

**Larissa de Melo Kuil**

**LAVADO CÉRVICO-VAGINAL: POSSÍVEL ALTERNATIVA PARA O RASTREAMENTO DO  
CÂNCER DO COLO DO ÚTERO NO BRASIL?**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde.

Área de Concentração: Oncologia

Orientador: Prof. Dr. José Humberto Tavares Guerreiro Fregnani

Barretos, SP

2015

**Larissa de Melo Kuil**

**LAVADO CÉRVICO-VAGINAL: POSSÍVEL ALTERNATIVA PARA O RASTREAMENTO DO  
CÂNCER DO COLO DO ÚTERO NO BRASIL?**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde.

**Área de Concentração:** Oncologia  
**Nível:** Mestrado

**Orientador:** Prof. Dr. José Humberto Tavares Guerreiro Fregnani

Barretos, SP

2015

K95I Kuil, Larissa de Melo

**Lavado cérvico-vaginal: Possível alternativa para o rastreamento do câncer do colo do útero no Brasil?** / Larissa de Melo Kuil. - Barretos, SP 2015.

f. 78. : il.

Orientador: José Humberto Tavares Fregnani.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2015.

1. Prevenção Secundária. 2. Papilomavírus Humano. 3. Neoplasias do colo do útero. 4. Esfregaço Cervical. 5. Técnicas para Diagnóstico molecular. I. Autor. II. Fregnani, José Humberto Tavares

CDD 616.911

### FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada por Rafael de Paula Araújo CRB 8/9130

Biblioteca da Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos

## FOLHA DE APROVAÇÃO

**Larissa de Melo Kuil**

**Lavado cérvico-vaginal: alternativa para rastreamento do colo do útero no Brasil?**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde - Área de Concentração: Oncologia

Data da aprovação: 18/03/2015

### **Banca Examinadora:**

Prof. Dr. Eduardo Anselmo Garcia

Instituição: Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos

Prof. Dr. Adhemar Longatto Filho

Instituição: Fundação Pio XII - Hospital de Câncer de Barretos

Prof. Dr. José Humberto Tavares Guerreiro Fregnani

Orientador – Presidente da Banca

Esta dissertação (ou tese, se for o caso) foi elaborada e está apresentada de acordo com as normas da Pós-Graduação do Hospital de Câncer de Barretos – Fundação Pio XII, baseando-se no Regimento do Programa de Pós-Graduação em Oncologia e no Manual de Apresentação de Dissertações e Teses do Hospital de Câncer de Barretos. Os pesquisadores declaram ainda que este trabalho foi realizado em concordância com o Código de Boas Práticas Científicas (FAPESP), não havendo nada em seu conteúdo que possa ser considerado como plágio, fabricação ou falsificação de dados. As opiniões, hipóteses e conclusões ou recomendações expressas neste material são de responsabilidade dos autores e não necessariamente refletem a visão da Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos.

Embora o Núcleo de Apoio ao Pesquisador do Hospital de Câncer de Barretos tenha realizado as análises estatísticas e orientado sua interpretação, a descrição da metodologia estatística, a apresentação dos resultados e suas conclusões são de inteira responsabilidade dos pesquisadores envolvidos.

Dedico este trabalho a Deus pela força e coragem nesta caminhada e aos meus pais, pelo incentivo e apoio, em todos os momentos.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. **Dr. José Humberto Tavares Guerreiro Fregnani**, pela oportunidade, paciência, apoio e confiança em realizar este trabalho. Agradeço pelos ensinamentos que me foi proporcionado, o que contribuiu extremamente para minha vida profissional, ensinando o valor de um profissional de excelência.

Ao **Dr. Adhemar Longatto Filho** e **Dr. Victor Piana**, pelo aprendizado, acompanhamento e sugestões no decorrer das bancas, o que enriqueceu muito este trabalho.

Ao **Dr. Cristóvam Scapulatempo Neto**, que proporcionou todo o apoio no departamento de patologia, além de revisar as lâminas confeccionadas, e contribuir muito com o resultado final deste trabalho.

Ao **Departamento de Patologia** em especial **Ivanete Elaine da Silva, Peterson Lemos Macedo, Emília Sesui Sato** e **Matilde Aparecido dos Santos**, pelos serviços prestados.

A toda equipe do grupo de **HPV do Hospital de Câncer de Barretos**, em especial a **Adriana Lorenzi** e **Maíra Stein**, que não mediram esforços em realizar o processamento e análise do material, e se tornarem grandes companheiras de trabalho.

Ao **Departamento de Prevenção** em especial ao **Julio César P. Rezende, Márcio Antoniazzi**, e as **técnicas de enfermagem** pela gentileza e esforços em realizar as coletas.

As minhas colegas de trabalho, que são grandes amigas **Viviane Andrade**, **Natália Del' Angelo**, **Talita Garcia** e **Natalia Campacci**, que me apoiaram e auxiliaram no desenvolver deste estudo.

Aos meus colegas de trabalho do **Núcleo de Apoio ao Pesquisador**, uma equipe maravilhosa, que me proporcionou todo o apoio nesta fase e me orgulho em ser fazer parte dela, pela ajuda e compreensão, em especial **Mariana Silva Pereira** e **Érica Ichiba**, que colaboraram com a condução do estudo. Ao **Cleyton Z. de Oliveira** e **Rossana Verônica M. Lopes** que participaram das bancas de acompanhamento.

A minha colega de pós graduação, que se tornou uma grande amiga **Allini Mafra**, tentando descobrir os mistérios do HPV e compartilhando os momentos de dificuldades e alegrias.

Ao departamento de **Pós Graduação**, **Brenda Honda** e **Silvana Rodrigues**, por oferecerem apoio necessário e compreensão no decorrer destes dois anos.

Aos meus pais **Altino Kuil** e **Sebastiana C. de Melo Kuil**, que são exemplos de amor, honestidade e esforço.

As minhas amigas, **Fabiola Brandini** e **Mariana Fabro**, as quais divido minhas alegrias, tristezas e conquistas diariamente, agradeço pelo apoio e compreensão.

As **pacientes** que aceitaram participar do estudo, disponibilizando tempo, atenção e colaboração.

**“Deus não escolhe os capacitados, capacita os escolhidos. Fazer ou não fazer algo só depende de nossa vontade e perseverança”**

**Albert Einstein**

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>19</b>
1.1	O câncer de colo do útero no Mundo e no Brasil	19
1.2	Desenvolvimento do Papilomavirus humano e o câncer de colo do útero:	19
1.3	Prevenção e rastreamento	20
1.4	Outros métodos de rastreamento do câncer de colo do útero	22
1.5	Métodos alternativos de coleta para o rastreamento do câncer de colo do útero:	25
<b>2</b>	<b>RACIONAL DO ESTUDO</b>	<b>30</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVO</b>	<b>31</b>
3.1	Objetivo geral	31
3.2	Objetivos específicos	31
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b>	<b>32</b>
4.1	Desenho do estudo	32
4.2	População do estudo	32
4.3	Coleta de Material	32
4.4	Formulário de coleta de dados	36
4.5	Análise do material biológico	36
4.6	Citologia em base líquida	36
4.7	Pesquisa HPV por Captura Híbrida™	37
4.8	Pesquisa do HPV por Cobas HPV™	39
4.9	Análise estatística	39
4.10	Aspectos éticos	40
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>41</b>
5.1	Descrição da população do estudo	41

5.2	Aceitação do método de lavagem vaginal (auto coleta):	41
5.3	Comparação dos resultados dos exames de acordo com o tipo de coleta	45
5.4	Concordância dos resultados dos exames:	48
5.5	Análise de acurácia para diagnóstico de NIC2+:	49
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	<b>53</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>58</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>59</b>
	<b>ANEXOS</b>	<b>63</b>
	<b>Anexo 1 - Termo De Consentimento Livre E Esclarecido</b>	<b>63</b>
	<b>Anexo 2 - Questionário Sociodemográfico</b>	<b>71</b>
	<b>Anexo 3 - Questionário: Dor E Aceitação</b>	<b>73</b>
	<b>Anexo 4 - Resultado Dos Exames</b>	<b>77</b>
	<b>Anexo 5 - Parecer Consubstanciado Do CEP</b>	<b>79</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1 -</b>	Materiais utilizados para realizar os lavados	33
<b>Figura 2 -</b>	Materiais utilizados para realizar os lavados	34
<b>Figura 3 -</b>	Procedimento de como foi realizado a auto coleta	34
<b>Figura 4 -</b>	Fluxo de trabalho para coleta e processamento dos materiais biológicos	35

