre o tipo de HPV encontrado no teste inicial e o encontrado posteriormente no espécime do câncer invasivo. O estudo destacou, portanto, o papel da persistência do HPV no desencadeamento do processo oncogênico.

As evidências atuais confirmam a suposição. Uma coorte de 8.656 mulheres dinamarquesas avaliou o risco absoluto de desenvolver lesões cervicais. Para mulheres com citologia negativa e DNA HPV tipo 16 positivo na avaliação inicial, a probabilidade de desenvolver Neoplasia Intraepitelial Grau III (CIN 3) ou lesão mais grave (CIN 3+) em 12 anos foi de 26,7% (IC 95% 21,1-31,8%). Para aquelas negativas na citologia e positivas para o HPV tipo 18, foi de 19,1% (IC 95% 10,4-27,3%). Já para as com citologia negativa e com teste negativo para HPV tipos 16, 18, 31 e 33, o risco absoluto de desenvolver CIN 3+ foi de apenas 3,0% (IC 95% 2,5-3,5%) (31).

Os conhecimentos adquiridos sobre a oncogenicidade do HPV e a história natural do câncer do colo do útero passaram a qualificar as recomendações sobre o rastreamento. Após o ano 2000, considerando as limitações da citologia, o

teste de HPV passa a ser testado para rastreamento primário do câncer do colo do útero. Em 2012, a Sociedade Americana de Câncer e o Colégio Americano de Obstetrícia e Ginecologia incluíram como alternativa para o rastreamento de mulheres acima de 30 anos a cotestagem da citologia e o teste de HPV em intervalos de 5 anos (7). De uma forma geral, as instituições que atuam na prevenção do câncer mencionam em suas recomendações o potencial benefício para o uso do teste de HPV de forma isolada, mas apenas no contexto de um rastreamento organizado. Todavia, em mulheres entre 21 e 29 anos, a única alternativa continua sendo o exame citológico realizado com periodicidade trienal (5,32).

Uma revisão de metanálises de 2008 analisou a utilização do teste de HPV no rastreamento primário em países desenvolvidos e em desenvolvimento. Em 25 estudos seccionais e 3 ensaios clínicos randomizados, a sensibilidade do teste Captura Híbrida 2 (HC2) para HPV na detecção de Lesão Intraepitelial de Alto Grau (HSIL) foi de 89,7% (IC 95% 86,4–93,0%), e a especificidade para excluir HSIL foi de 88,2% (IC 95% 86,2–90,1%).

Ao comparar o teste HC2 com a citologia nessa revisão, foram analisados 21 estudos seccionais e 4 ensaios clínicos randomizados. A sensibilidade da HC2 em detectar lesões CIN 2+ foi 33% maior do que a citologia (IC 95% 20–47%), e a especificidade 6% menor (razão: 0,94; IC 95% 0,92–0,98%). A técnica de PCR também se mostrou mais sensível do que a citologia para detectar CIN 2+ (razão 1,27; IC 95% 1,06–1,53). Os autores sugerem então que o papel da

citologia seria otimizado se esta fosse utilizada apenas como triagem para mulheres cujo teste HPV fosse positivo (11).

Outro benefício importante do teste de HPV no rastreamento primário, seja utilizado isoladamente ou em associação com a citologia, é a ampliação do tempo do intervalo da testagem. O significado do teste HPV negativo foi avaliado em uma coorte de 331.818 mulheres acima de 30 anos na Califórnia, iniciada entre 2003-2005, e seguidas até 2009. Com a média de seguimento de cinco anos, a incidência cumulativa de câncer por 100.000 mulheres HPV negativas foi de 3,8 por ano. Para aquelas que eram negativas tanto para HPV como para a citologia, foi de 3,2 por ano. Para as negativas apenas na citologia, a incidência cumulativa foi de 7,5 por ano (33).

O teste de HPV não é recomendado para mulheres abaixo de 30 anos devido à alta prevalência da infecção por HPV nesse grupo etário (32,34). Desta forma, ainda que alterações morfológicas da cérvix uterina consequentes à infecção viral sejam identificadas, a maior parte dessas lesões é transitória (29). Consequentemente, a especificidade do teste é baixa nesse grupo e o manejo de resultados positivos resultaria em encaminhamentos desnecessários para a colposcopia. Além disso, é reconhecida a potencial morbidade obstétrica secundária a intervenções no colo do útero (35), o que reforça a necessidade de se analisar cuidadosamente a seleção de mulheres que realmente precisariam de intervenção. Portanto, para o grupo de mulheres jovens, a citologia ainda é o método de rastreamento indicado.

Apenas cerca de 2% dos casos de câncer invasor são diagnosticados em mulheres jovens (36,37). Além disso, há evidências de que mesmo o rastreamento citológico nesse grupo tem potencial limitado em sua prevenção secundária (38). No início, os programas recomendavam que todas as mulheres sexualmente ativas fossem rastreadas. Progressivamente, estudos indicaram que o adiamento da idade de início do rastreamento evitaria a exagerada identificação de lesões induzidas por infecção produtiva e transiente do HPV, que regrediriam espontaneamente.

O longo período de evolução da neoplasia reforça o adiamento da idade de início do rastreamento. Hoje se sabe que o tempo médio do desenvolvimento da lesão invasiva é de cerca de 15 anos (29,34). Entre as mulheres jovens, as taxas de progressão também são diferentes. Parkin observou que a taxa de progressão de CIN 3 para carcinoma invasor em mulheres de 20 a 24 anos foi de 0,5% ao ano, e, em mulheres de 80 anos, de 10% ao ano (39).

Na Inglaterra, Sasiene e colaboradores observaram que menos da metade dos casos de câncer invasivo que ocorreram em mulheres entre 20 e 24 anos foram classificados como detectados através do rastreamento. Além disso, também não conseguiram demonstrar que o rastreamento dessas mulheres pudesse ter algum benefício na prevenção de câncer francamente invasivo (Ib+) no grupo etário posterior, de 25 a 29 anos. Mesmo considerando que o rastreamento abaixo de 25 anos tem o poder de detectar neoplasias microinvasivas (Ia), é razoável, com os dados acima, concluir que o mesmo câncer microinvasivo diagnosticado nesse grupo ainda será detectado como microinvasivo aos 25

anos, o que justifica o limite dessa idade para iniciar o rastreamento quando o programa é organizado (38).

O longo período de evolução da doença e o melhor conhecimento da fase precursora permitem a realização do rastreamento em intervalos regulares e amplos. Há evidências muito consistentes de que a periodicidade com intervalo trienal é suficiente quando o rastreamento for exclusivamente citológico, e que a adição do teste de HPV à citologia permite a adoção de intervalos ainda maiores, visto que o valor preditivo negativo (VPN) da cotestagem é bastante alto (33,40). Mesmo quando se amplia o intervalo entre os controles, ainda se observa impacto significativo do rastreamento, especialmente em mulheres acima dos 35 anos (41).

As evidências da proteção do rastreamento não são tão óbvias para o adenocarcinoma invasor. Um estudo sueco comparou as taxas de incidência de adenocarcinoma *in situ* (AIS) com as taxas de incidência de adenocarcinoma invasor 5, 10 e 15 anos depois do início do rastreamento, no período compreendido entre 1968 e 2002. Demonstrou que o aumento da detecção da lesão precursora não foi acompanhado de uma diminuição das taxas de incidência da lesão glandular invasora (42).

Outro estudo holandês que comparou as histórias do rastreamento de mulheres com diagnóstico de carcinoma escamoso e adenocarcinoma invasor observou que pacientes com adenocarcinoma tiveram mais resultados falso-negativos em seus mais recentes testes citológicos do que as pacientes com a doença escamosa ($p < 0,0001$). Além disso, também notaram que o tempo

entre o teste citológico mais recente e o diagnóstico de câncer invasor foi mais curto para pacientes com adenocarcinoma ($p = 0,01$). A frequência de sintomas como sangramento ou descarga vaginal foi semelhante (43).

Um desafio importante dos programas de rastreamento é o manejo adequado dos achados citológicos. Hoje as recomendações são claras de que mulheres portadoras de lesões subclínicas que representem a infecção transiente do HPV não devam ser investigadas. O resultado citológico que corresponde a essas lesões é denominado Lesão Intraepitelial de baixo grau (LSIL). Já as mulheres portadoras de lesões com potencial de progressão devem ser encaminhadas para a aplicação de um teste diagnóstico. Essas lesões são representadas pelo resultado citológico de HSIL, que geralmente correspondem ao diagnóstico histológico de CIN 2 e CIN 3.

A classificação dicotômica, ou em dois níveis, “Lesão de Baixo ou Alto Grau” foi introduzida pelo Sistema Bethesda em 1988. Até então os resultados citológicos eram reportados de duas formas. Uma forma semelhante à classificação histológica em três níveis, proposta por Richart, em CIN 1, 2 e 3, ou como displasia leve, moderada, severa e carcinoma *in situ*, proposta pela Organização Mundial da Saúde em 1968 (3,44). As razões para a adoção dessa alteração na nomenclatura foi a baixa reprodutibilidade entre os resultados citológicos, especialmente para os diagnósticos de CIN2 e CIN3 (44).

O potencial de progressão das lesões classificadas como CIN 3 é bem conhecido. McCredie e colaboradores recentemente identificaram 1.063 mulheres diagnosticadas com CIN 3 entre 1955–76. Em 92 mulheres conduzidas apenas

por biópsia e que mantiveram esse diagnóstico por 24 meses, a incidência acumulada de carcinoma invasor foi de 50,3% (37,3–64,9) em 30 anos. Para as mulheres consideradas adequadamente tratadas na avaliação inicial ou nas recorrências, a incidência foi de apenas 0,7% (0,3–1,9) (45). Nota-se que mesmo entre as lesões consideradas verdadeiramente precursoras existe um potencial de regressão importante.

Já entre as lesões classificadas como CIN 2, esse potencial de progressão não é tão claro. Ostör, em uma revisão de literatura da década de 90, sinalizou que a morfologia da lesão por si só não é suficiente para prever quais irão progredir ou regredir, destacando a necessidade de se determinar fatores de risco individuais para pacientes. Para as lesões diagnosticadas como CIN 2, as probabilidades de regressão, persistência e progressão para CIN 3 e progressão para câncer invasivo encontradas foram respectivamente de 40%, 40%, 20% e 5% (46).

Idade e diagnóstico citológico são sugeridos como fatores de predição de regressão. Em uma coorte de 147 meninas brasileiras de 11 a 19 anos, 71,4% (IC 95% 41,9-91,6%) das portadoras de CIN 2 apresentaram regressão com o manejo conservador em 2 anos (47). Em outra coorte de mulheres brasileiras, foi observada a taxa de regressão da CIN 2 em 12 meses de 74%, para aquelas inicialmente diagnosticadas como LSIL, com a média de idade de 27 anos (48). E entre os CIN 2 subdiagnosticados como Atipias de Significado Indeterminado possivelmente não neoplásicas (ASC-US) e LSIL, Castle e colaboradores observaram que 49% regrediram com manejo conservador em 2 anos (49).

Em resumo, o exame citológico ainda é um importante método de rastreamento das lesões precursoras e do carcinoma do colo do útero. Em mulheres com menos de 30 anos de idade é o único método recomendado. Em mulheres jovens, as lesões identificadas no epitélio do colo do útero frequentemente estão associadas à infecção transiente por HPV e, portanto, apresentam alta taxa de regressão espontânea. O resultado HSIL em mulheres jovens pode não ter as mesmas características epidemiológicas e clínicas do que aquela detectada em mulheres com idade mais avançada, quando esta lesão está associada à infecção persistente por HPV. Além disso, faltam evidências de que o rastreamento citológico seja capaz de reduzir as taxas de incidência do adenocarcinoma do colo do útero.

Desta forma, este estudo foi desenhado para analisar o impacto do rastreamento do câncer do colo do útero na prevalência dos resultados citológicos em função da idade da mulher e do intervalo entre os controles. A amostra do estudo foi composta pelos resultados citológicos para o rastreamento do câncer do colo do útero na rede pública da região de Campinas realizados no período de 10 anos pelo Laboratório de Citopatologia do Hospital da Mulher Prof. Dr. José Aristodemo Pinotti, Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher (CAISM), hospital-escola da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Espera-se que os resultados deste estudo possam contribuir para o melhor conhecimento da prevalência das lesões cervicais HPV induzidas em mulheres brasileiras e qualificar as recomendações vigentes.

2. Objetivos

2.1. Artigo 1

- Avaliar o impacto do rastreamento do câncer do colo do útero na prevalência dos resultados citológicos em função da idade da mulher.
- Avaliar o impacto do rastreamento do câncer do colo do útero na prevalência dos resultados citológicos em função do intervalo entre os controles.

2.2. Artigo 2

- Avaliar se existe uma relação entre a idade da mulher e os resultados citológicos de HSIL: CIN 2 citológico (HSIL-CIN 2) ou CIN 3 citológico (HSIL-CIN 3).
- Avaliar o impacto do rastreamento do câncer do colo do útero na redução da prevalência de HSIL-CIN 2 e HSIL-CIN 3.

3. Sujeitos e Método

Este estudo é uma análise transversal das prevalências de resultados citológicos realizados para o rastreamento do câncer do colo do útero em mulheres da região de Campinas, interior do estado de São Paulo, área urbana densamente povoada. A amostra foi constituída por exames citológicos oriundos do banco de dados do Laboratório de Citopatologia do Hospital da Mulher Dr. José Aristodemos Pinotti – CAISM /UNICAMP, no período de janeiro de 2000 a dezembro de 2009. O Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade de Medicina da UNICAMP aprovou a realização deste estudo. Uma vez que se tratou de análise de banco de dados, a aplicação do termo de consentimento foi dispensada pelo Comitê.

3.1. Rastreamento do câncer do colo do útero na região de Campinas

O rastreamento do câncer do colo do útero começou no município de Campinas, em 1968, e depois foi estendido para os municípios da região. Até 1987, estas atividades eram realizadas por iniciativa do Departamento de

Tocoginecologia da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, em parceria com os municípios. Com a implantação do Sistema Unificado e Descentralizado da Saúde (SUDS), em 1987, a Secretaria de Estado da Saúde do Estado de São Paulo promoveu e financiou a implantação e expansão do rastreamento do câncer do colo do útero, com a coleta de exames realizada pelos municípios. Após a criação do Sistema Único de Saúde (SUS) na Constituição de 1988, houve grande impulso para a expansão do rastreamento do câncer do colo do útero no âmbito da atenção primária como papel da esfera municipal (19).