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1 -</b>	Caracterização da população do estudo de acordo com aspectos sociodemográficos, hábitos sexuais, histórico reprodutivo, exame colposcópico e biópsia do colo do útero. Hospital de Câncer de Barretos, 2013.	43
<b>Tabela 2 -</b>	Número e porcentagem de casos de acordo com o as perguntas do questionário de aceitação do método de coleta por lavagem vaginal. Hospital de Câncer de Barretos, de 2013.	44
<b>Tabela 3 -</b>	Distribuição dos casos de acordo com os motivos apontados para recusar a autocoleta em relação ao numero total de inclusões. Hospital de Câncer de Barretos, 2013.	45
<b>Tabela 4 -</b>	Descrição dos valores reportados na escala Visual Analógica para dor de acordo com o tipo de coleta. Hospital de Câncer de Barretos, 2013.	45
<b>Tabela 5 -</b>	Distribuição dos casos de acordo com os resultados do exame de citologia cervical e teste do HPV e o tipo de coleta. Hospital de Câncer de Barretos, 2013.	46
<b>Tabela 6 -</b>	Comparação dos resultados do exame citológico e do teste do HPV entre o lavado vaginal e o esfregaço cervical (coleta 3). Hospital de Câncer de Barretos, 2013.	47
<b>Tabela 7 -</b>	Comparação dos resultados do exame citológico e do teste do HPV entre lavado cervical e o esfregaço cervical (coleta 3). Hospital de Câncer de Barretos, 2013.	48
<b>Tabela 8 -</b>	Concordância das coletas nos lavados em relação ao esfregaço cervical de acordo com os resultados citológicos e o teste do HPV. Hospital de Câncer de Barretos, 2013.	49
<b>Tabela 9 -</b>	Concordância dos testes de HPV (Captura Híbrida e Cobas HPV) nas coletas por lavado. Hospital de Câncer de Barretos, de 2013.	49
<b>Tabela 10 -</b>	Resultados dos testes de HPV em mulheres com diagnóstico de NIC2+ de acordo com o momento da coleta e o tipo de teste realizado. Hospital de Câncer de Barretos, 2013.	51
<b>Tabela 11 -</b>	Análise de acurácia para o diagnóstico de NIC2 + de acordo com o resultado citológico e o teste do HPV (as diferenças estatisticamente significativas em relação ao esfregaço cervical estão destacadas em vermelho). Hospital de Câncer de Barretos, 2013.	52

## LISTA DE ABREVIATURAS

ASC - H	Células escamosas atípicas de significado indeterminado, não podendo excluir lesão de alto grau
ASC-US	Células escamosas atípicas de significado indeterminado
AUC	Área sob a curva ROC
CEP	Comitê de Ética e Pesquisa
cm	Centímetro
DNA	Ácido desoxirribonucléico (do inglês: deoxyribonucleic acid)
dp	Desvio padrão
FDA	Administração de alimentos e drogas (do inglês: Food and Drugs Administration)
FOSP	Fundação Oncocentro de São Paulo
HCB	Hospital de Câncer de Barretos
HPV	Papilomavírus Humano (do inglês: Human Papillomavirus)
HSIL	Lesão intra-epitelial de alto grau
IC 95%	Intervalo de confiança de 95%
INCA	Instituto Nacional de Câncer
IVA	Inspeção visual por ácido acético
LSIL	Lesão intra-epitelial de baixo grau
MCM2	<i>Minichromosome maintenance protein 2</i>
NIC	Neoplasia intra-epitelial cervical
NIC 2+	Diagnóstico de neoplasia intra-epitelial cervical de grau 2 ou pior
PCR	Reação por cadeia de polimerase (do inglês: Polymerase Chain Reaction)
rpm	Rotação por minuto
Top2a	<i>DNA topoisomerase 2 alpha</i>
vs	Versus
VP	Valor preditivo

## LISTA DE SIMBOLOS

$\mu\text{L}$	Microlitros
$\beta$	Beta
%	Porcentagem
+	Positivo
-	Menos ou negativo
<	Menor
>	Maior
=	Igual

## RESUMO

Kuil LM. Lavado cérvico-vaginal: Possível alternativa para o rastreamento do câncer do colo do útero no Brasil? **Dissertação (mestrado)**. Barretos: Hospital de câncer de Barretos; 2015.

**Justificativa:** O câncer do colo do útero é um grave problema de saúde pública no Brasil, sendo causa de significativa morbimortalidade entre as mulheres brasileiras. Os resultados do programa de rastreamento ainda são decepcionantes, sendo necessário estudar novas formas de rastreamento do câncer de colo do útero para o controle mais efetivo desta doença no Brasil. A coleta de material cervicovaginal por lavado pode representar um método alternativo e interessante ao Programa Nacional de Controle do Câncer do Colo do Útero do Ministério da Saúde. Há poucos estudos nacionais procurando novos métodos de rastreamento do câncer de colo do útero.

**Objetivo:** Comparar três formas de coleta de material para o rastreamento do câncer do colo do útero: 1) Lavado cérvico-vaginal coletado pela própria mulher (autocoleta); 2) Lavado cérvico-vaginal coletado por um médico e; 3) Esfregaço cervical tradicional.

**Materiais e Métodos:** O estudo incluiu 150 mulheres com idade entre 18 e 64 anos, encaminhadas ao Ambulatório de Colposcopia do Departamento de Ginecologia e do Departamento de Prevenção do Hospital de Câncer de Barretos por alteração do exame de Papanicolaou. De cada paciente serão coletadas as seguintes amostras biológicas: duas amostras de lavado cérvico-vaginal (uma coletada pela paciente e outra pelo médico), uma amostra de esfregaço cervical (coletada pelo médico) e uma amostra histológica do colo (biópsia do colo, se necessário). As amostras de lavado cérvico-vaginal bem como o do esfregaço cervical foram divididas em duas alíquotas: uma destinada ao estudo citológico (citologia em base líquida) e outra para a pesquisa molecular de HPV de alto risco (Captura Híbrida™ e Cobas 4800). **Resultados:** Colposcopia anormal foi encontrado em 59,2% das mulheres. Houve uma percentagem mais elevada de diagnóstico HSIL em comparação com o esfregaço. A taxa de diagnóstico ASCUS foi maior no esfregaço, em comparação com a lavagem do colo do útero (32,1% vs 20,5%;.  $p = 0,013$ ). Não houve diferença estatisticamente significativa na taxa de positividade do teste de HPV entre os três tipos de amostragem. Os

resultados do exame citológico de lavagem vaginal e cervical tiveram baixa concordância com a amostragem padrão. Observou-se baixa a moderada concordância entre o teste de HPV vaginal ( $\kappa = 0,43$ , 95% CI 0,27-0,59) e lavagem cervical ( $\kappa = 0,39$ , 95%: 0,24-0,54), em comparação com a amostragem padrão. Ao comparar os testes de detecção de HPV, a concordância entre a Captura Híbrida e o Cobas foi regular, notando melhor desempenho no teste molecular Cobas. A coleta por lavado vaginal mostrou menor acurácia em predizer NIC2+, com sensibilidade de 76,5%, VP positivo de 30,2% e AUC de 0,70% significativamente menores em relação à coleta padrão (esfregaço) com sensibilidade 82,1%, VP positivo 53,5% e AUC 0,82%. A coleta por lavado cervical mostrou acurácia igual a 0,80% e sensibilidade igual a 88,9% semelhantes à coleta padrão quando se utilizou o teste do HPV Cobas como critério diagnóstico. **Conclusão:** As participantes do estudo reportaram que o método de autocoleta foi fácil de realizar, apresentando preferência em realizar este método. Os resultados citológicos não apresentaram boa reprodutibilidade nos lavados quando comparados ao esfregaço cervical. Ao comparar a reprodutibilidade nos resultados moleculares, encontrou-se concordância moderada nas três formas de coleta.

**Palavras-chave (Mesh / DeCS):** Prevenção secundária, Infecções por Papillomavírus, Neoplasias do colo uterino, Esfregaço cervical, Técnicas de diagnóstico molecular, Auto coleta.

## ABSTRACT

Kuil LM. Cervicovaginal lavage: Possible alternative for cervical cancer screening? **Dissertation (Master's degree)**. Barretos: Barretos Cancer Hospital; 2015.