A UNICAMP participou desde o início, através do Laboratório de Citopatologia, incorporado ao Hospital da Mulher Prof. Dr. José Aristodemo Pinotti após a sua criação como Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher (CAISM). Os municípios realizam a coleta de material para exame citológico e o Laboratório realiza a análise do exame. As mulheres com resultados positivos são assistidas pelos próprios municípios ou então são encaminhadas para o CAISM. Atualmente o laboratório recebe exames coletados pelo SUS de 70 municípios da região de Campinas. Na região existem cerca de 50 centros de colposcopia e oito centros para diagnóstico e tratamento de câncer cervical. Os dados referentes aos diagnósticos histológicos não foram disponíveis para este estudo. Cada município é responsável pelo encaminhamento, seguimento e tratamento das mulheres com alterações precursoras.

Em 1988, foi implantado no Laboratório de Citopatologia um sistema de informação com base em um formulário único para requisição e emissão do resultado do exame citológico, editado para leitura óptica. Os municípios

preenchem os campos de identificação da mulher e da Unidade de saúde e as informações clínicas pertinentes. O Laboratório preenche os campos de resultados, que inclui análise da qualidade da amostra, flora e o diagnóstico citológico propriamente dito. No laboratório, citotécnicos executam a leitura do esfregaço cervical. Citopatologistas revisam os casos suspeitos. Trinta por cento dos testes negativos são aleatoriamente selecionados para controle de qualidade, realizado por citotécnicos sêniores e citopatologistas. O modelo do formulário pode ser observado no Anexo 1.

Os municípios seguem as recomendações do SUS para rastreamento do câncer do colo do útero. O grupo-alvo são as mulheres entre 25 a 64 anos, que devem realizar o teste trienalmente, após 2 exames anuais consecutivos negativos. Todavia, a modalidade predominante é a oportunística; isto é, não existe um sistema que identifique o grupo-alvo e, portanto, as mulheres são submetidas ao teste de rastreamento quando entram em contato com o sistema de saúde por qualquer razão. Como em outros países que adotam o rastreamento oportunístico, no Brasil cerca de 2/3 dos exames realizados são em excesso (16,50), ou seja, são realizados em mulheres fora do grupo-alvo ou em uma periodicidade inferior à recomendada. De 2002 a 2010, a média nacional da cobertura anual de exames citológicos para a população feminina de 25 a 59 anos foi de 17,4%, e para o estado de São Paulo foi de 16,7%. Para cálculo destas médias não são incluídos os exames realizados na saúde suplementar. Considerando este fato e de que a periodicidade do exame deva ser trienal, a meta recomendada pelo Ministério da Saúde para esta cobertura é de 30% (22).

As informações clínicas que são registradas no formulário de requisição e emissão dos resultados e que serviram para análise foram:

- Finalidade do exame: rotina (rastreamento), controle de exame prévio alterado ou controle pós-tratamento.
- Idade da paciente: registrada em anos completos.
- Tempo desde o exame anterior (anos): primeiro exame, menor que 1 ano, 1 ano, 2 anos, 3 anos, 4 anos, 5 anos e maior que 5 anos.
- Resultado da análise citológica: segundo a classificação de Bethesda.

Os resultados citológicos foram classificados de acordo com o Sistema Bethesda (44). Para incluir os dados dos últimos 10 anos de forma uniforme, subcategorias como “células escamosas atípicas de significado indeterminado, possivelmente não neoplásicas” (ASC-US) e “células escamosas atípicas de significado indeterminado, quando não se pode excluir lesão intraepitelial de alto grau” (ASC-H) foram analisadas como “células escamosas atípicas” (ASC). Também “Células glandulares atípicas de significado indeterminado, possivelmente não neoplásicas” (AGC-NOS) e “células glandulares atípicas de significado indeterminado, quando não se pode excluir lesão intraepitelial de alto grau” (AGC-FN) foram analisadas como células glandulares atípicas (AGC).

Ainda que adote o Sistema Bethesda desde 1998, o laboratório mantém a classificação em dois níveis para os resultados de HSIL: CIN 2 citológico (HSIL-CIN 2) e CIN 3 citológico (HSIL-CIN 3). Este fato permitiu analisar estes resultados separadamente. Os critérios utilizados pelo laboratório para caracterizar os três níveis da classificação encontram-se no Anexo 2.

3.2. Amostra

Foram incluídos todos os exames realizados no período, para fins de rastreamento. Foram excluídos aqueles considerados insatisfatórios, identificados incorretamente ou realizados em mulheres hysterectomizadas. As mulheres que relataram exame citológico prévio alterado não foram incluídas.

Depois da aplicação dos critérios acima, foram constituídos dois grupos para análise: 2.002.472 de testes obtidos de mulheres com pelo menos um teste anterior (grupo de testes de mulheres previamente rastreadas) e 217.826 de testes obtidos de mulheres que estavam realizando o teste pela primeira vez (grupo de testes de mulheres não previamente rastreadas).

3.3. Análise dos dados

Para ambos os grupos foram calculadas as prevalências dos resultados citológicos por grupos etários. Para análise de tendência das prevalências em função da idade, foi utilizado o teste de χ^2 modificado por Cochran-Armitage, específico para este fim. A estatística negativa do teste indicou tendência de redução dos valores e a estatística positiva do teste indicou tendência de aumento dos valores. O impacto do rastreamento foi calculado pela Razão de Prevalências (RP) para os resultados citológicos obtidos do grupo previamente rastreado em comparação com o grupo não previamente rastreado, com um intervalo de confiança de 95%. Uma RP menor do que 1 foi interpretada como a proteção conferida pelo rastreamento citológico.

As análises foram realizadas para todos os grupos de lesões, inclusive para as duas categorias de HSIL, HSIL-CIN 2 e HSIL-CIN 3. Para esses dois resultados, também foi calculada a RP em relação ao resultado HSIL, com intervalo de confiança de 95%. Também foram analisadas as RP com seus respectivos intervalos de confiança de 95% para carcinoma escamoso invasivo, adenocarcinoma *in situ* e adenocarcinoma invasor em mulheres de 30-59 anos não rastreadas previamente, em função do intervalo desde o último exame realizado. Este grupo foi escolhido por ser considerado o principal grupo-alvo para o rastreamento.

4. Publicações

Artigo 1 – Protection against squamous cell carcinoma and cervical adenocarcinoma afforded by cervical cytology screening: a cross sectional study

Artigo 2 – HSIL in women younger than 30 years shows prevalence pattern resembling LSIL

4.1. Artigo 1

[Home](#)

Detailed Status Information

Manuscript #	2013-OG-12447
Current Revision #	0
Submission Date	28th April 13 18:13:30
Current Stage	Initial Quality Check Started
Title	Protection against squamous cell carcinoma and cervical adenocarcinoma afforded by cervical cytology screening: a cross sectional study.
Running Title	Protection afforded by cervical cytology screening.
Manuscript Type	Main Research Article
"Theme Issue"	N/A
Clinical Category	Gynaecological oncology
Corresponding Author	Luiz Carlos Zeferino (School of Medicine - Universidade Estadual de Campinas)
Contributing Authors	Diana Vale , Joana Bragança

Objective: To evaluate the impact of cervical cytology screening on the prevalence of cervical cytological results in women, as a function of age and test interval. Design: Cross sectional study. Setting: Campinas, Brazil. Sample: Cytology screening data of 2.002.472 tests obtained from previously screened women and 217.826 tests from unscreened women. Methods: A central cytopathology laboratory database for cervical screening was analysed. The tests were collected for screening purposes from 70 municipalities in the region of Campinas. A prevalence ratio (PR) with a 95% confidence interval for screened women was calculated, in relation to unscreened women. Protection afforded by screening (1-PR) was calculated. Main Outcome Measure: Prevalence Ratio (i.e., impact of screening). Results: For high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL), the PR was 0.97 (0.83-1.13) for women aged 20 or younger and 0.99 (0.86-1.14) for women aged 20-24 years, decreasing significantly in women aged 25-29 years (PR 0.63, 0.52-0.76). The PR for squamous cell carcinoma (SCC), adenocarcinoma in situ (AIS) and invasive adenocarcinoma showed a significant reduction in all age groups over 30 years. For the age group ranging from 30-59 years, protection for SCC, AIS and invasive adenocarcinoma was 83% or higher for screening intervals from 1-5 years. For 5-year intervals or longer, the protective effect for SCC was 50%. Conclusions: Cytology screening is effective at preventing HSIL, SCC, AIS and invasive adenocarcinoma cytological results. Three-year interval is appropriate for the prevention of these lesions. Cytology screening in women 25 or younger should be critically evaluated.

Abstract

Keywords	Screening, Uterine Cervical Neoplasms, Cervical Intraepithelial Neoplasia, Human Papillomavirus, Cervical Smear, Cervical Adenocarcinoma
Methodology	OTHER
Disclosure of Interests	No, there are no conflict of interests that I should disclose, having read the above statement.
Clinical Trial	No
Section Verification	Yes
Video Hosting	I do not have videos

Stage	Start Date
Sent to Editor	2nd May 13 06:51:41
Files submitted for Quality Check	2nd May 13 06:51:40
Waiting for Author Approval	1st May 13 21:22:14
Submission	28th April 13 18:22:06
Preliminary Data Submitted	28th April 13 18:15:34

Title

Protection against squamous cell carcinoma and cervical adenocarcinoma afforded by cervical cytology screening: a cross sectional study

Authors

Diama Bhadra Vale (Vale DB) ^{1,2}

Joana Froes Braganca (Bragança JF) ^{2,3}

Sirlei Siani Moraes (Moraes SS) ³

Luiz Carlos Zeferino (Zeferino, LC) ^{2,3}

1. School of Medicine, Federal University of Rondonia, Rondonia, Brazil, 2. School of Medical Sciences, State University of Campinas, Campinas, Brazil, 3. CAISM - Dr. José Aristodemo Pinotti Women's Hospital, State University of Campinas, Campinas, Brazil.

Author for correspondence:

Luiz Carlos Zeferino, Department of Obstetrics and Gynecology, Oncology Division,
Universidade Estadual de Campinas

Rua Alexander Fleming 101, CEP 13083-881, Campinas-SP, Brazil. Phone: +55-19-3521-9401. Fax: +55-19-3521-9424. e-mail: zeferino@fcm.unicamp.br

Running Title

Protection afforded by cervical cytology screening.

Abstract

Objective: To evaluate the impact of cervical cytology screening on the prevalence of cervical cytological results in women, as a function of age and test interval. **Design:** Cross sectional study. **Setting:** Cervical cancer screening in Campinas metropolitan region, Brazil. **Sample:** Cytology screening data of 2.002.472 tests obtained from previously screened women and 217.826 tests from unscreened women. **Methods:** A central cytopathology laboratory database for cervical screening was analysed. The tests were collected for screening purposes from 70 municipalities in the region of Campinas. A prevalence ratio (PR) with a 95% confidence interval for screened women was calculated, in relation to unscreened women. Protection afforded by screening (1-PR) was calculated. **Main Outcome Measure:** Prevalence Ratio (screening impact). **Results:** For high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL), the PR was 0.97 (0.83–1.13) for women aged 20 or younger and 0.99 (0.86-1.14) for women aged 20–24 years, decreasing significantly in women aged 25–29 years (PR 0.63, 0.52–0.76). The PR for squamous cell carcinoma (SCC), adenocarcinoma in situ (AIS) and invasive adenocarcinoma showed a significant reduction in all age groups over 30 years. For the age group ranging from 30-59 years, protection for SCC, AIS and invasive adenocarcinoma was 83% or higher for screening intervals from 1-5 years. Protective effect was not demonstrated for screening intervals longer than five years for adenocarcinoma in situ and invasive adenocarcinoma. **Conclusions:** Cytology screening is effective at preventing HSIL, SCC, AIS and invasive adenocarcinoma based on cytological results. Protection was not observed for AIS and invasive adenocarcinoma for screening interval longer than five years. Cytological screening in women 25 or younger should be critically evaluated. **Keywords:** Screening; Uterine Cervical Neoplasms; Cervical Intraepithelial Neoplasm; Human Papillomavirus; Cervical Smear; Cervical Adenocarcinoma

Introduction

In the era of human papillomavirus (HPV) vaccination and use of HPV testing, discussions on cytology screening are still relevant. Vaccination is restricted to two oncogenic HPV types but has yet to become a reality in most countries. HPV testing is not recommended for women under age 30, due to its low specificity. Furthermore, in this age group there is a high prevalence of HPV-infected women without any clinically significant lesions^{1,2}.

Cervical cytology testing remains the most commonly used screening method for cervical cancer worldwide³⁻⁵. Since precursor lesions develop very slowly, there is ample opportunity for the detection, timely treatment and disruption of the natural history of the disease^{6,7}. The prevalence of precursor lesions and cervical cancer in unscreened women, i.e., without diagnostic or therapeutic intervention, can reflect the natural history of this neoplasm⁵⁻⁹.

Adenocarcinoma in situ (AIS) and high-grade squamous intraepithelial lesions (HSIL), notably those corresponding to cervical intraepithelial neoplasia grade 3 (CIN 3), are associated with a higher risk of progression to carcinoma^{6,9-11}. The peak incidence of CIN 3 in screened women occurs between ages 25 and 34, decreasing significantly after this age group, a condition necessary to reduce the incidence of invasive cervical cancer^{5,7}.

Guidelines have recommended against screening women aged younger than 21-25 years because there is no evidence that screening is effective at reducing invasive cervical cancer in this age group¹²⁻¹⁵. In older women, screening has a good level of performance for CIN 3 and squamous cervical cancer (SCC)^{5,6,14}. Benefits derived from cervical screening is not as evident as in squamous neoplasia in the prevention of invasive adenocarcinoma^{16,17}.

Therefore, the aim of this study was to analyse the impact of cervical cytology screening on the prevalence of cervical results in women and contribute to a better understanding of trends in cervical abnormalities, permitting a more qualified guidance for cervical cancer screening. In an attempt to find powerful answers, the study was designed to use data from a very large number of screened and unscreened women.

Methods

The study was a cross-sectional assessment of the prevalence of cervical lesions in a population living in the Campinas metropolitan region, a densely populated urban area in south-eastern Brazil (São Paulo State). The sample consisted of tests obtained from the Cytopathology Laboratory database of Dr. José Aristodemos Pinotti Women's Hospital, *Universidade Estadual de Campinas* (Unicamp), from January 2000 to December 2009 (10 years).

The laboratory receives tests collected for screening purposes from patients in 70 municipalities of the Campinas region. This database did not include any test conducted in private clinics. The vast majority of women managed by the public health system had no access to private medicine. Therefore, patients included in this database had only a very slight chance of being screened by the private health system.

We excluded incorrectly labelled tests and those classified as unsatisfactory or for purposes other than screening. After exclusion criteria were applied, the study sample consisted of two groups: 2.002.472 tests obtained from women with at least one previous screening test (screened group) and 217.826 tests from women without previous screening test (unscreened group).

Physicians or nurse practitioners in primary health care collected material for cytology testing. The database contained patient identification, age and time since last cervical screening test. At the cytopathology laboratory, cytotechnologists performed routine evaluation and reading of the cervical smear. Cytopathologists reviewed suspicious cases. Thirty per cent (30%) of negative tests were randomly selected for quality control, carried out by senior cytotechnologists and cytopathologists. Cytology findings were classified according to the Bethesda System¹⁸. To include data from the last 10 years, subcategories such as “atypical squamous cells of undetermined significance” (ASC-US) and “atypical squamous cells-cannot not exclude HSIL” (ASC-H) were analysed as atypical squamous cells (ASC). “Atypical glandular cells not otherwise specified” (AGC-NOS) and “atypical glandular cells favor neoplastic” (AGC-FN) were analysed as atypical glandular cells (AGC).

Guidelines for abnormal tests in the public health system have recommended that women with ASC-US and low-grade squamous intraepithelial lesions (LSIL) be rescreened with a cervical cytology test after six months. Women with ASC-H, HSIL, SCC, AGC, AIS and invasive adenocarcinoma should be referred to colposcopy and biopsy. Around 50 colposcopy centres exist and there are about 8 centres for the diagnosis and treatment of invasive cervical cancer. Data obtained from histological diagnoses established at these centres were not available for this study.

Data analysis

The database allowed us to establish two female groups for analysis: unscreened (first screening test) and screened (any time period since last screening test) women. Considering that information on social status, education, parity or risk factors for cervical cancer in women was lacking for the description of the study population, analysis

indicated that these variables were distributed uniformly into age-matched groups for screened and unscreened women.

The prevalence of cervical cytology results was calculated for both groups. For trend analysis of prevalence, we used the χ^2 modified Cochran-Armitage trend test: a negative statistical test indicated a decreasing trend in prevalence and the opposite occurred when the test was positive. The impact of screening was assessed by calculating the prevalence ratio (PR) for cytology results obtained from the group of previously screened women, in comparison to the unscreened group, with a 95% confidence interval. A PR <1 was interpreted as a protective effect conferred by cervical screening.

We also analysed the PR for SCC, AIS and invasive adenocarcinoma, as a function of the last screening test interval for women aged 30-59 years, considering unscreened women (“first exam”) as a reference. This age group was targeted because it is the main female target group for cervical cancer screening^{3,12}.

Results

The two most prevalent results were ASC and LSIL. The prevalence of ASC did not vary significantly with increasing age in unscreened women ($p=0.10$), but it decreased in previously screened women ($p<0.001$). LSIL showed a clear and significant trend towards a decrease with age for both groups ($p<0.001$). HSIL was less prevalent than LSIL and ASC in women younger than 30 years, but its prevalence tended to increase with age in unscreened women (statistical test = +8.29, $p<0.001$) and to decrease in screened women (statistical test = -22.5, $p<0.001$) (Table 1; Figure 1).

SCC results showed a significant trend towards an increase with age in both groups (statistical test = +28.1, $p < 0.001$ in unscreened women and 17.3, $p < 0.001$ in

screened women). There were only three SCC results (1%) in women younger than 25 years from a total of 328 results from the entire sample (data not shown). The prevalence of SCC began to increase in the group of unscreened women aged older than 25 (Table 1; Figure 1).

Results of atypical glandular cells, including AGC, AIS, and invasive adenocarcinoma were not consistently observed in young women. The prevalence of invasive adenocarcinoma showed a increase with age in the unscreened group, a fact only modestly observed in the screened group (Table 1; Figure 1).

Most PR values were lower than one, showing that prevalence rates of lesions were higher in unscreened women. These values corresponded to the level of protection conferred by cervical screening (Table 2). Nevertheless, for HSIL and women younger than 25 years, no protection was observed, showing a PR= 0.97 (0.83–1.13) for women younger than 20 years and a PR=0.99 (0.86-1.14) for women aged 20–24 years. Available data did not permit a consistent analysis of screening for SCC, AIS and adenocarcinoma and its effect on young women (Table 2).

The PR of HSIL decreased significantly in the age group ranging from 25–29 years (PR 0.63, 0.52–0.76), reaching its lowest value in the age range of 60–64 years (PR 0.15, 0.09–0.24). For the SCC, the PR showed a significant reduction in all age groups over 30 years of age. The PR for AIS and invasive adenocarcinoma were less than 0.13 in all age groups available for analysis (Table 2).

Figure 2 shows the protection of cervical cytology test according to the interval of the last screening test, focusing the age group ranging from 30-59, considering unscreened women as the reference. Protection levels for SCC, AIS and invasive adenocarcinoma were 83% or higher for screening intervals ranging from one to five

years. A 5-year (or higher) protection offered by the screening interval tended to be lower, which was more evident for invasive adenocarcinoma (Figure 2).

Discussion

Main Findings

This study showed that cytology screening protects women aged 30 or older against HSIL. Also showed that screened women presented a lower prevalence of AIS and invasive adenocarcinoma than unscreened women, in screening intervals shorter than five years. For SCC the reduction in prevalence was present in screening intervals lower and longer than five years.

Strengths and Limitations

The power of this study was the analysis of two million cytology tests. However, its limitation was the lack of histologic confirmation of positive cases. Therefore, the analysis considered that variation in the prevalence of abnormal cytology results could represent variation in the actual prevalence of intraepithelial and invasive lesions.

Interpretation

This study showed no protection of cytology screening in women under 25 years old. This finding is relevant because HPV testing is not indicated in women aged 30 or younger due to a high rate of false-positive results¹. In the post-vaccination era, HSIL prevalence could reveal new features in younger women, leading to a modification in screening recommendations. However, the screening test for this age group is currently cytology exam^{12,13,15}.

In women aged 30 or younger, there was no reduction in the prevalence of invasive cervical cancer cytology. Owing to the small number of invasive lesions in this age group, this analysis is not considered conclusive. Nevertheless, this finding is similar to that observed by Sasiene et al. who evaluated 4.012 invasive cancers in the United Kingdom (UK) and failed to observe any impact of cytology screening on the incidence of invasive cervical cancer in younger women. Those authors found 73 cases (1.82%) in this age group, but only 32 (0.80%) were classified as “screen-detected” and the diagnosis followed a history of abnormal results in 21 (0.52%) cases¹⁴.

The results of this study reinforce the weakness of screening younger women, mainly those under 25 years. Furthermore, cervical procedures are associated with an increased risk of obstetric and neonatal morbidity^{19,20}, which is relevant before motherhood.

A high prevalence of transient HPV infection in younger women can explain the low level of screening test performance. When the relative proportion of persistent HPV infection increases, screening performance also increases^{21,22}. There was a very similar decreasing trend in LSIL prevalence as age increased among screened and unscreened women, which is similar to the prevalence profile of HPV infection in women. These findings reinforce the understanding that LSIL is the cytomorphological expression of recent exposure of the cervical epithelium to productive and transient HPV infection²¹.

The upward curve of HSIL prevalence in unscreened women preceded by 10 to 15 years the curve corresponding to invasive carcinoma, which is consistent with the estimate of time elapsed between precursor and invasive lesions^{5-7,21}.

Even though there is no doubt about the impact of cytology screening on HSIL and SCC, regardless of age, this issue is not as clear for adenocarcinoma. Some authors have concluded that cytology testing is not as effective at diagnosing adenocarcinoma.

In this case, the test is more likely to be false-negative and therefore it is not indicative of cervical cancer^{16,17}. This study showed that screened women presented a lower prevalence of AIS and invasive adenocarcinoma than unscreened women. The reduction in prevalence was only observed in screening intervals shorter than five years, while SCC reduction was also present in screening intervals longer than five years.

These findings are in agreement with a large UK population-based case-control study including 641 adenocarcinomas. Risk reduction associated with 3-year screening intervals was greater for SCC (75%, 95%CI 71–79%) than for invasive adenocarcinoma (43%, 95%CI 24–58%). Those authors observed a low incidence of invasive adenocarcinoma within 2.5 years of a negative Pap smear (OR 2.3, 95% CI 0.15–0.34) that was indistinguishable from background rates 4.5–5.5 years after negative testing. It was concluded that screening reduced the incidence of cervical adenocarcinoma, but the prognostic value of cytology is lower (in both magnitude and duration) in adenocarcinoma than in SCC¹⁷.

To better understand the controversies surrounding evidence that cytology screening offers protection against cervical adenocarcinoma, some considerations need to be made. Before the Bethesda System, atypical glandular cells were not included in the cervical cytologic classifications. The first version of the Bethesda System (1988) included only findings of adenocarcinoma and atypical glandular cells of undetermined significance. The last version of the Bethesda System (2001) included findings of adenocarcinoma, AIS and some new features for AGC¹⁸. Glandular lesions occur less frequently than squamous lesions, but knowledge of early abnormalities of uterine glandular cells increased after implementation of the Bethesda System. It is most likely that large laboratories are considered to be more competent to detect glandular cell abnormalities. Furthermore, cervical canal screening started in the late 1980s and is the original site of

cervical adenocarcinoma. In the last two decades, it became evident that diagnosis of cervical adenocarcinoma in situ, the precursor lesion of invasive adenocarcinoma, increased by cytology detection¹¹.

As previously pointed out, the strength of this study was the very large sample size of screened and unscreened women. In addition, data was available for a relatively large number of cytology findings of carcinoma (328 SCC, 116 invasive adenocarcinomas, as well as 52 AIS). The main limitation was that calculation of prevalence ratios was based on cytology results and not histopathology diagnosis. Another limitation to more conclusive reports was the cross-sectional design of this study. However, it was counterbalanced by the large sample size.

Conclusions

Cytology screening is effective at preventing HSIL, SCC, AIS and invasive adenocarcinoma based on cytological results. A three-year interval was better than five years to prevent these lesions. Protection was not observed for AIS and invasive adenocarcinoma for screening interval longer than five years. This study reinforces the weakness of cervical cytology screening in women aged 25 and under.

Acknowledgments

The authors would like to acknowledge the personnel of Cytopathology Laboratory and Information Technology of CAISM – Dr. José Aristodemo Pinotti Women's Hospital, State University of Campinas for their overall contribution.

Disclosure of interests

The authors have no disclosure of interests to declare.

Contribution to authorship

Vale DB and Zeferino LC have contributed in the conception, planning, carrying out, analysing and writing this paper. Morais SS contributed in the planning, carrying out and analyzing. Bragança JF also contributed in analysing and writing.

Details of ethical approval

The Institutional Review Board approved the study protocol.

Funding

No funding has been received for this study.

References

1. Ronco G, Giorgi-Rossi P, Carozzi F, Confortini M, Dalla Palma P, Del Mistro A et al. Efficacy of human papillomavirus testing for the detection of invasive cervical cancers and cervical intraepithelial neoplasia: a randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2010;11(3):249-57.
2. Zhao C, Chen X, Onisko A, Kanbour A, Austin RM. Follow-up outcomes for a large cohort of US women with negative imaged liquid-based cytology findings and positive high risk human papillomavirus test results. *GynecolOncol* 2011;122(2):291-6.

3. World health Organization. Cervical Cancer Screening [internet]. World health Organization; [cited 2012 Oct 9]. Available from:
http://www.who.int/cancer/detection/cervical_cancer_screening/en/index.html
4. Breitenecker G. Cervical cancer screening: past-present-future. *Pathologe* 2009;30Suppl 2:128-35.
5. Herbert A. The impact of cytological cervical screening and its changing role in the future. *Cytopathology*. 2010 Dec;21(6):355-8.
6. McCredie MR, Sharples KJ, Paul C, Baranyai J, Medley G, Jones RW, et al. Natural history of cervical neoplasia and risk of invasive cancer in women with cervical intraepithelial neoplasia 3: a retrospective cohort study. *Lancet Oncol* 2008;9(5):425-34.
7. Schiffman M, Castle PE. The promise of global cervical-cancer prevention. *n Engl J Med* 2005;53(20):2101-4.
8. Gustafsson L, Pontén J, Bergström R, Adami HO. International incidence rates of invasive cervical cancer before cytological screening. *Int J Cancer* 1997;71(2):159-65.
9. Ostör AG. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. *Int J Gynecol Pathol* 1993;12(2):186-92.
10. Zaino RJ. Symposium part I: adenocarcinoma in situ, glandular dysplasia, and early invasive adenocarcinoma of the uterine cervix. *Int J Gynecol Pathol* 2002;21(4):314-26.
11. Gunnell AS, Ylitalo N, Sandin S, Sparén P, Adami HO, Ripatti S. A longitudinal Swedish study on screening for squamous cell carcinoma and adenocarcinoma:

- evidence of effectiveness and overtreatment. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007;16(12):2641-8.
12. International Agency for Research on Cancer. Use of screening for cervical cancer. In: International Agency for Research on Cancer. IARC Handbooks of Cancer Prevention: Cervix Cancer Screening. Volume 10. Lyon, IARC Press; 2005:117-62.
 13. Anttila A, von Karsa L, Aasmaa A, Fender M, Patnick J, Rebolj M, et al. Cervical cancer screening policies and coverage in Europe. *Eur J Cancer* 2009;45(15):2649-58.
 14. Sasieni P, Castanon A, Cuzick J. Effectiveness of cervical screening with age: population based case-control study of prospectively recorded data. *BMJ* 2009;339:b2968.
 15. Saslow D, Solomon D, Lawson HW, Killackey M, Kulasingam SL, Cain J, et al. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology Screening Guidelines for the Prevention and Early Detection of Cervical Cancer. *Am J Clin Pathol* 2012;137:516-542.
 16. Pak SC, Martens M, Bekkers R, Crandon AJ, Land R, Nicklin JJ, Perrin LC, Obermair A. Pap smear screening history of women with squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the cervix. *Aust N Z J Obst Gynaecol* 2007;47:504–507.
 17. Sasieni P, Castanon A, Cuzick J. Screening and adenocarcinoma of the cervix. *Int J Cancer*. 2009 Aug 1;125(3):525-9.
 18. Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, Raab S, Sherman M, Wilbur D, Wright T Jr, Young N; Forum Group Members; Bethesda 2001 Workshop. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA*. 2002;287(16):2114-9.

19. Arbyn M, Kyrgiou M, Simoons C, Raifu AO, Koliopoulos G, Martin-Hirsch P, et al. Perinatal mortality and other severe adverse pregnancy outcomes associated with treatment of cervical intraepithelial neoplasia: meta-analysis. *BMJ* 2008;337:a1284.
20. Sasieni P, Castanon A, Parkin DM. How many cervical cancers are prevented by treatment of screen-detected disease in young women? *Int J Cancer* 2009;124(2):461-4.
21. Snijders PJF, Steenbergen RDM, Heideman DAM, and Meijer CJLM. HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications. *J Pathol* 2006; 208: 152–164.
22. Kjør SK, Frederiksen K, Munk C, Iftner T. Long-term Absolute Risk of Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade 3 or Worse Following Human Papillomavirus Infection: Role of Persistence. *J Natl Cancer Inst* 2010;102:1478–1488.