**Background:** Cervical cancer is a severe public health problem in Brazil, because of significant morbidity and mortality among Brazilian women. The results of the screening program are still disappointing, being necessary to study new ways of screening for cervical cancer for more effective control of this disease in Brazil. Cervicovaginal lavage may represent an alternative method and interesting to the National Program of Cervical Cancer Control of the Ministry of Health. There are few national studies looking for new methods of cervical cancer screening. **Aim:** To compare three sampling methods of cervical cancer screening: 1) Vaginal lavage performed by the woman (self-sampling), 2) Cervical lavage collected by the physician and; 3) Pap smears (liquid based). **Materials and Methods:** The study included 150 women aged 18 to 64 years, referred to the Colposcopy Clinic of the Department of Cancer Prevention at the Barretos Cancer Hospital due to abnormal Pap smears. Each patient collected the following biological samples: two samples of cervicovaginal lavage (one collected by the patient and the other by the physician) and one cytological sample from the cervix. Cervicovaginal lavage and the cervical smears samples were divided into two aliquots: one for the cytological study and the other for molecular analysis of high-risk HPV (Hybrid Capture™ and Cobas 4800™). **Results:** Abnormal colposcopy was found in 59.2% of women. There was a higher proportion of HSIL diagnosis in comparison to the standard sampling. The rate of ASCUS diagnosis was higher at standard sampling in comparison to the cervical lavage (32,1% vs 20,5%;  $p = 0,013$ ). No statistically significant difference was noted in the positivity rate of HPV testing among the three types of sampling. The results of cytologic examination of vaginal and cervical lavage had low agreement with standard sampling. We noticed low to moderate concordance between HPV testing of vaginal ( $\kappa = 0,43$ , 95% CI 0,27-0,59) and cervical lavage ( $\kappa = 0,39$ , 95%: 0,24-0,54), in comparison to the

standard sampling. Cobas molecular test had a better performance in comparison to Hybrid Capture. The collection performed by vaginal lavage showed lower accuracy in predicting CIN2 +, with sensitivity = 76.5%, positive PV = 30.2% and AUC = 0.70, significantly lower in comparison to the standard collection (smear), which had sensitivity = 82.1%, positive VP = 53.5% and AUC = 0.82. The collection by cervical lavage showed AUC equal to 0.80 and sensitivity equal to 88.9%, similar to the standard collection when using the Cobas HPV testing as a diagnostic criterion.

**Conclusion:** Study participants reported that self-collection method is easy to perform, with preference to carry out this method. The cytological results did not show good reproducibility in lavage when compared to cervical smear. It was found moderate agreement in the three forms of collection according to HPV test.

**Keywords (Mesh / DeCS):** Secondary prevention, Human Papillomavirus, Uterine Cervical Neoplasms , Cervical smears, molecular diagnostic techniques

## **1. INTRODUÇÃO**

### **1.1. O câncer de colo do útero no Mundo e no Brasil:**

O câncer do colo do útero é um importante problema de saúde pública, correspondendo à terceira causa de câncer em mulheres no mundo, perdendo apenas para o câncer de mama e colo retal. Anualmente são registrados cerca de 500.000 casos novos e 250.000 mortes em decorrência da doença<sup>1, 2</sup>. Representando 9% (529.800) do total de novos casos de câncer e 8% (275.100) do total de óbitos por câncer entre mulheres em 2008<sup>3</sup>. Aproximadamente 80% dos casos de câncer do colo do útero ocorrem nos países em desenvolvimento, com coeficientes de incidência maiores na América Latina, Caribe, África sub-saariana e sul e sudeste da Ásia<sup>1, 2, 4</sup>. As incidências mais elevadas no mundo foram registradas em Harare, em Zimbábwe (África), com coeficiente padronizado de 47,3 (por 100.000 mulheres), seguida por Kyadondo, em Uganda (África), com 45,8 e Trujillo, no Peru, com 43,9<sup>5</sup>. A seguir, as maiores incidências foram registradas no Brasil, respectivamente em Cuiabá (37,7), Brasília (37,7) e Goiânia (33,9). São Paulo ocupou a 13ª posição, com coeficiente padronizado de 21,1<sup>5</sup>. Segundo os dados da Fundação Oncocentro de São Paulo (FOSP), foram registrados 16.263 casos de câncer de colo do útero no estado de São Paulo no período de 2000 a 2007<sup>6</sup>.

O câncer de colo do útero foi responsável por 275 mil mortes em 2008, cerca de 88% destas ocorrem em países em desenvolvimento como: 53 mil na África, 31.400 na América Latina e no Caribe, e 159.800 em Ásia<sup>7</sup>.

### **1.2. Desenvolvimento do câncer de colo do útero e Papilomavirus humano:**

O papilomavírus humano (HPV, do inglês, human papillomavirus) é o principal fator de risco para o desenvolvimento do câncer de colo do útero, e uma das infecções mais prevalentes transmitidas sexualmente<sup>8</sup>.

O HPV pertence à família *Papillomaviridae*, que é constituída por mais de 120 tipos de vírus compostos por um capsídeo não envelopado de aproximadamente 50nm de diâmetro e que engloba uma fita dupla e circular de DNA<sup>1, 6</sup>.

A Organização Mundial da Saúde estima que no mundo haja cerca de 440 milhões de indivíduos com a infecção genital pelo HPV<sup>1</sup>, e que aproximadamente de 10% das mulheres portarão o HPV em algum momento da vida<sup>9</sup>.

A prevalência da infecção varia de 20 a 40%, dependendo da faixa etária e do estado de imunocompetência, sendo mais comum em jovens<sup>10</sup>. A maioria das mulheres infectadas pelo HPV nunca desenvolverão câncer de colo de útero, porém fatores adicionais devem agir em conjunto. Há alguns fatores que estão associados ao desenvolvimento do câncer de colo do útero como: paridade, tabagismo, uso de anticoncepcionais orais, entre outros<sup>11</sup>.

Estudos evidenciam que lesões intraepiteliais por HPV podem curar sem tratamento, mas a taxa de cura varia de acordo com a gravidade da lesão, lembrando-se que a lesão de alto grau tem alta taxa de progressão para neoplasia maligna cervical<sup>11</sup>. O HPV infecta primeiramente o epitélio podendo assim desenvolver as lesões benignas e malignas na mucosa e pele<sup>11</sup>.

Cerca de 40 tipos de HPV são capazes de infectar as mucosas do trato aerodigestivo superior e da região anogenital de seres humanos, sendo classificados em baixo e alto risco segundo o potencial carcinogênico. O grupo de “baixo risco” é formado por vírus associados ao aparecimento de lesões benignas, como os condilomas (HPV 6, 11, 42, 43 e 44). O grupo de “alto risco” é constituído por pelo menos 15 tipos de HPV (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 e 73), estando implicados no aparecimento de neoplasias malignas no colo do útero (100%), vulva (40%), vagina (40%), pênis (40%), ânus (90%), boca (3%) e orofaringe (12%). Os tipos 16 e 18, em conjunto, são responsáveis por 70% dos casos de câncer do colo do útero<sup>1, 12, 15</sup>. Contudo, até mesmo os vírus considerados de “baixo risco” podem estar associados com a carcinogênese, porém em menor frequência<sup>16</sup>.

No Brasil o HPV 16 é predominante nos cânceres cervicais invasivos com prevalência de 52% na região Sul, 57% Centro-Oeste, 59% Nordeste, 43,5% Norte e 52% no Sudeste<sup>11</sup>.

### **1.3. Prevenção e rastreamento:**

Como método de prevenção primária contra o câncer de colo do útero, foram desenvolvidas vacinas contra o HPV, estas consistem em vacina bivalente contra o HPV, imunizam os sorotipos 16 e 18 (Cervarix®, GlaxoSmithKline), a quadrivalente os sorotipos 6, 11, 16 e 18 (Gardasil® ou Silgard®, Merck & CO), estas estão disponíveis no mercado atualmente. Através de ensaios clínicos, somente a vacina quadrivalente contra o HPV foi aprovada pelo *Food and Drugs Administration* (FDA) americano, a idade para receber a vacina quadrivalente é de 9 a 26 anos e consiste na aplicação de 3 doses. Estudos indicam que a vacina deve se aplicada na faixa etária de 11 a 12 anos, antes do início das atividades sexuais<sup>17, 18</sup>.

No Brasil, o Ministério da Saúde aprovou o uso tanto da vacina quadrivalente quanto da bivalente, porém foi aprovado em 01 de Julho de 2013, a aplicação da vacina quadrivalente contra o HPV gratuitamente pelo Sistema Único de Saúde para meninas de 10 e 11 anos, com início partir de 2014. Os intervalos da aplicação serão de dois e seis meses entre a segunda e a terceira doses, respectivamente, de acordo com o Ministério da Saúde.

Ambas as vacinas mostraram-se eficazes contra a infecção pelo HPV nas mulheres que no momento na vacinação não tinham evidências de exposição prévia ou infecção pelo vírus<sup>15</sup>.

Segundo Norman e Tesser, o rastreamento consiste na realização de exames ou testes em populações assintomáticas a fim de obter diagnósticos precoces – prevenção secundária<sup>19</sup>.

A citologia cervical (ou exame de Papanicolaou) compreende a principal estratégia adotada pelos programas de rastreamento (prevenção secundária) para o controle do câncer do colo do útero. Estima-se que o rastreamento adequadamente realizado em mulheres na faixa etária entre 25 e 65 anos por meio do teste de Papanicolaou possa reduzir em cerca de 80% a mortalidade determinada pela doença e em 90% a incidência de câncer invasivo do colo do útero<sup>20, 21</sup>.