Table 1. Prevalence per 100.000 women of abnormal cytological results in 2.002.472 previously screened women and 217.826 unscreened women.

Age Group	ASC		LSIL		HSIL		SCC		AGC		AIS		ADENOCARCINOMA	
	Unscreened	Screened	Unscreened	Screened	Unscreened	Screened	Unscreened	Screened	Unscreened	Screened	Unscreened	Screened	Unscreened	Screened
<= 19	1680	1769	1812	1615	361	349	0	0	6	13	0	0	0	0
20-24	1545	1482	1351	1026	425	422	0	1	20	26	0	0	0	0
25-29	1371	1197	997	680	635	401	11	3	48	29	0	0	0	1
30-34	1231	1013	675	424	731	332	19	4	85	44	28	2	0	0
35-39	1242	1004	475	334	1073	278	43	6	130	60	0	5	22	2
40-44	1379	1043	497	300	842	248	83	15	183	86	0	4	33	4
45-49	1446	999	430	202	1053	199	86	18	258	100	58	3	0	6
50-54	1294	932	183	144	636	152	334	18	304	78	30	3	0	8
55-59	1771	767	41	83	570	157	367	30	204	64	0	2	245	15
60-64	1887	737	179	66	930	139	578	42	223	48	0	8	134	17
65-69	1707	693	0	30	592	166	543	43	198	63	50	3	248	28
>=70	1678	893	83	64	683	215	846	99	357	93	28	3	302	32
Overall	1570	1099	1364	483	483	292	42	12	47	55	4	2	13	4
Prevalence	3355	21828	2908	9524	1020	5755	89	239	98	1081	8	44	28	88
p-value**	0.10	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.84	0.03	<0.001	<0.001
ST***	-	-27.5	-19.7	-66.0	+8.9	-22.5	+28.1	+17.3	+15.8	+11.6	-	+3.8	+17.0	+12.3

*n: Total number of abnormal results in the sample. **p-value: Cochrane-Armitage χ^2 . ***ST: Statistical test - positive values correspond to increasing trends; negative values to decreasing trends.
 Legend: ASC – Atypical squamous cells (ASC-US + ASC-H); LSIL – Low-grade squamous intraepithelial lesion; HSIL – High-grade squamous intraepithelial lesion; SCC – Squamous cell carcinoma; AGC – Atypical glandular cells (AGC-NOS + AGC-FN); AIS – Adenocarcinoma in situ; ADENOCARCINOMA – Invasive adenocarcinoma.

Table 2. Prevalence ratio (PR) of abnormal cytological results in 2.220.298 tests: previously screened women per unscreened women.

Age Group	ASC		LSIL		HSIL		SCC		AGC		AIS		ADENOCA	
	PR*	95% CI	PR*	95% CI	PR*	95% CI	PR*	95% CI	PR*	95% CI	PR*	95% CI	PR*	95% CI
≤19	1.05	0.98–1.13	0.89	0.83–0.96	0.97	0.83–1.13	–	–	2.12	0.78–5.73	–	–	–	–
20–24	0.96	0.89–1.03	0.76	0.70–0.82	0.99	0.86–1.14	–	–	1.29	0.68–2.44	–	–	–	–
25–29	0.87	0.77–0.99	0.68	0.59–0.79	0.63	0.52–0.76	0.27	0.06–1.25	0.61	0.30–1.21	–	–	–	–
30–34	0.82	0.69–0.98	0.63	0.50–0.80	0.45	0.36–0.57	0.19	0.04–0.87	0.52	0.26–1.01	0.05	0.01–0.23	–	–
35–39	0.81	0.62–1.05	0.70	0.46–1.07	0.26	0.19–0.35	0.14	0.03–0.62	0.46	0.20–1.05	–	–	0.09	0.01–0.83
40–44	0.76	0.61–0.94	0.60	0.42–0.87	0.29	0.22–0.39	0.18	0.07–0.46	0.47	0.26–0.86	–	–	0.12	0.03–0.54
45–49	0.69	0.52–0.91	0.47	0.28–0.79	0.19	0.13–0.26	0.21	0.06–0.69	0.39	0.20–0.76	0.04	0.01–0.25	–	–
50–54	0.72	0.53–0.97	0.79	0.35–1.77	0.24	0.15–0.37	0.05	0.03–0.11	0.26	0.13–0.49	0.09	0.01–0.78	–	–
55–59	0.43	0.32–0.59	2.04	0.28–14.63	0.27	0.16–0.47	0.08	0.04–0.17	0.31	0.13–0.78	–	–	0.06	0.02–0.16
60–64	0.39	0.29–0.53	0.37	0.13–1.02	0.15	0.09–0.24	0.07	0.04–0.14	0.22	0.08–0.56	–	–	0.13	0.04–0.46
65–69	0.41	0.29–0.58	–	–	0.28	0.15–0.52	0.08	0.04–0.17	0.32	0.11–0.91	0.05	0.00–0.81	0.11	0.04–0.32
≥70	0.53	0.41–0.70	0.78	0.23–2.60	0.32	0.20–0.50	0.12	0.07–0.19	0.26	0.14–0.50	0.11	0.01–1.69	0.11	0.05–0.24

*PR: Prevalence Ratio – Frequency of cytological results in previously screened women per unscreened women.

Legend: ASC – Atypical squamous cells (ASC-US + ASC-H); LSIL – Low-grade squamous intraepithelial lesion; HSIL – High-grade squamous intraepithelial lesion; SCC – Squamous cell carcinoma; AGC – Atypical glandular cells (AGC-NOS + AGC-FN); AIS – Adenocarcinoma in situ; ADENOCA – Invasive adenocarcinoma.

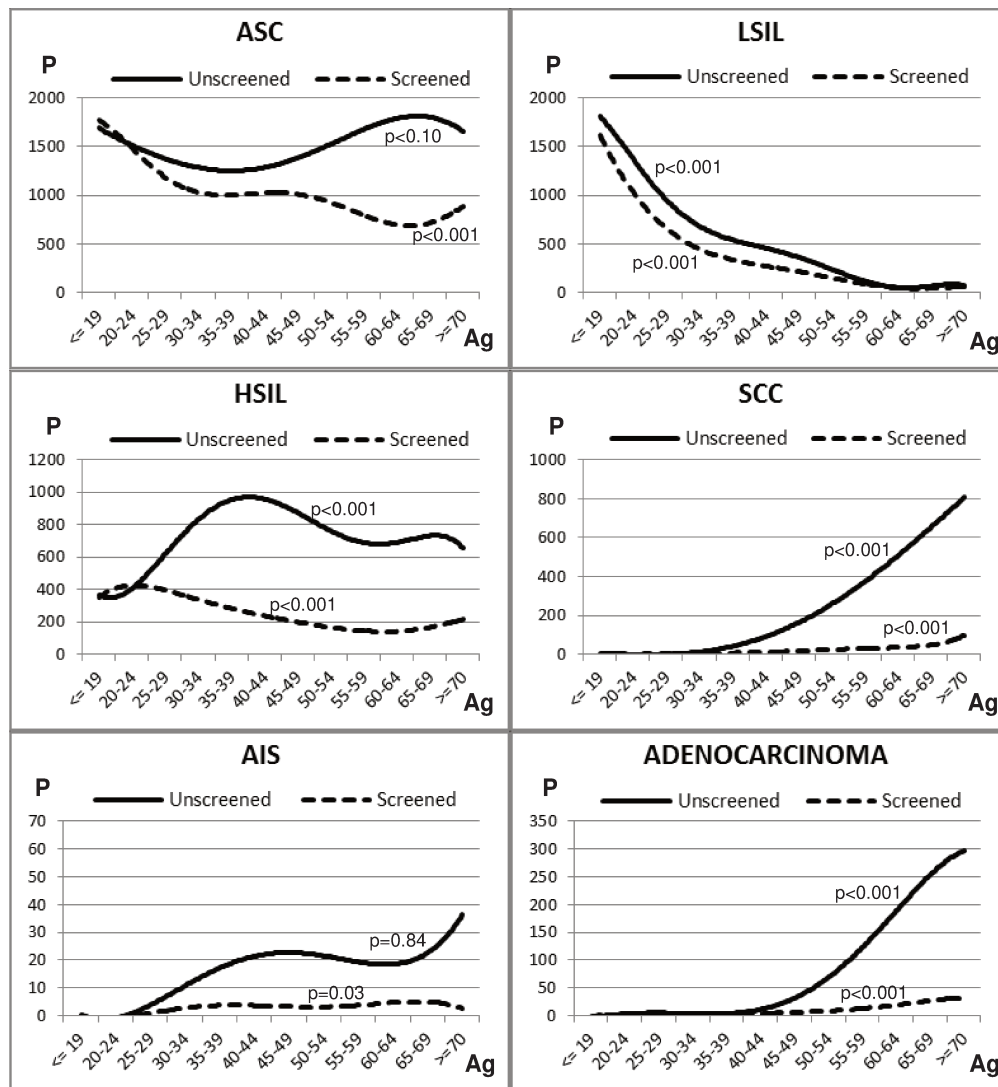
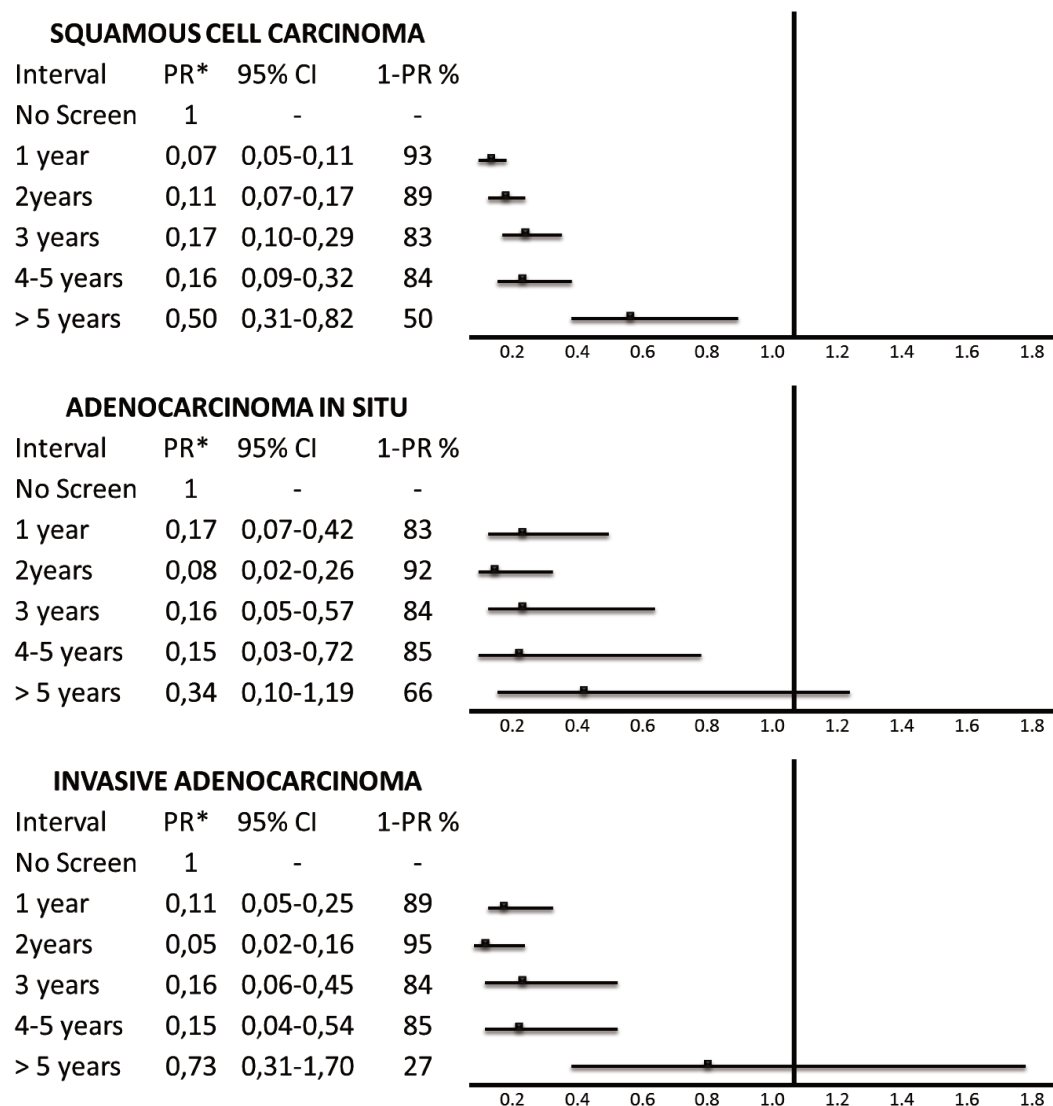


Figure 1. Prevalence per 100.000 women of abnormal cytological results in 2.002.472 previously screened women and 217.826 unscreened women, by age.



PR*: Prevalence Ratio – Frequency of cytological results according the interval since last screen test, compared with no previous screen test.

Figure 2. Prevalence ratio and protection in abnormal cytological results in age group 30-59 years, by screen test interval.

4.2. Artigo 2

From:

cancercyto@cancer.org

To:

diama@uol.com.br, westin@unicamp.br, zeferino@fcm.unicamp.br, diama@uol.com.br

Subject:

Decision on Manuscript ID CNCY-13-0016.R1

Body:

22-Apr-2013

Dear Prof. Zeferino,

I am pleased to inform you that "HSIL in women younger than 30 years shows prevalence pattern resembling LSIL" (CNCY-13-0016.R1) has been accepted for publication in Cancer Cytopathology.

Once your manuscript has been processed and sent to the publisher, you will receive e-mail page proofs directly from the publisher at Wiley.

In order to ensure smooth processing of your proofs, please take a moment to log in to your ScholarOne Manuscripts account at <http://mc.manuscriptcentral.com/cancercyto> and confirm that your contact information is up-to-date.

PLEASE NOTE: You must supply a "clean" copy of the final version of your manuscript if you have not already provided one in your recent submission. A clean copy is one that contains no highlighting, underlining, colored text, or other editing marks. If such a file is not already uploaded in the system, please send the text files in .doc or .rtf format to cancercyto@cancer.org as soon as possible. Note that it is only necessary to include the text of the clean copy (you are not required to resupply the tables and figures).

Production status tracking - You may now track your article via the publisher's Author Services. Once your paper is with the Production Editor, you will receive an e-mail with a unique code (in the format 123456-123456) that automatically adds your article to the system when you register. You'll have the option to receive automated e-mails at key stages of production. There may be a short delay while the article is added to the system. The Author Services system is separate from ScholarOne Manuscripts, and as such, requires a separate account. To register and access Author Services, please go to <http://authorservices.wiley.com/>.

Any authors wishing to utilize the OnlineOpen service will be subject to a one-off fee to be met by or on behalf of the author. Upon publication online, the article (both full-text and PDF) will be available to all for viewing and download free of charge on the Wiley service. Authors interested in this service will be required to complete a payment form as soon as possible after acceptance at <http://wileyonlinelibrary.com/onlineopen>

We look forward to the publication of your article in the journal and hope you will consider us for future submissions.

Thank you for your contribution.

Sincerely,

Celeste N. Powers, MD, PhD

Editor-in-Chief, Cancer Cytopathology

cancercyto@cancer.org

Title

HSIL in women younger than 30 years shows prevalence pattern resembling LSIL

Running title

HSIL in young women resembles LSIL

Authors

Diana Bhadra Vale, MD (Vale, DB) 1,2

Maria Cristina Westin, MD (Westin, MC) 2,3

Luiz Carlos Zeferino, MD, PhD (Zeferino, LC) 2,3

1. Universidade Federal de Rondônia, School of Medicine, Brazil; 2. Universidade Estadual de Campinas, School of Medicine, Brazil; 3. Dr. José Aristodemos Pinotti Women's Hospital, Universidade Estadual de Campinas, Brazil.

Author for correspondence:

Luiz Carlos Zeferino, Department of Obstetrics and Gynecology, Oncology Division, Universidade Estadual de Campinas

Rua Alexander Fleming 101, CEP 13083-881, Campinas-SP, Brazil. Phone: +55-19-3521-9401. Fax: +55-19-3521-9424. e-mail: zeferino@fcm.uCINamp.br

The authors have no financial disclosures to declare.

CONDENSE ABSTRACT

HSIL suggestive of CIN 2 resembles the prevalence pattern of LSIL and was more prevalent than HSIL suggestive of CIN 3 in younger women. The impact of screening was less evident when HSIL is suggestive of CIN 2.

KEYWORDS

Screening; Uterine Cervical Neoplasms; Cervical Intraepithelial Neoplasm; Human Papillomavirus; Cervical Smear

ABSTRACT

BACKGROUND Cervical cytology is the cervical cancer screening test for women younger than 30 years due to the low specificity of HPV tests in this age group. Bethesda System classifies Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade 2 (CIN 2) and Grade 3 (CIN 3) as High Grade Intraepithelial Lesions (HSIL). This study sub-classified cytological HSIL as suggestive of CIN 2 (HSIL-CIN 2) or CIN 3 (HSIL-CIN 3) and evaluated whether a relationship exists between these findings and age for screened and unscreened women. **METHODS** The study included 2.002.472 cervical smears collected from women with at least one previous test (screened) and 217.826 women without previous tests (unscreened). The laboratory has been using the Bethesda System since 1998, with the sub-categorization of HSIL-CIN 2 and HSIL-CIN 3. **RESULTS** For unscreened women, the prevalence of Low Grade Intraepithelial Lesions (LSIL) and HSIL-CIN 2 decreased with age, whereas HSIL-CIN 3 prevalence increased. The prevalence of HSIL-CIN 2 was higher than that of HSIL-CIN 3 for women up to 29 years (PR=4.73, 3.90-5.75) and lower for age groups 30-49 years (PR=0.66, 0.50-0.87) and 50 years or more (PR=0.21,0.12-0.36). For screened women, the prevalence of HSIL-CIN 2 was also higher in age groups up to 29 years (PR=2.72, 2.49-2.97). **CONCLUSIONS** HSIL suggestive of CIN 2 resembles the prevalence pattern of LSIL and was more prevalent than HSIL suggestive of CIN 3 in younger women. The impact of screening was less evident when HSIL is suggestive of CIN 2. Conservative approach for younger showing HSIL is important for management guidance.

INTRODUCTION

Interpretation of cervical cytology smears is based on cytomorphological changes, from which a histopathological diagnosis is presumed. The Bethesda System introduced the dichotomous terminology Low and High Grade Intraepithelial Lesion (LSIL and HSIL) and established that cytology results of Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade 2 (CIN 2) and Grade 3 (CIN 3) should be classified as HSIL (1). A diagnosis of LSIL, which corresponds to Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade 1 (CIN 1), represents a transient productive infection with human papillomavirus (HPV). LSIL has a very low potential for progression to cancer and a higher prevalence in young women (2-4). The diagnosis of CIN 3 represents a persistent and transforming infection by HPV and therefore tends to increase with age (5,6). There is currently no marker to distinguish between productive infection and transforming infection (7-10).

Reasons for a change in nomenclature into the two-tiered designation of SIL established by the Bethesda System were the low reproducibility of cytopathology results, mainly CIN 2 and CIN 3 (1,11,12). However, some members of the European cytopathology community in particular were favorable of the three-tiered designation of CIN 1-2-3 for cytology. The Bethesda System recognized that a differentiation between CIN 2 and CIN 3 might be helpful in managing some individual patients (1).

Despite the limitations of cytology interpretation, it is interesting to add further knowledge to qualify reports. The prevalence of HSIL in young women is not negligible, but we know that transient or productive HPV infection is prevalent in this age group (13). Thus, it is likely that an HSIL result does not represent a persistent or transforming HPV infection in young women and would not compromise these patients.

Therefore, the objective of this study was to evaluate whether a relationship exists between patient age and cytology findings of HSIL: HSIL suggestive of CIN 2 (HSIL-CIN 2) and of CIN 3 (HSIL-CIN 3). Furthermore, it intends to analyze the impact of screening on the reduction of prevalence in both categories of lesions. It is hoped that this study may give some insights on cytopathology interpretation in order to select the best clinical management. A more judicious referral of young women for colposcopic assessment may reduce preventable interventions on the uterine cervix, avoiding future obstetric and neonatal morbidity (14).

METHODOLOGY

The study was a cross-sectional assessment of the prevalence of cervical lesions in women undergoing cytology screening in Campinas, São Paulo State. The sample consisted of all Pap smears performed in the Cytopathology Laboratory of Dr. Jose Aristodemo Pinotti Women's Hospital, Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), from January 2000 to December 2009 (10 years).

The Cytopathology Laboratory receives conventional smears collected for cancer screening from women in the public health system of about 70 towns in the Campinas region. Opportunistic screening is performed, although recommendations prioritize women aged 25-59 years with triennial intervals (15). The laboratory does not receive tests performed by private health services.

We excluded tests incorrectly identified, those classified as unsatisfactory and when the purpose was other than screening. After exclusion criteria were applied, the study sample consisted of two groups: 2.002.472 tests of women with at least one

previous screening test (screened group) and 217.826 tests of women without previous screening test (unscreened group).

Cervical smears are collected by physicians or nurse practitioners in primary health care units. Those health professionals also identified and recorded clinical data of the patients. A form for patient identification and recording of results was the data source for the laboratory information system, gathered by optical reading.

In addition to patient identification, health professionals recorded clinical information such as age, purpose of the test and time since last screening test. If the woman had never undergone any previous screening test, she was identified as having the first screening test. This recording allowed us to establish two female groups for analysis: unscreened (first screening test) and screened (any time since last screening test) women.

Cytologic scrutiny was conducted by cytotechnologists. Exams with suspicious findings are reviewed by pathologists. For quality control, thirty percent of the negative results were randomly selected and submitted for rapid review. Ten percent were submitted for full review by senior cytotechnologists. The laboratory has adopted the Bethesda System since 1998. However, for HSIL reports, categorization was maintained into HSIL-CIN 2 and HSIL-CIN 3, allowing us to conduct this study. The cytomorphological criteria used by the laboratory to characterize the interpretation of HSIL-CIN 2 and HSIL-CIN 3 are shown in Table 1.

The prevalence rates of the results were calculated for both groups (screened or unscreened women). For trend analysis of prevalence rates according to age, the chi-square test (χ^2) modified by Cochran-Armitage was used. A statistical test with negative values means a trend towards decreased rates. With positive values, it means a

trend towards increased rates. The impact of screening was assessed by calculating the prevalence ratio (PR) for a screened group divided by an unscreened group and for HSIL-CIN 2 divided by HSIL-CIN 3, with a 95% confidence interval.

The Institutional Review Board approval was obtained before undertaking this study.

RESULTS

For unscreened women, the prevalence rates of LSIL tended to decrease with age, whereas HSIL rates tended to increase with age (Table 2). Analyzing HSIL categories separately, the prevalence of HSIL-CIN 2 showed a trend similar to LSIL, whereas HSIL-CIN 3 rates showed a clear increase in prevalence with age. For previously screened women, the prevalence rates of LSIL and HSIL-CIN 2 tended to decrease with increasing age, but HSIL-CIN 3 rates did not vary with statistical significance. Figure 1 shows the trend in these diagnoses.

The impact of age on the prevalence of both categories of HSIL (HSIL-CIN 2 over HSIL-CIN 3) was analyzed by the prevalence ratio (PR). For unscreened women, the prevalence of HSIL-CIN 2 was higher than that of HSIL-CIN 3 for women aged up to 29 years (PR=4.73, 3.90-5.75). This relationship was reversed in age groups 30-49 years (PR=0.66, 0.50-0.87) and 50 years or older (PR=0.21, 0.12-0.36), whereas in the latter age group the prevalence of HSIL-CIN 3 was about five times higher than that of HSIL-CIN 2 (Table 3). For screened women, the prevalence of HSIL-CIN 2 was higher than that of HSIL-CIN 3 in women aged up to 29 years (PR=2.72, 2.49-2.97) and 30-49 years (PR=1.11, 1.02-1.19), but in women aged over 50 years, this relationship was reversed (PR=0.50, 0.43-0.60) (Table 3).

Comparing screened women with unscreened women (screened over unscreened women), the prevalence rates for HSIL and HSIL-CIN 3 cytology results showed no variation in women younger than 19 years and 20-24 years. However, in the screened group prevalence rates decreased with age in women aged 25-29 years. In women aged 35-39 years, there was a greater than 70% decrease in prevalence. The prevalence rates for LSIL and HSIL-CIN 2 cytology results did not show a homogeneous pattern, even in different age groups when prevalence rates were lower in previously screened women (Table 4).

DISCUSSION

According to this study, results from the HSIL group showed lesions with two distinct behaviors: one reflecting transient HPV infection and another that might be associated with persistent infection. The prevalence of lesions in unscreened women could be considered representative of the natural history of cervical neoplasm, since they were not subjected to diagnostic and therapeutic interventions. In this female group, the prevalence rates of HSIL-CIN 2 cytology results decreased with increasing age, similar to the tendency observed for LSIL. These cytologic findings reflect a transient HPV infection, having high potential for clearance with higher prevalence rates, a behavior similar to the pattern of HPV infection (2,13,16).

Conversely, the prevalence rates of HSIL-CIN 3 results clearly increased with age for unscreened women, what did not occur in the presence of screening because of diagnostic and therapeutic intervention. The prevalence of CIN 3 in countries that have implemented screening program peaks at around age 30 and decreases in older women

(6,17,18), a pattern similar to that observed in this study for HSIL-CIN 3 in women with previous screening.

The results of this study highlight that HSIL-CIN 2 showed a tendency similar to LSIL, and dissimilar to the pattern of persistent and transforming HPV infection. Screening is not efficient at reducing the prevalence of LSIL and HSIL-CIN2 associated with transient HPV infection. In fact, screening does not prevent acquisition of HPV infection. Moreover this study showed that it is highly probable that HSIL findings corresponded to HSIL-CIN 2 than HSIL-CIN 3 in previously screened women. This can be explained by the greater protective effect of screening against lesions associated with persistent HPV infection, or against HSIL-CIN 3.

In countries where screening is opportunistic, a large number of tests are focused on young women. This shift in care reveals an excessive number of abnormal results in this age group because these women would not be prioritized in an organized screening program (19,20). In young women, in addition to a high prevalence of LSIL results, most HSIL diagnoses could represent transient HPV infection.

Since it was observed that a woman younger than 30 years old with an HSIL result had a high risk of presenting HSIL-CIN 2 (PR=4.73, 3.90-5.75 for unscreened and PR=2.72, 2.49-2.97 for screened women), it seems reasonable to consider a less interventionist approach for adolescents and young women with HSIL, so that indication for treatment can be individualized. The long period of development and transformation into cervical lesions (21,22), the very low potential for progression to CIN 3 in this age group (2,22,23) and the risk of obstetric and neonatal morbidity (14) are further arguments to support the adoption of conservative protocols.

The Bethesda System nomenclature opted for the two-tiered designation of SIL, due to poor reproducibility of cytopathology results. In fact, the criteria and application of the same criteria may vary among observers. For example, in the past authors described CIN 2 for cervical cytology smears when the core area corresponded to half the total area of the cell, while others described the same result when the core area corresponded to up to two thirds of the total area (25,26). In this study, the first understanding prevailed. As expected, the results showed selected HSIL-CIN 2 with characteristics closer to low-grade lesions. Cytology diagnosis is based on a set of criteria and lesions corresponded to low-grade cervical smears showing changes confined to cells with mature or surface-type cytoplasm, but changes in nuclear intensity also play an important role in discriminating low- and high-grade SIL. Nuclear alterations of atypical cells and metaplastic cells in cervical smears are predictive criteria of high-grade cervical intraepithelial neoplasia (27).

A British study examined data from annually collected NHS Cervical Screening Programme (NHSCSP) laboratory Korner returns (KC61 returns) for the screening years before and after conversion from conventional smears to liquid based cytology (LBC), and found that the histological correspondence for moderate dyskaryosis in conventional smears and in LBC was poorer than for mild and severe dyskaryosis. Taking into account the new cytological classification, high-grade dyskaryosis showed higher positive predictive value for CIN2+ but not for CIN3+. These findings highlighted that the intermediate cytological category showed a lower agreement with CIN 2 (28).

The limitation of this study is the lack of available histopathological diagnosis. However, it is powerful because it included a sample of approximately two million cervical cytology tests among screened women and 200.000 among unscreened women, which allowed tendency analyzes by age group.

Cytology interpretation is very important in young women because HPV-DNA testing is not indicated as a screening test in this population (29,30). So we concluded that most HSIL results in young women clearly do not correspond to a truly high-grade lesion and this is a weakness of two-tiered classification of SIL.

This study intended to show a specific weakness of the two-tiered cytological classification relevant for younger women, and did not aim to corroborate a three-tiered classification of SIL. The findings of HSIL may not have the same clinical significance in young woman, and what matters is the clinical differentiation between lesions associated with transient HPV infection and those associated with persistent infection. In this context, the cytomorphological criteria between low- and high-grade intraepithelial lesions need to be adjusted within possible limits.