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, no programa de rastreamento do câncer do colo do útero deve conter: Cobertura de pelo menos 80% da população alvo; Sistema adequado para o seguimento e conduta para as mulheres que tiveram o exame de citologia cervical alterado; Integração entre os elementos do programa,

desde o rastreamento até o diagnóstico e tratamento; Boa qualidade de cobertura de rastreamento e execução do teste, diagnóstico, tratamento e seguimento; Suporte financeiro adequado<sup>15</sup>.

Segundo o Instituto Nacional de Câncer (INCA), o Brasil preconiza que: o método de rastreamento do câncer do colo do útero e de suas lesões precursoras é o exame citopatológico. O intervalo entre os exames deve ser de três anos, após dois exames negativos, com intervalo anual; o início da coleta deve ser aos 25 anos de idade para as mulheres que já tiveram atividade sexual; os exames devem seguir até os 64 anos e serem interrompidos quando, após essa idade, as mulheres tiverem pelo menos dois exames negativos consecutivos nos últimos cinco anos<sup>22</sup>.

#### **1.4. Outros métodos de rastreamento do câncer de colo do útero:**

Outros métodos de rastreamento como a detecção do material genético do HPV e a inspeção visual do colo do útero utilizando ácido acético ou lugol também são apontados como técnicas eficazes na redução das taxas de mortalidade<sup>20</sup>, embora não sejam recomendados pela Organização Mundial da Saúde como métodos para rastreamento do câncer do colo do útero<sup>23</sup>.

Estudos indicam a técnica de inspeção visual do colo uterino após aplicação de ácido acético (IVA), consiste na aplicação da solução de ácido acético a 5% em todo colo e vagina com um chumaço de algodão. Após um minuto inspecionar todo o colo em busca de lesões acetorreativas, com o auxílio de foco clínico comum direcionado para a abertura do espelho. São consideradas positivas quando visualizar lesões no colo acetobranca, opaca ou brilhante, plana ou sobrelevada, de aspecto verrucoso ou não; e negativo se o colo permanecesse com sua coloração normal após aplicação da solução<sup>24</sup>.

Embora os coeficientes de incidência e de mortalidade do câncer do colo do útero diminuíssem nos últimos 40 anos nos países desenvolvidos, o mesmo fenômeno não foi acompanhado pela maioria dos países em desenvolvimento. A introdução do exame de Papanicolaou na década de 50 como estratégia para o rastreamento do câncer do colo do útero fez com que houvesse expressiva redução na incidência e mortalidade pela doença na maior parte da Europa, na América do Norte e na

Austrália / Nova Zelândia. Por outro lado, diversos países em desenvolvimento tiveram resultados inexpressivos em razão de programas de rastreamento não efetivos, com baixa cobertura do teste de Papanicolaou, qualidade ruim do exame citológico e dificuldade de acesso aos serviços de saúde para o tratamento das lesões precursoras e do câncer do colo do útero<sup>25</sup>. Estes dados mostram a necessidade premente da incorporação de novas estratégias e tecnologias para o aperfeiçoamento dos programas de prevenção do câncer do colo do útero ao redor do mundo.

Atualmente há vários métodos moleculares para a detecção do HPV. Cuzik et al.<sup>26</sup> publicaram resultados de um estudo que comparou seis métodos diagnósticos para a identificação do HPV: *Hybrid Capture 2* (Qiagen GmbH, Dilden, Alemanha), *Cobas 4800 HPV test* (Roche Molecular Diagnostics, EUA), *Abbot RealTime High Risk HPV assay* (Abbott Molecular GmbH & CO, Alemanha), *BD HPV test* (BD Diagnostics, EUA), *PreTect HPV-Proofer* (NorChip, Noruega) e *APTIMA* (Gen-Probe Incorp, EUA). Os quatro primeiros são baseados em DNA, enquanto os dois últimos, em RNA. O estudo mostrou sensibilidades semelhantes entre os métodos, exceto o *PreTect HPV Proofer*, que se mostrou significativamente menos sensível que os demais para a detecção do HPV. Por outro lado, os ensaios baseados em RNA foram os que alcançaram maiores valores de especificidade.

Novas tecnologias têm sido exploradas como possíveis ferramentas para auxiliar na prevenção e diagnóstico do câncer do colo do útero, a imunexpressão da proteína p16INK4a (inibidor de ciclina dependente de quinase) e KI67 (proliferação celular). A marcação imunocitoquímica de p16INK4A representaria sinal inequívoco de atividade persistente do HPV e risco aumentado de neoplasia intraepitelial cervical de alto grau<sup>27, 28</sup>. A dupla marcação de p16INK4a e KI67 melhoraria ainda mais a especificidade, já que alterações metaplásicas do colo do útero podem determinar falsa marcação de p16INK4A<sup>27</sup>. Outro método imunocitoquímico descrito como possível marcador de NIC de alto grau seria a dupla marcação de MCM2 (*minichromosome maintenance protein 2*) e Top2a (*DNA topoisomerase 2 alpha*), duas proteínas que se acumulam no interior de células epiteliais transformadas pelo HPV<sup>27</sup>. Assim como nos estudos com p16INK4A, a dupla marcação MCM2/Top2a (*ProEx™*, Becton & Dickinson, EUA) apresenta melhor especificidade em relação à citologia

convencional. Em um estudo que avaliou o rastreamento realizado com pesquisa do HPV seguida pela avaliação de dupla marcação celular de MCM2/Top2a demonstrou melhora na sensibilidade e redução significativa do número de indicações de colposcopia<sup>29</sup>.

Estudos mostram marcadores de metilação para triagem de mulheres com teste de HPV positivo que realizaram o teste de auto coleta cervico vaginal através de um lavado. Analisou-se 355 espécimes de auto coleta com HPV positivo para alto risco, com três marcadores de metilação, que são eles: CADM1-m18, MAL-m1 and miR-124-2, através de PCR. Foram selecionadas mulheres que não são atendidas no rastreamento, a coleta foi realizada com um dispositivo patenteado na Holanda. A AUC foram 0,637 para CADM1-m18; 0,767 para MAL-m1 e 0,762 para miR-124-2. Isto indica que CADM1-m18 não é adequado como único marcador, variando limiares de ambos marcadores entre painéis de bio-marcadores. Nas clinica especifica de 50 a 70%, a sensibilidade do MAL-m1/miR-124-2 para detecção de NIC 3 variou de 77,0 a 87,8% e para 64,9 a 71,6% respectivamente. Quando comparado ao NIC 3 a sensibilidade da genotipagem de HPV 16/18 em lavados de auto coleta são 58,1%, a especificidade de 87,7%. Entretanto conclui-se que a análise da metilação é uma ferramenta de triagem promissor que em combinação com o teste de DNA de HPV oferece uma triagem molecular viável, quando realizado um lavado cérvico vaginal<sup>30</sup>.

### **1.5. Métodos alternativos para o rastreamento do câncer de colo do útero:**

Estudos evidenciam que o teste de DNA do HPV de alto risco é mais sensível que a citologia na detecção de lesões pré-neoplásicas, sendo como uma das principais vantagens o intervalo prolongado entre o período de rastreamento, o que requerem programas de rastreamento organizados com rigorosos protocolos e monitoramento<sup>31</sup>.

Estudos evidenciam que novos métodos possíveis de rastreamento foram realizados através teste careHPV de espécimes coletadas através da auto coleta e da coleta realizada pelo profissional de saúde, as mulheres eram randomizadas em dois grupos: auto coleta vaginal vs coleta cervical realizada por um profissional de saúde, o estudo envolveu 2000 mulheres que compareceram para realizar o exame preventivo de Papanicolaou, incluindo áreas remotas, entretanto observa-se que 12,3%

(245/2000) dos exames foram positivo hr-HPV, 89% (1719/2000) apresentaram um resultado normal / negativa hr-HPV. Dos resultados positivos 36,6% que apresentaram ASC-US + foram positivas hr-HPV; 78,8% que apresentaram LSIL foram positivas hr-HPV; 75,0% que apresentaram HSIL foram positivas hr-HPV. Portanto observa-se que o teste molecular careHPV tem maior sensibilidade, diminuição da subjetividade, melhor reprodutibilidade em comparação com a citologia. Auto coleta é uma ferramenta importante principalmente em países em desenvolvimento ou áreas remotas; é uma opção relativamente barata; proporcionando benefício às mulheres com difícil acesso ao sistema de saúde. Em conclusão, os resultados demonstram que a auto coleta das amostras vaginais é equivalente a amostras do colo do útero na detecção de DNA do HPV e podem ser utilizadas no rastreamento primário do câncer cervical<sup>32</sup>.