REFERENCES

1. Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, et al. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA*. 2002;287(16):2114-9.
2. Monteiro DL, Trajano AJ, Russomano FB, Silva KS. Prognosis of intraepithelial cervical lesion during adolescence in up to two years of follow-up. *J Pediatr Adolesc Gynecol*. 2010;23(4):230-6.
3. Elit L, Levine MN, Julian JA, Sellors JW, Lytwyn A, Chong S, et al. Expectant management versus immediate treatment for low-grade cervical intraepithelial neoplasia : a randomized trial in Canada and Brazil. *Cancer*. 2011;117(7):1438-45.
4. Moscicki AB, Cox JT. Practice improvement in cervical screening and management (PICSM): symposium on management of cervical abnormalities in adolescents and young women. *J Low Genit Tract Dis*. 2010;14(1):73-80.
5. Kjær SK, Frederiksen K, Munk C, Iftner T. Long-term absolute risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 or worse following human papillomavirus infection: role of persistence. *J Natl Cancer Inst*. 2010;102(19):1478-88.
6. Herbert A. The impact of cytological cervical screening and its changing role in the future. *Cytopathology*. 2010;21(6):355-8.
7. Dehn D, Torkko KC, Shroyer KR. Human papillomavirus testing and molecular markers of cervical dysplasia and carcinoma. *Cancer*. 2007;111(1):1-14.
8. Brown CA, Bogers J, Sahebali S, Depuydt CE, De Prins F, Malinowski DP. Role of protein biomarkers in the detection of high-grade disease in cervical cancer screening programs. *J Oncol*. 2012;2012:289315.

9. Hwang SJ, Shroyer KR. Biomarkers of cervical dysplasia and carcinoma. *J Oncol*. 2012;2012:507286.
10. Abreu AL, Souza RP, Gimenes F, Consolaro ME. A review of methods for detect human Papillomavirus infection. *Virol J*. 2012;9(1):262.
11. Llewellyn H. Observer variation, dysplasia grading, and HPV typing: a review. *Am J Clin Pathol*. 2000;114 Suppl:S21-35.
12. Crum CP. Symposium part 1: Should the Bethesda System terminology be used in diagnostic surgical pathology?: Point. *Int J Gynecol Pathol*. 2003;22(1):5-12.
13. Mollers M, Hein JB, Henrike JV, Audrey JK, van den Broek Ingrid VF, van Bergen Jan EAM, et al. Prevalence, incidence and persistence of HPV infections in a large cohort of sexually active young women in the Netherlands. *Vaccine*. 2012; doi:pii:S0264-410X(12)01560-5. 10.1016/j.vaccine.2012.10.087. [Epub ahead of print].
14. Arbyn M, Kyrgiou M, Simoons C, Raifu AO, Koliopoulos G, Martin-Hirsch P, et al. Perinatal mortality and other severe adverse pregnancy outcomes associated with treatment of cervical intraepithelial neoplasia: meta-analysis. *BMJ*. 2008;337:a1284.
15. Instituto Nacional de Câncer. Diretrizes brasileiras para o rastreamento do câncer do colo do útero. Available from URL: http://www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/Diretrizes_rastreamento_cancer_colo_uterio.pdf [accessesed December 18, 2012].
16. Castle PE, Schiffman M, Wheeler CM, Solomon D. Evidence for frequent regression of cervical intraepithelial neoplasia-grade 2. *Obstet Gynecol*. 2009;113(1):18-25.
17. Peto J, Gilham C, Fletcher O, Matthews FE. The cervical cancer epidemic that screening has prevented in the UK. *Lancet*. 2004;364(9430):249-56.

18. Kohli M, Ferko N, Martin A, Franco EL, Jenkins D, Gallivan S, et al. Estimating the long-term impact of a prophylactic human papillomavirus 16/18 vaccine on the burden of cervical cancer in the UK. *Br J Cancer*. 2007; 96(1): 143–150.
19. Freitas RA, Carvasan GA, Morais SS, Zeferino LC. Excessive Pap smears due to opportunistic cervical cancer screening. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2008;29(5):479-82.
20. Vale DB, Morais SS, Pimenta AL, Zeferino LC. Assessment of the cervical cancer screening in the Family Health Strategy in Amparo, São Paulo State, Brazil. *Cad Saude Publica*. 2010;26(2):383-90.
21. McCredie MR, Sharples KJ, Paul C, Baranyai J, Medley G, Jones RW, et al. Natural history of cervical neoplasia and risk of invasive cancer in women with cervical intraepithelial neoplasia 3: a retrospective cohort study. *Lancet Oncol*. 2008;9(5):425-34.
22. Ostör AG. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. *Int J Gynecol Pathol*. 1993;12(2):186-92.
23. Moscicki AB, Cox JT. Practice improvement in cervical screening and management (PICSM): symposium on management of cervical abnormalities in adolescents and young women. *J Low Genit Tract Dis*. 2010;14(1):73-80.
24. Sasieni P, Castanon A, Cuzick J. Effectiveness of cervical screening with age: population based case-control study of prospectively recorded data. *BMJ*. 2009;339:b2968.
25. Vooijs GP. Benign Proliferative Reactions, Intraepithelial Neoplasia and Invasive Cancer of the Uterine Cervix. In: Bibbo M (org). *Comprehensive Cytopathology*. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1991:153-230.

26. Coleman DV, Evans DMD. Biopsy Pathology and Cytology of the Cervix. 2nd ed. London: Arnold; 1999. 446p.
27. Dufloth RM, Messias-Silva SM, Andrade LA, di Loreto C, Munhoz DM, Zeferino LC. Nuclear alterations of cells and atypical metaplastic cells in cervical smears are predictive criteria of high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2005;26(2):186-90.
28. Blanks RG, Kelly RS. Comparison of cytology and histology results in English cervical screening laboratories before and after liquid-based cytology conversion: do the data provide evidence for a single category of high-grade dyskaryosis? *Cytopathology* 2010;21(6):368-73.
29. Ronco G, Giorgi-Rossi P, Carozzi F, Confortini M, Dalla Palma P, Del Mistro A et al. Efficacy of human papillomavirus testing for the detection of invasive cervical cancers and cervical intraepithelial neoplasia: a randomised controlled trial. *Lancet Oncol.* 2010;11(3):249-57.
30. Zhao C, Chen X, Onisko A, Kanbour A, Austin RM. Follow-up outcomes for a large cohort of US women with negative imaged liquid-based cytology findings and positive high risk human papillomavirus test results. *Gynecol Oncol.* 2011;122(2):291-6.

Table 1. Morphological Criteria for cytological squamous cell results

Morphological Criteria	LSIL-CIN 1	HSIL-CIN 2	HSIL-CIN 3
Atypical cells	Superficial or intermediate	Intermediate or parabasal	Parabasal
Quantity of atypical cells	Moderate	Moderate	Marked
Atypical mature metaplastic cells	-	Present	Present
Atypical immature metaplastic cells	-	-	Present
Nuclear area (Nucleus/cytoplasmic ratio)	Less than one-third	Less than half	More than half
Dense cytoplasmic border (koilocytosis)	Present	-	-
Anisokaryosis	Slight and Moderate	Moderate	Marked
Hyperchromasia	Slight and Moderate	Moderate	Marked
Thick nuclear membrane	-	-	Present

Legend: LSIL-CIN 1 – Cytologic cervical intraepithelial neoplasia grade 1; HSIL-CIN 2- Cytologic cervical intraepithelial neoplasia grade 2; HSIL-CIN 3 – Cytologic cervical intraepithelial neoplasia grade 3.

Table 2. Impact of age on the prevalence of cytology results* for screened and unscreened women

Age	LSIL		HSIL-CIN 2		HSIL-CIN 3		HSIL	
	Unscreened %	Screened %	Unscreened %	Screened %	Unscreened %	Screened %	Unscreened %	Screened %
≤ 19	1.81	1.62	0.33	0.32	0.03	0.03	0.36	0.35
20-24	1.35	1.03	0.35	0.33	0.08	0.10	0.43	0.42
25-29	1.00	0.68	0.39	0.26	0.24	0.14	0.64	0.40
30-34	0.68	0.42	0.39	0.18	0.35	0.15	0.73	0.33
35-39	0.47	0.33	0.41	0.14	0.67	0.13	1.07	0.28
40-44	0.50	0.30	0.32	0.13	0.53	0.12	0.84	0.25
45-49	0.43	0.20	0.20	0.10	0.86	0.10	1.05	0.20
50-54	0.18	0.14	0.18	0.05	0.46	0.10	0.64	0.15
55-59	0.04	0.08	0.08	0.07	0.49	0.09	0.57	0.16
60-64	0.18	0.07	0.09	0.04	0.84	0.10	0.93	0.14
65-69	0.00	0.03	0.10	0.04	0.49	0.12	0.59	0.17
≥ 70	0.08	0.06	0.11	0.06	0.57	0.16	0.68	0.22
p-value	<0.0001	<0.0001	0.0005	<0.0001	<0.0001	0.83	<0.0001	<0.0001
ST**	-19	-66	-3,5	-29	+21	-	+8,9	-23

*Prevalence: Screen tests of 2.002.472 screened and 217.826 unscreened women. Period: 2000-2009.

**ST: Statistic test: Cochran-Armitage χ^2 - positive values correspond to increasing trends and negative values to decreasing trends.

Legend: LSIL – Low grade squamous intraepithelial lesion; HSIL-CIN 2 – Cytological cervical intraepithelial neoplasia grade 2; HSIL-CIN 3 – Cytological cervical intraepithelial neoplasia grade 3; HSIL – High grade squamous intraepithelial lesion.

Table 3. Prevalence ratio of cytology HSIL-CIN 2/HSIL-CIN 3

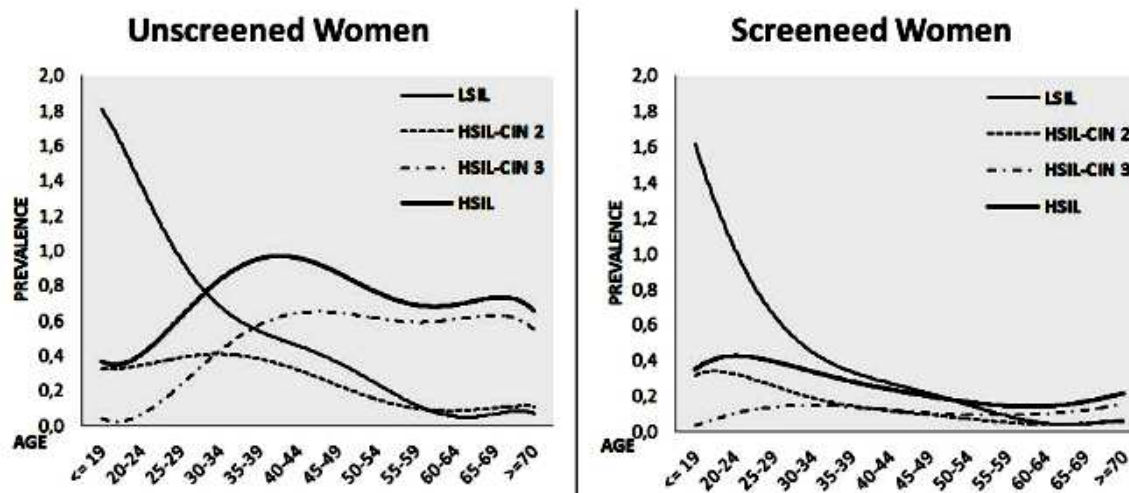
Age	Unscreened		Screened	
	PR	CI 95%	PR	CI 95%
≤29	4.73	3.90-5.75	2.72	2.49-2.97
30-49	0.66	0.50-0.87	1.11	1.02-1.19
50	0.21	0.12-0.36	0.50	0.43-0.60

Legend: PR – Prevalence Ratio, HSIL-CIN 2/HSIL-CIN 3; HSIL-CIN 2 – Cytological cervical intraepithelial neoplasia grade 2; HSIL-CIN 3 – Cytological cervical intraepithelial neoplasia grade 3.

Table 4. Protective effect of screening in LSIL, HSIL, HSIL-CIN 2 and HSIL-CIN 3 cytology results: prevalence ratio of screened over unscreened women

Age	LSIL		HSIL-CIN 2		HSIL-CIN 3		HSIL	
	PR	95% CI	PR	95% CI	PR	95% CI	PR	95% CI
≤ 19	0.89	0.83-0.96	0.97	0.82-1.14	0.95	0.58-1.57	0.97	0.83-1.13
20-24	0.76	0.70-0.82	0.94	0.80-1.10	1.22	0.88-1.68	0.99	0.86-1.14
25-29	0.68	0.59-0.79	0.66	0.52-0.84	0.58	0.43-0.78	0.63	0.52-0.76
30-34	0.63	0.50-0.80	0.48	0.35-0.65	0.43	0.31-0.60	0.45	0.36-0.57
35-39	0.70	0.46-1.07	0.35	0.22-0.56	0.20	0.14-0.29	0.26	0.19-0.35
40-44	0.60	0.42-0.87	0.40	0.25-0.63	0.23	0.16-0.33	0.29	0.22-0.39
45-49	0.47	0.28-0.79	0.49	0.23-1.04	0.12	0.08-0.17	0.19	0.13-0.26
50-54	0.79	0.35-1.77	0.28	0.12-0.63	0.22	0.13-0.38	0.24	0.15-0.37
55-59	2.04	0.28-14.63	0.82	0.20-3.35	0.18	0.10-0.33	0.27	0.16-0.47
60-64	0.37	0.13-1.02	0.45	0.11-1.91	0.12	0.07-0.19	0.15	0.09-0.24
65-69	—	—	0.43	0.10-1.87	0.25	0.13-0.49	0.28	0.15-0.52
≥ 70	0.78	0.23-2.60	0.53	0.18-1.55	0.27	0.17-0.45	0.32	0.20-0.50

Legend: PR - Prevalence Ratio, HSIL-CIN 2/HSIL-CIN 3; 95% CI – 95% Confidence Interval; HSIL-CIN 2 – Cytological cervical intraepithelial neoplasia grade 2; HSIL-CIN 3 – Cytological cervical intraepithelial neoplasia grade 3.



*Prevalence: Screen tests of 2.002.472 screened and 217.826 unscreened women. Period: 2000-2009.
 Legend: LSIL – Low grade squamous intraepithelial lesion; HSIL-CIN 2 – Cytological cervical intraepithelial neoplasia grade 2; HSIL-CIN 3 – Cytological cervical intraepithelial neoplasia grade 3; HSIL – High grade squamous intraepithelial lesion.

Figure 1. Impact of age on the prevalence of cytology results* for screened and unscreened women.

5. Discussão

As evidências sobre o impacto do rastreamento do câncer do colo do útero são escassas no Brasil. O desfecho ideal para avaliar o impacto do rastreamento é a taxa de mortalidade específica por esta neoplasia, mas também pode ser avaliado pela variação da incidência do carcinoma invasor, que, por sua vez, depende da existência de um registro populacional de incidência de câncer eficiente. Na ausência destas informações, a variação da prevalência das lesões precursoras e invasoras pode ser utilizada. O banco de dados do Laboratório de Citopatologia do CAISM disponibilizou aproximadamente 2,2 milhões de exames citológicos no período analisado, o que representa um volume de informações muito potente para esta análise, ainda que não estejam disponíveis os dados sobre a confirmação histológica desses resultados.