Estudos realizados na China aplicam um método de auto coleta como método de rastreamento primário para o câncer de colo do útero. As mulheres foram rastreadas através de cinco estudos transversal de base populacional que residiam em zona rural, foram selecionadas 13004 mulheres para participar do estudo. Foram oferecidos simultaneamente, o teste de DNA de HPV (Captura Híbrida 2) para auto coleta; o médico realizou o teste de HPV, obteve amostras de citologia em base líquida, realizou inspeção visual por ácido acético (VIA). Aquelas mulheres com resultados positivos realizaram colposcopia e biópsia. A sensibilidade na auto coleta para NIC 2+ foi de 86,2% e 86,1% para NIC 3+; a sensibilidade para o teste do médico foi mais elevado sendo 97,0% (NIC 2+) e 97,8% (NIC 3+), enquanto na citologia foi de 80,7% (NIC 2+) e 89,0 (NIC 3+); Não houve uma diferença significativa nas faixas etárias em relação a sensibilidade dos testes de auto coleta, no teste realizado pelo médico, na citologia para detecção de lesões NIC 2+ e NIC 3+. A especificidade foi menor na auto coleta que os outros métodos, para NIC 2+ 80,7% e NIC 3+ 79,5%. Quando comparado o teste de HPV pelo médico com a VIA a especificidade para NIC 2+ e NIC 3+ foram 87,4% e 86,9% respectivamente. A especificidade da citologia quando comparado aos demais métodos foram 94,0% e 92,8 % para NIC 2+ e NIC 3+ respectivamente. Foi observado que o teste de auto coleta teve uma sensibilidade menor que o teste realizado pelo médico. A especificidade foi menor na auto coleta provavelmente devido a presença de HPV na região vaginal não estando

necessariamente relacionada à NIC 2+. Entretanto a implementação dos testes de auto coleta para detecção de HPV na China pode complementar o programa de rastreamento aumentando a cobertura principalmente aquelas mulheres com dificuldades geográficas em participar do rastreamento<sup>33</sup>.

Estudos epidemiológicos indicam que o teste de DNA de HPV através da captura híbrida II é necessária como diagnóstico complementar para detectar o HPV nos procedimentos convencionais já utilizados para auxiliar no método de rastreamento de câncer de colo do útero(34). Os autores concluem que usar a citologia associada ao teste de DNA de HPV como diagnóstico complementar na detecção de infecções genitais causadas pelos tipos de HPV oncogênico ajudam a implantar um eficiente programa de rastreamento na detecção de lesões cervical nos intervalos de 30 anos de idade<sup>34</sup>.

Observa-se que estudos indicam que um método de autocoleta através de uma lavagem cérvico-vaginal é eficiente para a detecção do HPV de alto risco, para aquelas mulheres que não realizam um rastreamento cervical regular. O procedimento é realizado através de um kit oferecido a mulher, contendo um dispositivo para coletar o material cérvico-vaginal e subsequente realizar o teste para detecção do HPV de alto risco, através da captura híbrida II<sup>35</sup>.

De acordo com o estudo de Nobbenhuis et al.<sup>36</sup>, a autocoleta de material cérvico-vaginal através de lavagem é uma ferramenta para facilitar a participação das mulheres nos programas de rastreamento de câncer uterino. A autocoleta foi realizada através de um dispositivo cérvico-vaginal, que dispõe de um cateter urinário feminino descartável, uma seringa de 50 ml, e um recipiente com 15 ml de solução tampão fosfato – salina estéril para a lavagem. Após a autocoleta, a mulher foi submetida à colposcopia. O ginecologista também realizou uma lavagem cervical com um dispositivo semelhante ao da autocoleta e após foi realizado um esfregaço cervical. Naquelas mulheres que apresentaram lesões visíveis na colposcopia foi realizada biópsia para verificação histológica, e se necessário essas mulheres foram submetidas ao tratamento. De acordo com os resultados obtidos, o dispositivo para autolavagem foi aceito por 88% das mulheres. De acordo com o resultado da citologia em relação à lavagem realizada pelo médico houve uma concordância de 54 % e em relação a

paciente 41%. A concordância na detecção do HPV de alto risco pelo esfregaço e autocoleta pelo médico foram 93%, e pelo paciente 78%. Os autores sugeriram que o método seria uma ferramenta útil na triagem do câncer de colo uterino.

GÖK et al.<sup>35, 37</sup> realizaram o procedimento de autolavagem cérvico-vaginal, através de um dispositivo patenteado, que em combinação com o teste do HPV permite rastrear neoplasia intra-epitelial cervical de alto grau. O estudo randomizado com uma população de mulheres entre 30 e 60 anos, no momento que inscreveu as mulheres destacou o endereço residencial, para semanas antes encaminhar o kit para autocoleta e um lembrete para a visita ao clínico para realizar citologia convencional, uma carta explicativa e um termo de consentimento esclarecido também foi enviado. As mulheres realizaram a autocoleta em domicílio e após encaminharam o tubo contendo o material da coleta cérvico-vaginal e o termo de consentimento livre e esclarecido assinado ao laboratório para realizar o teste do HPV de alto risco. As mulheres com resultados normais foram convidadas a realiza citologia, e aqueles resultados anormais a realizar colposcopia. Participaram 28.073 mulheres, randomizadas em dois grupos: de autocoleta e grupo de controle. No grupo de autocoleta 26,6% das mulheres enviaram o material para o teste do HPV, e 0,2% preferiram a pratica convencional da citologia cervical. No grupo de controle 16,6% visitou o clínico geral para realizar a citologia convencional. Oferecer um método de autocoleta através do envio do material cérvico-vaginal para o teste do HPV de alto risco em mulheres que não foram atendidas na triagem regular, é um fácil e efetivo método de aumentar a cobertura no programa de rastreamento. A taxa de resposta e o rendimento nas lesões de alto grau, apoiou a implementação deste método em tais mulheres.

Jones et al.<sup>37</sup> realizaram um estudo na Holanda através da autocoleta com um dispositivo de lavagem patenteado, para rastreamento do câncer de colo uterino. Participaram do estudo 104 mulheres que receberam informações e termo de consentimento sobre o estudo, as participantes receberam um dispositivo plástico e estéril, como uma seringa, contendo 5ml de solução salina tamponada. A mulher inseria o dispositivo no canal vaginal até sentir resistência, introduzia a solução, aguardava alguns segundos e soltava o dispositivo. O dispositivo retraia

automaticamente coletando a solução salina e células cérvico-vaginal. A mulher removia o dispositivo e transferia o material coletado em um recipiente separado. Das participantes, 99% reportaram que o uso do dispositivo foi fácil, 75% prefeririam a autocoleta, 20% prefeririam a coleta convencional do esfregaço cervical realizada pelo médico, e 5% não tinham preferência alguma. A técnica de coleta, com uso deste dispositivo pode ser um método alternativo e necessário para as mulheres no rastreamento de câncer de colo uterino, e pode aumentar a cobertura dos programas de rastreamento.

Estudos mostram um novo método de recrutamento, método online onde as mulheres foram recrutadas para participar de um estudo realizando teste de HPV através da auto coleta e pesquisa online, ou somente responderiam uma pesquisa online sobre as percepções de testes de auto coleta para infecção do HPV. Foram realizados questionários online para avaliar dados demográficos, fatores de risco, percepção do teste e satisfação com a auto coleta. As mulheres que realizaram a auto coleta em casa foram enviados Kits pelo correio e após, devolvido o material ao correio novamente. Foram registradas no estudo 197 mulheres, 130 completaram a pesquisa online e 67 participaram tanto da pesquisa online quanto da auto coleta. Das 67 mulheres que foram enviadas o kits 62 devolveram e 60 tinham material suficiente. Foram selecionada mulheres entre 18 a 30 anos. A prevalência de infecção por HPV foi de 17,8%. As mulheres que realizaram a auto coleta relataram atributos mais favoráveis quando comparado com as mulheres que realizaram somente a pesquisa online, onde a facilidade de coleta (87,1 vs 18,9%); ausência de dor durante a coleta (72,6 vs 5,6%); não ocasiona vergonha (67,7 vs 12,9%). O recrutamento online e o método de rastreamento em casa tem um potencial para envolver mulheres no rastreio, oferecendo uma abordagem mais aceitável para mulheres de diversas localidades<sup>38</sup>.