Foram divididos dois grandes grupos: um grupo de mulheres incluídas nos programas de rastreamento, representados pelos testes realizados em mulheres com pelo menos um exame anterior, e outro grupo de mulheres que estavam realizando o exame pela primeira vez. A prevalência dos resultados nesse último grupo pode ser considerada como representativa da história

natural das lesões cervicais em função da idade, uma vez que estas mulheres não foram submetidas a intervenções diagnósticas e terapêuticas prévias.

Os principais resultados encontrados foram a forte evidência de impacto do rastreamento citológico na redução da prevalência dos resultados alterados - HSIL, Carcinoma invasor, adenocarcinoma *in situ* e adenocarcinoma invasor. Também houve redução dos resultados de LSIL e ASC. Em mulheres jovens, o impacto do rastreamento é limitado e o perfil de HSIL é diferente daquele observado em mulheres com idade mais avançada.

Sabe-se que o rastreamento na população da região de Campinas ocorre de forma oportunística, o que significa que há uma população predominantemente jovem que é supercontrolada, em detrimento de uma população que não tem acesso a este cuidado de saúde (4,16,50). A periodicidade predominante é anual, e neste estudo as mulheres que referiram pelo menos um exame anterior, independente do intervalo, foram consideradas como rastreadas. Foi observado que, mesmo no contexto oportunístico, e utilizando a citologia como teste, o rastreamento confere proteção para mulheres acima de 25 anos.

Uma vez que o teste de HPV não é indicado para mulheres abaixo de 30 anos (3,5,32,51), a citologia continuará sendo o teste de escolha para esse grupo. Desta forma, a análise do desempenho do rastreamento citológico no grupo etário mais jovem ainda é bastante relevante.

Ainda que a recomendação oficial do Ministério da Saúde seja para iniciar o rastreamento a partir dos 25 anos (20), a Federação Brasileira das

Associações de Ginecologia e Obstetrícia indica que o teste seja iniciado após três anos do início da atividade sexual (52). Em sua mais recente revisão, as sociedades e órgãos americanos envolvidas no programa de rastreamento do câncer do colo do útero incluíram somente as mulheres com 21 anos ou mais, independentemente da idade de início da atividade sexual; entre 21 e 29 anos, o método de rastreamento é o exame citológico; a partir dos 30 anos, pode se agregar a pesquisa de HPV como coteste (32).

Dados do Ministério da Saúde revelam que no Brasil, do total de 44.570 casos de morte por câncer do colo do útero no período do estudo (10 anos), 0,05% ocorreram em mulheres abaixo de 19 anos (23 casos) e 2,5% em mulheres entre 20 a 29 anos (1.127 casos). Em países com sistemas de registro mais avançados, a incidência deste câncer não atinge 2% do total nessa população (23).

Não foi observada evidência de proteção do rastreamento em mulheres abaixo de 25 anos para resultados citológicos que correspondem às lesões precursoras. A avaliação das tendências das prevalências dos resultados com a idade revelaram que o benefício do rastreamento foi maior para os grupos mais velhos, quando a proporção de infecções persistentes pelo HPV aumenta (34). Pode-se inferir que o baixo desempenho do rastreamento em mulheres jovens está relacionado com a alta prevalência da infecção produtiva por HPV neste grupo. E a tendência em função da idade do resultado de LSIL foi semelhante ao perfil de prevalência da infecção transiente do HPV, reforçando a hipótese de que LSIL é a expressão citomorfológica da infecção recente pelo vírus (46).

O estudo não foi capaz de analisar dados de proteção para doença invasora em mulheres jovens, devido ao baixo número de casos encontrados neste grupo. Ainda que os dados obtidos neste estudo não pudessem ser confirmados por biópsia, são cada vez mais consistentes as evidências do potencial de regressão das lesões de alto grau neste grupo com o manejo conservador (48).

Essa discussão serviu de alerta para a possibilidade de se discutir o papel do diagnóstico de HSIL. Ainda que de forma equivocada, muitas mulheres jovens têm sido rastreadas neste país, gerando uma grande demanda para confirmação diagnóstica. Assim, médicos assistentes devem ser cautelosos nos encaminhamentos para não induzir a procedimentos excisionais desnecessários, com potencial de morbidade obstétrica (35).

O resultado HSIL envolve duas categorias distintas de lesões no grupo jovem: uma que representa a infecção transiente pelo HPV e outra que pode estar associado a lesão persistente e verdadeiramente precursora. Nesse grupo, entre os resultados de HSIL, a maior parte corresponde ao padrão sugestivo de CIN 2 (HSIL-CIN 2), que reconhecidamente representa infecção transiente em mulheres jovens. Nesse contexto, a modalidade ver-e-tratar é inaceitável e a abordagem mais conservadora se impõe. Ainda que estes casos possam ser encaminhados para avaliação colposcópica, procedimentos excisionais extensos devem ser muito criteriosamente indicados, após realização de biópsia dirigida.

O impacto do rastreamento não é evidente para os resultados de LSIL e de HSIL-CIN 2 porque são diagnósticos associados à infecção transiente por

HPV. Mas é capaz de reduzir de forma evidente a prevalência de HSIL. Na era pós-vacinação, a prevalência de HSIL poderá revelar novas características em mulheres jovens, indicando modificações nas recomendações para o rastreamento. Entretanto, o teste para este grupo ainda será o exame citológico.

A nomenclatura dicotômica de baixo e alto graus, estabelecida pelo Sistema de Bethesda, diminui o efeito da baixa reprodutibilidade dos resultados citológicos (44). Uma vez que a análise dos critérios morfológicos utilizados pelos citopatologistas para concluir um resultado de HSIL é subjetiva, considerar a idade poderia ser importante. Quando o resultado de HSIL ocorre em mulheres mais velhas, a abordagem mais intervencionista pode ser realizada porque provavelmente este resultado representa a lesão verdadeiramente precursora, e o clínico assistente tem mais firmeza em indicar o prosseguimento na propedêutica. Por outro lado, mulheres jovens deveriam se beneficiar se os critérios fossem mais cuidadosamente analisados e considerados.

Este estudo demonstrou o efeito protetor do rastreamento para os resultados citológicos adenocarcinoma *in situ* e invasor. Esse efeito pode ser observado para intervalos de realização do teste de até 5 anos. A questão da proteção do rastreamento para as lesões glandulares não está resolvida na literatura. Poucos estudos de base populacional demonstraram alguma evidência de proteção para essas lesões (42,53). A falta de evidências objetiva pode ser explicada porque, até recentemente, menor atenção era dada às células glandulares. Foi somente a partir do final da década de 80 que o esfregaço endocervical começou a fazer parte da técnica de amostragem

citológica e a isso se seguiu um período de adaptação dos citologistas à observação desse epitélio. Assim, antes do Sistema de Bethesda, o diagnóstico das anormalidades das células glandulares não estava incluído nas classificações citológicas. Além disso, o diagnóstico citológico de adenocarcinoma ou de células glandulares atípicas é pouco frequente, de tal forma que somente profissionais que atuam em laboratórios de grande porte acumulam experiência para a emissão mais segura do laudo citológico destas anormalidades (12,54).

As evidências de proteção para as lesões glandulares reforçam a aplicação da citologia como teste de rastreamento, conforme este estudo demonstrou. A adição do teste de HPV pode aumentar ainda mais a efetividade do rastreamento para essas lesões em mulheres acima de 30 anos, além de possibilitar um aumento do tempo do intervalo do rastreamento.

Este estudo concluiu que o rastreamento é efetivo na redução da prevalência dos resultados citopatológicos, independentemente da forma como vem sendo realizado na região. A migração de um programa oportunístico para um programa organizado poderá produzir maior efetividade, mas este aspecto não foi objeto deste estudo. Estes achados não devem ser entendidos como defesa da utilização da citologia como método isolado de rastreamento, bem como um retorno à nomenclatura em três níveis. Entretanto, indicamos uma fragilidade da nomenclatura dicotômica adotada por Bethesda para as jovens. O acúmulo de conhecimentos acerca do rastreamento deve qualificar o manejo dessas mulheres.

6. Conclusões

6.1. Artigo 1

- As taxas de prevalência dos resultados citológicos foram menores nos testes de mulheres submetidas ao rastreamento prévio para os resultados de LSIL, HSIL, SCC, AIS e adenocarcinoma.

O rastreamento apresentou um efeito protetor para os resultados citológicos escamosos em mulheres acima de 25 anos. Não foi observado efeito protetor para o resultado citológico de HSIL em mulheres menores de 25 anos. Para os resultados citológicos glandulares, o efeito protetor foi significativo a partir dos 40 anos.

- A proteção do rastreamento foi observada para intervalos de realização dos exames de até cinco anos para os resultados de SCC, adenocarcinoma *in situ* e adenocarcinoma invasor. Mesmo para intervalos maiores que cinco anos, o rastreamento conferiu algum grau de proteção para o resultado carcinoma escamoso invasor, mas não para o AIS e adenocarcinoma invasor.

6.2. Artigo 2

- As taxas de prevalência tenderam à redução com a idade para os resultados LSIL e HSIL-CIN 2, para mulheres submetidas e não submetidas ao rastreamento prévio. As prevalências tenderam ao aumento com a idade para os resultados HSIL-CIN 3 e HSIL para as mulheres não submetidas ao rastreamento prévio. Para as mulheres submetidas ao rastreamento, as taxas de prevalência mantiveram-se estáveis. CIN 2 citológico foi mais prevalente em mulheres mais jovens, fato mais evidente no grupo de testes de mulheres não submetidas ao rastreamento prévio.
- O efeito protetor do rastreamento foi significativo para os resultados HSIL-CIN 3 e HSIL para as mulheres mais velhas. Para os resultados LSIL e LIAG-CIN 2, o efeito protetor do rastreamento não foi evidente em função da idade.

7. Referências Bibliográficas

1. International Agency for Research on Cancer. GLOBOCAN 2008: Cancer Incidence and Mortality Worldwide in 2008. Lyon:IARC; 2008. [Acesso em março de 2013]. Disponível em: URL: <http://www.iarc.fr>.
2. Instituto Nacional do Câncer. Estimativas 2012: Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA; 2012. [Acesso em março de 2013]. Disponível em: URL: <http://www.inca.gov.br>.
3. International Agency for Research on Cancer. IARC Handbooks of Cancer Prevention: Cervix Cancer Screening. Volume 10. Lyon, IARC Press; 2005.
4. Adab P, McGhee SM, Yanova J, Wong CM, Hedley AJ. Effectiveness and efficiency of opportunistic cervical cancer screening comparison with organized screening. Med Care. 2004; 42(6):600-9.
5. Anttila A, von Karsa L, Aasmaa A, Fender M, PatCINk J, Rebolj M et al. Cervical cancer screening policies and coverage in Europe. Eur J Cancer. 2009;45(15):2649-58.
6. Gustafsson L, Ponten J, Zack M, Adami HO. International incidence rates of invasive cervical cancer after introduction of cytological screening. Cancer Causes Control. 1997;8(5):755–63.

7. Saraiya M, Steben M, Watson M, Markowitz L. Evolution of cervical cancer screening and prevention in United States and Canada: Implications for public health practitioners and clinicans. *Prev Med*. 2013. [Epub ahead of print]
8. Bray F, Loos AH, McCarron P, Weiderpass E, Arbyn M, Møller H et al. Trends in cervical squamous cell carcinoma incidence in 13 European countries: changing risk and the effects of screening. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005; 14(3):677-86.
9. Sankaranarayanan R, Budukh AM, Rajkumar R. Effective screening programmes for cervical cancer in low- and middle-income developing countries. *Bull World Health Org*. 2001;79:954–62.
10. Lazcano-Ponce EC, Buiatti E, Najera-Aguilar P, Alonso-de-Ruiz P, Hernandez-Avila M. Evaluation model of the Mexican national program for early cervical cancer detection and proposals for a new approach. *Cancer Causes Control*. 1998; 9:241-51.
11. Cuzick J, Arbyn M, Sankaranarayanan R, Tsu V, Ronco G, Mayrand MH et al. Overview of human papillomavirus-based and other novel options for cervical cancer screening in developed and developing countries. *Vaccine*. 2008, 19;26 Suppl 10:K29-41.
12. Peto J, Gilham C, Fletcher O, Matthews FE. The cervical cancer epidemic that screening has prevented in the UK. *Lancet*. 2004;364(9430):249–56.
13. Quinn M, Babb P, Jones J. Effect of screening on incidence of and mortality from cancer of cervix in England: evaluation based on routinely collected statistics. *BMJ*. 1999;318(7):904–8.
14. Miles A, Cockburn J, Smith RA, Wardle J. A Perspective from Countries Using Organized Screening Programs. *Cancer*. 2004;101(5):1201-13.

15. Zeferino LC, Derchain SF. Cervical cancer in the developing world. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2006;20(3):339-54.
16. Freitas RA, Carvasan GA, Morais SS, Zeferino LC. Excessive pap smears due to opportunistic cervical cancer screening. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2008;29(5):479-82.
17. Sankaranarayanan R, Thara S, Esmy PO, Basu P. Cervical cancer: screening and therapeutic perspectives. *Med Princ Pract*. 2008;17(5):351-64.
18. Agurto I, Bishop A, Sánchez G, Betancourt Z, Robles S. Perceived barriers and benefits to cervical cancer screening in Latin America. *Prev Med*. 2004;39(1):91-8.
19. Zeferino LC, Pinotti JA, Jorge JP, Westin MC, Tambascia JK, Montemor EB. Organization of cervical cancer screening in Campinas and surrounding region, São Paulo State, Brazil. *Cad Saude Publica*. 2006;22(9):1909-14.
20. Instituto Nacional do Câncer. Diretrizes brasileiras para o rastreamento do câncer do colo do útero. [Acesso em março de 2013]. Available from URL: http://www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/Diretrizes_rastreamento_cancer_colo_uterio.pdf.
21. Moraes MF. Programa Viva Mulher. *Rev Bras Cancer* [on line]. 1997;43(2).
22. Brasil – Ministério da Saúde. DATASUS: Indicadores e Dados Básicos, 2008. [documento eletrôCINO - internet]. Brasília, Brasil; 2009. [Acesso em julho de 2010]. Disponível em: URL: <http://tabnet.datasus.gov.br>.
23. Instituto Nacional do Câncer. Atlas de Mortalidade por Câncer. Rio de Janeiro: INCA; [Acesso em março de 2013]. Disponível em: URL: <http://www.inca.gov.br>.

24. Sankaranarayanan R, Gaffikin L, Jacob M, Sellors J, Robles S. A critical assessment of screening methods for cervical neoplasia. *Int J Gynaecol Obstet.* 2005; 89(Suppl 2):S4-S12.
25. Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med.* 2003;348:518–27.
26. zur Hausen H. Papillomaviruses in the causation of human cancers - a brief historical account. *Virology.* 2009;384(2):260-5.
27. Meisels A, Fortin R. Condylomatous lesions of the cervix and vagina. I. Cytologic patterns. *Acta Cytol.* 1976; 20(6):505-9.
28. Zur Hausen H. HPV vaccines: what remains to be done? Interview by Lauren Constable. *Expert Rev Vaccines.* 2011;10(11):1505-7.
29. Snijders PJF, Steenbergen RDM, Heideman DAM, Meijer CJLM. HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications. *J Pathol* 2006; 208: 152–64.
30. Wallin KL, Wiklund F, Angström T, Bergman F, Stendahl U, Wadell G et al. Type-specific persistence of human papillomavirus DNA before the development of invasive cervical cancer. *N Engl J Med.* 1999;341(22):1633-8.
31. Kjær SK, Frederiksen K, Munk C, Iftner T. Long-term absolute risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 or worse following human papillomavirus infection: role of persistence. *J Natl Cancer Inst.* 2010;102(19):1478-88.
32. Saslow D, Solomon D, Lawson HW, Killackey M, Kulasingam SL, Cain J et al. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology Screening Guidelines for the Prevention and Early Detection of Cervical Cancer. *Am J Clin Pathol.* 2012;137:516-42.

33. Katki HA, Kinney WK, Fetterman B, Lorey T, Poitras NE, Cheung L et al. Cervical cancer risk for women undergoing concurrent testing for human papillomavirus and cervical cytology: a population-based study in routine clinician practice. *Lancet Oncol.* 2011;12(7):663-72.
34. Baseman JG, Koutsky LA. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol.* 2005;32 Suppl 1:S16-24.
35. Arbyn M, Kyrgiou M, Simoens C, Raifu AO, Koliopoulos G, Martin-Hirsch P et al. Perinatal mortality and other severe adverse pregnancy outcomes associated with treatment of cervical intraepithelial neoplasia: meta-analysis. *BMJ.* 2008;337:a1284.
36. Sasieni P, Adams J, Cuzick J. Benefit of cervical screening at different ages: evidence from the UK audit of screening histories. *Br J Cancer.* 2003 7;89(1):88-93.
37. Castle PE, Carreon JD. Practice improvement in cervical screening and management: symposium on management of cervical abnormalities in adolescents and young women. *J Low Genit Tract Dis.* 2010;14:238-40.
38. Sasieni P, Castanon A, Cuzick J. Effectiveness of cervical screening with age: population based case-control study of prospectively recorded data. *BMJ.* 2009;339:b2968.
39. Parkin DM. A computer simulation model for the practical planning of cervical cancer screening programmes. *Br J Cancer.* 1985;51(4):551-68.
40. Naucler P, Ryd W, Törnberg S, Strand A, Wadell G, Elfgrén K et al. Efficacy of HPV DNA testing with cytology triage and/or repeat HPV DNA testing in primary cervical cancer screening. *J Natl Cancer Inst.* 2009;101(2):88-99.

41. Kulasingam S, Havrilesky L, Ghebre R, Myers ER. Screening for Cervical Cancer: A decision analysis for the US Preventive Services Task Force. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality. 2011. AHRQ Pub. No. 11-05157-EF-1.
42. Gunnell AS, Ylitalo N, Sandin S, Sparén P, Adami HO, Ripatti S. A longitudinal Swedish study on screening for squamous cell carcinoma and adenocarcinoma: evidence of effectiveness and overtreatment. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007;16(12):2641-8.
43. Pak SC, Martens M, Bekkers R, Crandon AJ, Land R, CINKlin JI, Perrin LC, Obermair A. Pap smear screening history of women with squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the cervix. *Aust N Z J Obst Gynaecol.* 2007;47:504–7.
44. Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M et al. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA.* 2002;287(16):2114-9.
45. McCredie MR, Sharples KJ, Paul C, Baranyai J, Medley G, Jones RW et al. Natural history of cervical neoplasia and risk of invasive cancer in women with cervical intraepithelial neoplasia 3: a retrospective cohort study. *Lancet Oncol.* 2008;9(5):425-34.
46. Ostör AG. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. *Int J Gynecol Pathol.* 1993;12(2):186-92.
47. Monteiro DL, Trajano AJ, Russomano FB, Silva KS. Prognosis of intraepithelial cervical lesion during adolescence in up to two years of follow-up. *J Pediatr Adolesc Gynecol.* 2010;23(4):230-6.

48. Discacciati MG, de Souza CA, d'Otavianno MG, Ângelo-Andrade LA, Westin MC, Rabelo-Santos SH. et al. Outcome of expectant management of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 in women followed for 12 months. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2011;155(2):204-8.
49. Castle PE, Stoler MH, Wright TC Jr, Sharma A, Wright TL, Behrens CM. Performance of carcinogenic human papillomavirus (HPV) testing and HPV16 or HPV18 genotyping for cervical cancer screening of women aged 25 years and older: a subanalysis of the ATHENA study. *Lancet Oncol.* 2011;12(9):880-90.
50. Vale DB, Morais SS, Pimenta AL, Zeferino LC. Assessment of the cervical cancer screening in the Family Health Strategy in Amparo, São Paulo State, Brazil. *Cad Saude Publica.* 2010;26(2):383-90.
51. Ronco G, Giorgi-Rossi P, Carozzi F, Confortini M, Dalla Palma P, Del Mistro A et al. Efficacy of human papillomavirus testing for the detection of invasive cervical cancers and cervical intraepithelial neoplasia: a randomised controlled trial. *Lancet Oncol.* 2010;11(3):249-57.
52. Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia. Rastreamento do câncer do colo uterino no Brasil. In: Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia (org.). *Manual de Orientação Trato Genital Inferior.* São Paulo, 2010.
53. Sasieni P, Castanon A, Cuzick J. Screening and adenocarcinoma of the cervix. *Int J Cancer.* 2009;125(3):525-9.
54. Kohli M, Ferko N, Martin A, Franco EL, Jenkins D, Gallivan S et al. Estimating the long-term impact of a prophylactic human papillomavirus 16/18 vaccine on the burden of cervical cancer in the UK. *Br J Cancer.* 2007; 96(1): 143–50.

8. Anexos

8.1. Anexo 1 – Formulário de Requisição e Resultados de Exames

UNICAMP		IDENTIFICAÇÃO DO REQUISITANTE		EXAME CITOLÓGICO-PREVENÇÃO DO CÂNCER DO COLO UTERINO	
NOME		Nº da Matrícula		Unidade Atendimento	
DUM		INFORMAÇÕES CLÍNICAS RELEVANTES		DATA DA COLHEITA	
MENOPAUSA AOS ANOS		☐ GESTANTE ☐ VERRUGA VAGINAL ☐ RADIOTERAPIA PRÉVIA ☐ CORRIMENTO VAGINAL ☐ SANGRAMENTO GENITAL ☐ HISTERECTOMIA ☐ CAUTERIZAÇÃO ÚLTIMOS 3 MESES		RESPONSÁVEL PELA COLHEITA	
TEMPO DESDE EXAME ANTERIOR (ANOS)		FINALIDADE		LOCAL DA COLHEITA	
☐ PRIMEIRO EXAME ☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6		☐ ROTINA ☐ CONTROLE DE EXAME PRÉVIO ALTERADO ☐ CONTROLE PÓS-TRATAMENTO (DETALHAR EM OBSERVAÇÕES CLÍNICAS)		☐ CANAL CERVICAL ☐ ECTOCÉRVICE ☐ FUNDO SACO	
IDADE DA PACIENTE (ANOS COMPLETOS)		IDADE DE INÍCIO DA ATIVIDADE SEXUAL		DATA DA COLHEITA	
☐ 10 ☐ 20 ☐ 30 ☐ 40 ☐ 50 ☐ 60 ☐ 70 ☐ 80 ☐ 90		☐ NÃO TEVE ATIVIDADE SEXUAL ☐ 10 ☐ 15 ☐ 20 ☐ 25 ☐ 30 ☐ 35 ☐ 40 ☐ 45 ☐ 50		RESPONSÁVEL PELA COLHEITA	
OBSERVAÇÕES CLÍNICAS					
USO EXCLUSIVO DO LABORATÓRIO					
RESULTADO					
1- QUALIDADE DA AMOSTRA		3- DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO		OBSERVAÇÕES SOBRE O EXAME	
☐ 1.1 SATISFATÓRIA ☐ 1.2- SATISFATÓRIA, MAS LIMITADA POR: ☐ AUSÊNCIA DE ELEMENTOS CEL. DA JUNÇÃO ESCAMOCOLUNAR ☐ FIXAÇÃO POUCO SATISFATÓRIA ☐ OUTROS (ANOTAR EM OBSERVAÇÕES SOBRE O EXAME) ☐ 1.3- INSATISFATÓRIA: ☐ ESFREGAÇO ESCASSO ☐ ESFREGAÇO MAL FIXADO ☐ ESFREGAÇO PURULENTO ☐ ESFREGAÇO HEMORRÁGICO ☐ OUTROS (ANOTAR EM OBSERVAÇÕES SOBRE O EXAME) ☐ REPETIR COLHEITA		☐ CÉLULAS EPITELIAIS DENTRO DOS LIMITES DE NORMALIDADE ☐ ALTERAÇÕES CELULARES INFLAMATÓRIAS ☐ ALTERAÇÕES ACTÍNICAS ☐ 3.1- CÉLULAS EPITELIAIS ESCAMOSAS ☐ ATIPIAS DE SIGNIFICADO INDETERMINADO (ASCUS) (VEJA OBSERVAÇÕES SOBRE O EXAME) ☐ 3.1.1- LESÃO DE BAIXO GRAU ☐ EFEITO CITOPÁTICO COMPATÍVEL COM HPV ☐ NIC 1 (DISPLASIA LEVE) ☐ 3.1.2 LESÃO DE ALTO GRAU ☐ NIC 2 (DISPLASIA MODERADA) ☐ NIC 3 (DISPLASIA ACENTUADA) ☐ NIC 3 (Ca "IN SITU") ☐ 3.1.3 - CARCINOMA ESCAMOSO INVASIVO ☐ 3.2- CÉLULAS EPITELIAIS GLANDULARES ☐ ATIPIAS DE SIGNIFICADO INDETERMINADO (AGUS) (VEJA OBSERVAÇÕES SOBRE O EXAME) ☐ ADENOCA "IN SITU" ☐ ADENOCARCINOMA INVASIVO ☐ 3.3- OUTRAS NEOPLASIAS MALIGNAS		☐ 2- DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO ☐ CÂNDIDA sp ☐ TRICHOMONAS VAGINALIS ☐ GARDNERELLA VAGINALIS "CLUE CELLS" ☐ MOBILUNCUS sp "COMMA CELLS" ☐ ACTINOMYCES sp ☐ SUGESTIVO DE CHLAMYDIA ☐ VÍRUS DO GRUPO HERPES ☐ OUTROS (ANOTAR EM OBSERVAÇÕES SOBRE O EXAME) ☐ NÃO IDENTIFICADO AG. PATOGÊNICOS	
DATA		ASSINATURA CITOTÉCNICO		ASSINATURA REVISOR	
				ASSINATURA CITOPATOLOGISTA	

8.2. Anexo 2 – Critérios Morfológicos para Resultados Citológicos em Lesões Escamosas Precursoras

Morphological Criteria	LSIL-CIN 1	HSIL-CIN 2	HSIL-CIN 3
Atypical cells	Superficial or intermediate	Intermediate or parabasal	Parabasal
Quantity of atypical cells	Moderate	Moderate	Marked
Atypical mature metaplastic cells	-	Present	Present
Atypical immature metaplastic cells	-	-	Present
Nuclear area (Nucleus/cytoplasmic ratio)	Less than one-third	Less than half	More than half
Dense cytoplasmic border (koilocytosis)	Present	-	-
Anisokaryosis	Slight and Moderate	Moderate	Marked
Hyperchromasia	Slight and Moderate	Moderate	Marked
Thick nuclear membrane	-	-	Present

Legend: LSIL-CIN 1 – Cytologic cervical intraepithelial neoplasia grade 1; HSIL-CIN 2- Cytologic cervical intraepithelial neoplasia grade 2; HSIL-CIN 3 – Cytologic cervical intraepithelial neoplasia grade 3.

8.3. Anexo 3 – Parecer da Comissão de Ética em Pesquisa



**FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html

CEP, 25/05/10
(Grupo III)

PARECER CEP: Nº 375/2010 (Este nº deve ser citado nas correspondências referente a este projeto)
CAAE: 0287.0.146.000-10

I - IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: “RISCO ESTIMADO DAS LESÕES PRECURSORAS DO COLO DO ÚTERO NOS EXAMES CITOLÓGICOS EM FUNÇÃO DO TIPO DE LESÃO, INTERVALO ENTRE OS CONTROLES E DA IDADE”.

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Diama Bhadra Andrade Peixoto do Vale

INSTITUIÇÃO: CAISM/UNICAMP

APRESENTAÇÃO AO CEP: 06/05/2010

APRESENTAR RELATÓRIO EM: 25/05/11 (O formulário encontra-se no *site* acima)

II - OBJETIVOS

Analisar o perfil de distribuição dos diagnósticos dos exames de citologia para rastreamento do câncer do colo do útero na população usuária do SUS na macro-região de Campinas/SP, em função da idade das mulheres e do intervalo entre os controles dos exames.

III - SUMÁRIO

Estudo transversal de avaliação de prevalências a partir do banco de dados do Laboratório de Citopatologia do CAISM/UNICAMP. Os sujeitos do estudo serão todas as mulheres que tiveram seus exames encaminhados ao laboratório no período de janeiro de 1999 a dezembro de 2008. A amostra esperada é de cerca de 2,3 milhões de exames. Para análise de prevalência ao longo dos anos será utilizado o teste de qui-quadrado de Cochran-Amritage para tendência. Para avaliação de risco será utilizada Razão de Prevalência e Intervalo de Confiança de 95%. Para controlar o efeito da idade será utilizada Razão de Prevalência ajustada através da Regressão Logística pelo modelo de Cox.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

O projeto está bem redigido, o desenho do estudo é adequado, apresenta critérios de inclusão e exclusão definidos adequadamente. Os procedimentos para identificação dos casos estão descritos adequadamente. A metodologia a ser empregada está bem descrita. Os aspectos éticos estão adequadamente abordados. A solicitação de dispensa da aplicação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido é pertinente já que as informações coletadas constam do banco de dados do Laboratório referentes às colpocitologias de rotina.

V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e complementares, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa, a dispensa do Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, bem como todos os anexos incluídos na pesquisa supracitada.

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

VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

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

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

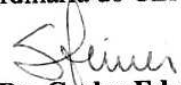
O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e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

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

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

VII – DATA DA REUNIÃO

Homologado na V Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 25 de maio de 2010.


Prof. Dr. Carlos Eduardo Steiner
PRESIDENTE do COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM / UNICAMP