Estudo realizado nos Estados Unidos com mulheres de baixa renda tem objetivo de avaliar a aceitabilidade de um dispositivo de auto coleta patenteado pela Holanda como método de rastreamento do câncer de colo do útero. Três clínicas que realizam exame citológico de rotina, no momento em que as pacientes comparecem ao setor para realizar o exame ginecológico e citológico, a equipe do estudo consentia

verbalmente a participação, uma amostra aleatória foi selecionada com 50% da amostra o resultado do citológico normal e 50% com resultado ASCUS+. As mulheres receberam um telefonema para comparecer novamente na clínica e era oferecido à sua participação no estudo. As mulheres que aceitaram participar do estudo foram apresentadas o dispositivo e elas respondem um questionário sobre uso e desconforto deste dispositivo, em seguida são encaminhadas à uma sala privada e realizam a auto coleta. Após a auto coleta respondem novamente um questionário sócio demográfico, antecedentes sexuais e aceitabilidade. Foram incluídas no estudo 198 mulheres somente uma não conseguiu realizar a auto coleta. Das participantes 79% preferiram a auto coleta, 8% o exame ginecológico e 14% não tinham preferência. Das mulheres que preferiram a auto lavagem, as principais razões foram maior conforto, menos dor e desconforto, mais privacidade e menos constrangimento; disseram também que é mais fácil, rápido, pode ser feito em casa e por elas próprias. Portanto introduzir a auto coleta como método de rastreio é uma opção para expandir a cobertura, devido a grande aceitação mostrada neste estudo com uma sensibilidade comparável para NIC 2+ quando combinada com o teste de HPV. Algumas evidências sugerem que a sensibilidade do HPV pode ser ligeiramente inferior na auto coleta quando comparado com a coleta do médico, embora outras evidências sugerem que a sensibilidade é comparável. A autocoleta deve ser oferecida como uma opção para as mulheres, principalmente quando se tem alguma dificuldade para realizar o rastreamento. Introduzindo a auto coleta deve-se pensar em um acompanhamento para as mulheres com resultados anormais para garantir um melhor desempenho no programa de rastreamento<sup>39</sup>.

## **2. RACIONAL DO ESTUDO**

O câncer do colo do útero é um grave problema de saúde pública no Brasil, sendo causa de significativa morbimortalidade entre as mulheres brasileiras.

A despeito de todos os esforços do governo em reduzir os coeficientes de incidência e mortalidade do câncer de colo do útero no Brasil, os resultados do programa de rastreamento ainda são decepcionantes. Faz-se necessário estudar novas formas de rastreamento do câncer de colo do útero para o controle mais efetivo desta doença no Brasil.

A coleta de material cervicovaginal por lavado pode representar um método alternativo e interessante ao Programa Nacional de Controle do Câncer do Colo do Útero do Ministério da Saúde. Há poucos estudos nacionais procurando novos métodos de rastreamento do câncer de colo do útero.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo geral:**

Comparar três formas de coleta de material para o rastreamento do câncer do colo do útero: 1) Autocoleta; 2) Lavado realizado pelo médico e; 3) Esfregaço cervical com escova (amostragem da ecto e endocérvice).

#### **3.2. Objetivos específicos:**

- Avaliar a aceitação das mulheres com a coleta de material através da autocoleta;
- Comparar a reprodutibilidade dos resultados citológicos obtidos pelas três formas de coleta;
- Comparar a reprodutibilidade dos resultados de pesquisa molecular de HPV obtidos pelas três formas de coleta.
- Comparar a capacidade das três formas de coleta em rastrear lesões precursoras / invasoras no colo do útero;

## **4. METODOLOGIA**

### **4.1. Desenho do estudo:**

Trata-se de estudo experimental para validação laboratorial de técnica de coleta de material cervicovaginal por lavado.

### **4.2. População do estudo:**

O estudo foi realizado em mulheres, com idade entre 18 a 64 anos, encaminhadas ao Departamento de Prevenção do Hospital de Câncer de Barretos por alteração do exame de Papanicolaou previamente realizado. Foram excluídas as mulheres que não aceitaram participar deste estudo, as que não possuíam mais o colo do útero ou que tiveram estenose no intróito vaginal ou da vagina.

### **4.3. Coleta de material:**

As mulheres que aceitaram participar do estudo assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 1) após os devidos esclarecimentos deste estudo pela enfermeira-coordenadora de pesquisa.

Ofereceu-se às mulheres uma seringa de 20 ml preenchida com solução de cloreto de sódio a 0,9% acoplada a uma sonda uretral de alívio número 18. As mulheres deveriam deitar-se confortavelmente na maca e introduzir delicadamente a sonda uretral na vagina por cerca de 10 cm, o mais profundamente possível, e injetar toda a solução fisiológica (lavado vaginal). Imediatamente após a infusão do soro fisiológico, as mulheres deveriam aspirar o lavado para dentro da própria seringa. O lavado recuperado foi então transferido para meio líquido a base de etanol para conservação e transporte (SurePath™, Becton & Dickinson, Brasil). Após esta etapa, as mulheres foram submetidas a exame ginecológico e colposcopia (na mesma sala) com o médico. Logo após a introdução do espécúlo, o médico repetiu o lavado, desta vez irrigando a superfície cervical utilizando outro conjunto de seringa e sonda vesical (lavado cervical). Após injetar os 20 ml da solução fisiológica diretamente sobre a superfície do colo do útero, o médico aspirava imediatamente o conteúdo infundido na vagina para dentro da seringa, sendo este conteúdo transferido para um segundo

recipiente contendo meio líquido a base de etanol (SurePath™). Após esta etapa, o médico realizou a coleta de material cervical por esfregaço, amostrando a ecto e endocérvice com escova destacável específica para este fim (Hovers™), transferindo o material para um terceiro frasco com meio líquido a base de etanol (SurePath™). Ao término destas coletas, as mulheres seguiram normalmente em sua consulta para a realização da colposcopia e biópsia do colo do útero, quando indicada. As figuras 1 e 2 mostram os materiais utilizados nos lavados. A figura 3 é uma representação esquemática do procedimento de autocoleta.

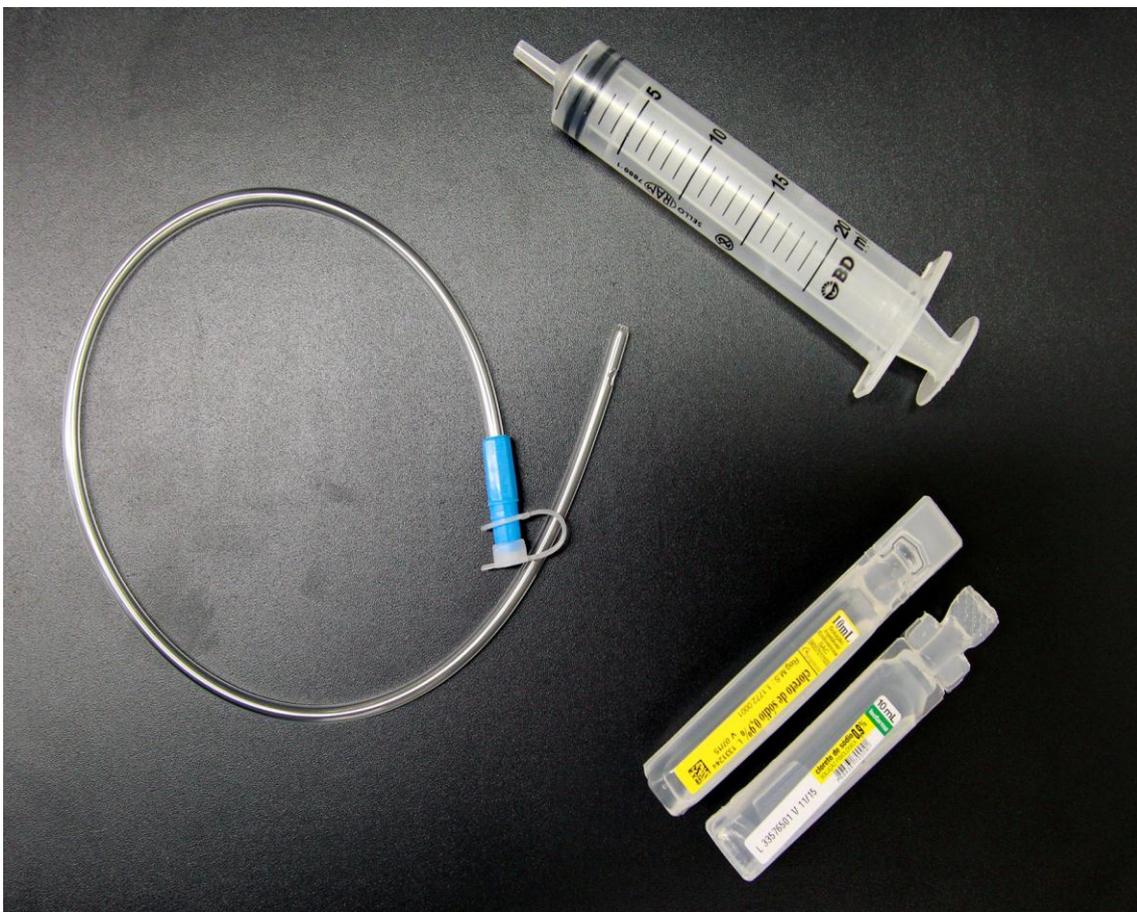


Figura 1 – Materiais utilizados para realizar os lavados. Sonda uretral nº 12, para conexão com seringa de 20 ml preenchida com solução fisiológica 0,9%.



Figura 2 – Materiais utilizados para realizar os lavados. Seringa preenchida com 20 ml de solução fisiológica 0,9% acoplada à sonda uretral para realização do lavado.

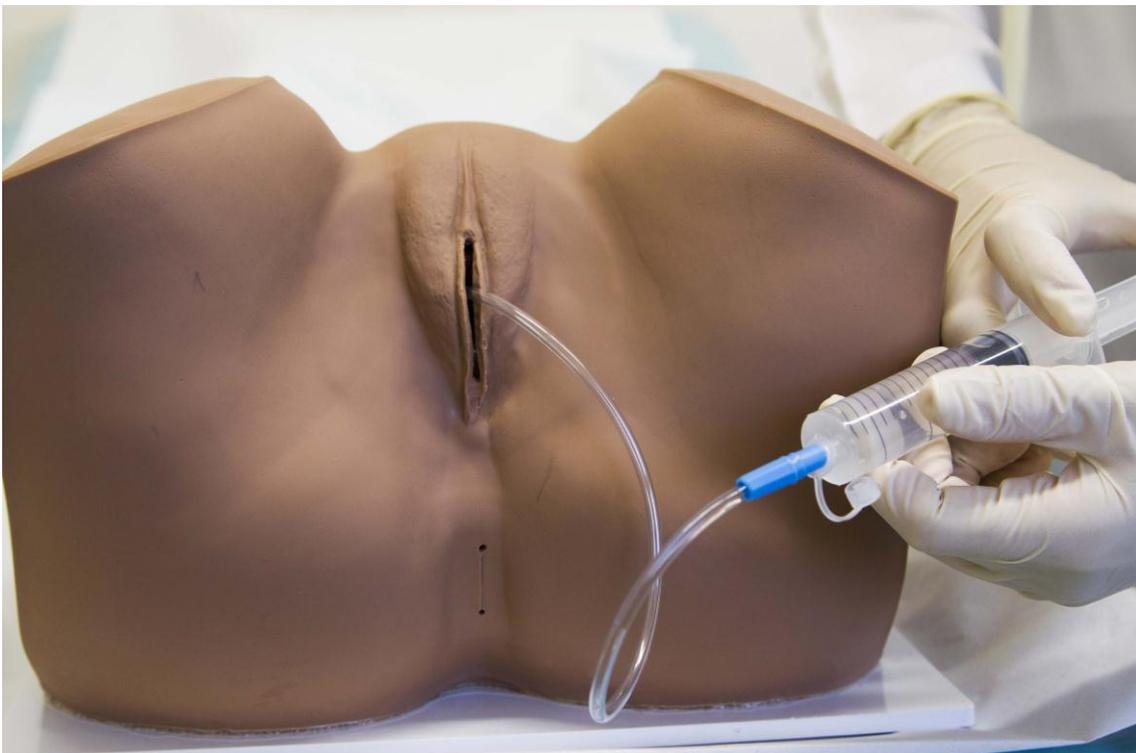


Figura 3 – Representação esquemática do lavado vaginal realizado pelas participantes do estudo.



#### **4.4. Formulários de coleta de dados:**

Após o término do exame de colposcopia, dois questionários foram aplicados às participantes, um com informações sociodemográficas (Anexo 2) e outro com informações acerca de dor e aceitação do procedimento de autocoleta (lavado vaginal) (Anexo 3). A intensidade de dor percebida pela mulher em cada um dos métodos de coleta foi avaliada por escala visual analógica. As mulheres que não souberam ler foram entrevistadas. O pesquisador anotou em formulário específico os resultados da colposcopia, dos exames citológicos, de captura de híbridos e de histopatologia de cada mulher (Anexo 4).

#### **4.5. Análise do material biológico:**

As amostras de material biológico foram encaminhadas ao laboratório de Anatomia Patológica do Hospital de Câncer de Barretos para o devido processamento e leitura. As amostras dos lavados (cervical e vaginal), bem como do esfregaço cervical foram divididas em duas alíquotas: uma destinada ao estudo citológico e outra para a pesquisa molecular de HPV de alto risco.

#### **4.6. Citologia em base líquida:**

A confecção das lâminas para citologia, bem como a coloração das mesmas, foram feitas de forma automatizada pelo sistema PrepMate™ / PrepStain™ (Becton & Dickinson, Brasil), de acordo com o protocolo do Departamento de Patologia do hospital. As leituras das lâminas foram realizadas manualmente pelos citotécnicos do departamento de Patologia. Aquelas lâminas que mostraram alteração citológica foram revistas por um citopatologista experiente na área. Também foram revisadas 10% das lâminas que apresentaram resultado sem alteração. O preparo das lâminas com o exame citológico foi realizado de acordo com o seguinte protocolo:

1. Vortex das amostras por 15 segundos à 3000 rpm
2. Colocação das amostras e tubos cônicos na rack de preparação - BD PrepMate™
3. Adição de 4 mL do reagente Density em cada tubo cônico.

4. Colocação das lâminas na rack BD PrepStain™, verificando a orientação correta
5. Colocação da rack BD PrepMate™ no equipamento
6. Centrifugação dos tubos por 2 minutos e 15 segundos à 200G
7. Aspiração do sobrenadante a vácuo
8. Centrifugação por 10 minutos à 800G
9. Decantação dos tubos por rotação de 180°
10. Retirada do excesso de fluido
11. Vortex na rack de tubos por 15 segundos.
12. Adição ao “pellet” celular de 4mL de tampão (DI H2O)
13. Ressuspensão do “pellet” por 8 vezes - “up and down”
14. Transferência de 800uL da suspensão celular para a lâmina correspondente na câmara de sedimentação
15. Retirada dos tubos cônicos da rack BD PrepMate™
16. Sedimentação por 10 minutos
17. Decantação e retirada do excesso de líquido com papel absorvente.
18. Lavagem de cada câmara de sedimentação com álcool 95 ou 100%
19. Decantação
20. Retirado do excesso de líquido
21. Inversão da rack de lâminas por até 1 minuto
22. Remoção de cada câmara de sedimentação
23. Adição imediata de álcool 95 ou 100%
24. Coloração da lâmina BD SurePath™

#### **4.7. Pesquisa do HPV por Captura Híbrida™:**

A pesquisa de HPV de alto risco nas amostras dos lavados (vaginal e cervical) e esfregaço cervical foi realizada por meio de captura de híbridos. Para tanto, foi utilizado o teste de Captura Híbrida 2™ (Qiagen™, Alemanha). O protocolo de execução do teste foi realizado conforme o seguinte protocolo:

1. Transferência de 2,8mL das amostras para um tubo cônico de 15mL com tampa previamente identificado (as amostras devem estar em temperatura ambiente).
2. Centrifugação das amostras por 10 minutos à 800G (1700rpm)
3. Descarte do sobrenadante por inversão imediatamente após a centrifugação
4. Retirada do excesso de líquido com papel absorvente.
5. Colocação dos tubos na rack de conversão.
6. Adição a cada amostra de 200µL do reagente STM (hc2 “Specimen Transport Médium”)
7. Ressuspensão de cada “pellet” (individualmente) em vortex por 15 segundos
8. Pipetagem de 100µL do reagente Denaturation (com indicador Dye)
9. Vortex vigorosamente por 5 segundos
10. Distribuição dos calibradores, controles e amostras na rack do Multi-Vortex na posição em que serão transferidas para a microplaca.
11. Cobertura dos tubos com o sealer e colocar a tampa do Multi-Vortex
12. Incubação à 65°C em banho-maria por 90 minutos
13. Homoginização dos tubos por 10 segundos
14. Retirada do sealer
15. Pipetagem de 75µL dos calibradores, controles e amostras na microplaca não sensibilizada com ponteira extra-longa de 200µL.
16. Descanso em temperatura ambiente por 10 minutos
17. Pipetagem de 25µL da sonda nas amostras
18. Homogeneização no Rotary Shaker por 3 min à 1100rpm
19. Incubação à 65°C por 1h no Heater
20. Transferência de 100µL das amostras para a placa sensibilizada
21. Agitação por 1h à 1100rpm no Rotary Shaker
22. Descarte das amostras por inversão
23. Secagem de todo o líquido em papel absorvente
24. Pipetagem de 75µL do reagente RD1 em cada amostra

25. Incubação por 30 min em temperatura ambiente.
26. Lavagem da placa
27. Pipetagem de 75µL do reagente RD2 em cada amostra no poço
28. Incubação por 15 min em temperatura ambiente e ao abrigo da luz
29. Colocação da placa no DML e fazer a leitura.

#### **4.8. Pesquisa do HPV por Cobas HPV™:**

O teste molecular do HVP pelo Cobas (Sistema Cobas® 4800) realizado nas amostras provenientes dos lavados vaginal e cervical. Não foi realizada pesquisa do HPV por Cobas nas amostras de esfregaço cervical por insuficiência de material biológico para o teste.

O sistema é utilizado como um sistema de diagnóstico ou de rastreio que proporciona a preparação de amostras, a amplificação e a detecção de alvos específicos de amostras humanas. O sistema integra a extração de ácidos nucleicos totalmente automatizada diretamente a partir de tubos de amostras primários e secundários, a preparação automática pela placa de PCR e a técnica de PCR em tempo real. As amostras foram processadas de acordo com o protocolo institucional seguindo o manual da Roche.

#### **4.9. Análise estatística:**

A casuística foi caracterizada por meio da estatística descritiva. O teste de McNemar foi empregado para comparar porcentagens de grupos pareados. A concordância entre os resultados de citologia e entre os resultados da pesquisa do HPV foi avaliada pela estatística kappa. A capacidade das três formas de coleta (lavado vaginal, lavado cervical e esfregaço cervical) em prever a presença de lesões precursoras / invasoras no colo do útero foi mensurada por meio da sensibilidade, especificidade e valores preditivos (negativo e positivo). Para tanto, as biópsias cervicais ou os produtos de conização foram considerados como o exame padrão-ouro. No caso das mulheres que tinham colposcopia satisfatória, sem achados que justificassem a biópsia do colo do útero, elas foram classificadas como “negativas” para doença. Os respectivos intervalos de confiança (95%) dos indicadores de acurácia

e de concordância foram calculados para que os métodos de coleta pudessem ser comparados entre si.

Para o cálculo de tamanho amostral, fizeram-se as seguintes pressuposições: 1) Sensibilidade de 65% e especificidade de 85% para os exames de citologia cervical em base líquida; 2) Precisão de 0,15; 3) Erro alfa de 5%; 3) Prevalência estimada de doença no colo do útero de 30% em uma população ambulatorial de alto risco (ambulatório de colposcopia) e; 5) Perda de 1,0% (material insatisfatório ou extraviado). Com isso, o tamanho amostral é aproximadamente de 150 mulheres.

#### **4.10. Aspectos éticos:**

O estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Câncer de Barretos e aprovado em 2 de abril de 2013. Todas as informações dos participantes de pesquisa foram mantidas de forma sigilosa. As mulheres que concordaram em participar do estudo assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

## **5. RESULTADOS**

### **5.1. Descrição da população do estudo:**

A tabela 1 resume as características da população do estudo. A maioria das mulheres tinha mais do que 25 anos, eram casadas ou amasiadas, brancas, com baixa escolaridade e renda familiar inferior a mil reais mensais. Em média, as mulheres iniciaram atividade sexual aos 17 anos, tinham dois filhos e histórico de três parceiros sexuais ao longo da vida.

Todas as mulheres foram submetidas à colposcopia, que foi considerada insatisfatória em 23,3% das vezes (n=38). Anormalidade colposcópica foi encontrada em 74 mulheres das 125 (59,2%) em que a colposcopia foi considerada como satisfatória.

### **5.2. Aceitação do método de autocoleta:**

A tabela 2 mostra o número e a porcentagem de casos de acordo com as perguntas do questionário de aceitação do método. As primeiras quatro questões mostram que a maioria das participantes não apresentaram dificuldades para entender e realizar o procedimento, como também introduzir a sonda e injetar o líquido.

Observa-se também que as participantes, em sua maioria, consideraram o método de fácil realização, não desconfortável nem vergonhoso/constrangedor. Cinquenta e oito por cento das participantes preferiram realizar a autocoleta como método de rastreio.

A tabela 3 mostra os principais motivos apontados, entre as que recusaram, para não realizar a autocoleta. Observa-se que 16,8% (n=33) das candidatas elegíveis recusaram participar por acreditarem que o procedimento seria difícil, proporcionaria dor, e/ou por estavam com dor no momento do convite para pesquisa, entre outros motivos.

Nota-se na tabela 4 os valores relacionados a dor reportados através da Escala Visual Analógica para dor de acordo com o tipo de coleta, na autocoleta a mediana encontrada foi 0, quando se refere a este procedimento.

Tabela 1 – Caracterização da população do estudo de acordo com aspectos sociodemográficos, hábitos sexuais, histórico reprodutivo, exame colposcópico e biópsia do colo do útero (Hospital de Câncer de Barretos, abril a setembro de 2013).

Variável	Categorias	n	(%)	Média (dp)
Idade	< 25 anos	19	(11,7)	
	25 – 45 anos	83	(50,9)	
	46 – 64 anos	61	(37,4)	
Estado civil	Solteira	44	(27,0)	
	Casada / Amasiada	85	(52,1)	
	Separada / Divorciada	17	(10,4)	
	Viúva	30	(10,4)	
Cor ou raça	Branca	83	(50,9)	
	Negra	19	(11,7)	
	Parda	59	(36,2)	
	Amarela	2	(1,2)	
Renda familiar (R\$)	Até R\$ 500,00	13	(8,0)	
	R\$ 501,00 – 1.000,00	76	(46,6)	
	R\$ 1.001,00 – 2.000,00	51	(31,3)	
	R\$ > 2000,00	23	(14,2)	
Nível de instrução	Sem instrução (analfabeto)	6	(3,7)	
	Ensino fundamental	78	(47,9)	
	Ensino médio	62	(38,0)	
	Ensino superior	17	(10,4)	
Idade à primeira relação	-	163	-	17,3 (3,2)
Número de parceiros	-	159	-	3,5 (4,5)
Número de filhos	-	163	-	2,3 (1,6)
Colposcopia	Satisfatória	125	(76,7)	
	Insatisfatória	38	(23,3)	
Biópsia do colo do útero	Sem lesão	35	(36,5)	
	NIC1	27	(28,1)	
	NIC2/3	25	(26,0)	
	Adenocarcinoma <i>in situ</i>	1	(1,0)	
	Carcinoma invasor	2	(2,1)	
	Material insuficiente	3	(3,1)	
	Outros	3	(3,1)	

dp: desvio padrão

Tabela 2 – Número e porcentagem de casos de acordo com o as perguntas do questionário de aceitação do método de coleta por lavagem vaginal (Hospital de Câncer de Barretos, abril a setembro de 2013).

Pergunta	Respostas	N	(%)
Você teve dificuldade para entender como realizar o exame?	Não	143	(89,4)
	Um pouco	13	(8,1)
	Moderado / Muito	4	(2,6)
Foi difícil realizar o procedimento deitada na maca?	Não	136	(85,0)
	Um pouco	15	(9,4)
	Moderado / Muito	9	(5,7)
Houve dificuldade para introduzir a sonda na vagina?	Não	138	(86,3)
	Um pouco	13	(8,1)
	Moderado / Muito	9	(5,7)
Houve dificuldade para injetar o líquido na vagina?	Não	143	(86,3)
	Um pouco	13	(8,1)
	Moderado / Muito	4	(5,7)
Houve desconforto para aspirar o líquido injetado na vagina?	Não	90	(56,3)
	Um pouco	39	(24,4)
	Moderado / Muito	31	(19,4)
O líquido que você injetou escorreu para fora da vagina?	Não	23	(14,4)
	Um pouco	46	(28,8)
	Moderado / Muito	90	(56,4)
Em relação à facilidade em realizar este método de coleta, o que você acha?	Fácil	112	(70,0)
	Um pouco difícil	22	(13,8)
	Moderado / Muito difícil	26	(16,3)
Você acha que este método de coleta causou constrangimento / provocou vergonha?	Não	149	(93,7)
	Um pouco	7	(4,4)
	Moderado / Muito	3	(1,9)
Você achou este método de coleta desconfortável?	Não	142	(88,8)
	Um pouco	15	(9,4)
	Moderado / Muito	3	(1,9)
Qual método de coleta você prefere	Autocoleta	94	(58,8)
	Médico / Enfermeira	46	(28,8)
	Tanto faz	19	(11,9)
	Não sei	1	(0,6)

Tabela 3 – Distribuição dos casos de acordo com os motivos apontados para recusar a autocoleta (Hospital de Câncer de Barretos, abril a setembro de 2013).

Motivo alegado para recusa	N	(%)
Achar o procedimento difícil	9	27,3
Sentir vergonha/ constrangimento	1	3,0
Dor no momento do convite	7	21,2
Ter preferência que o médico fizesse o procedimento	3	9,1
Ter medo/ansiedade	2	6,1
Motivo desconhecidos (não explicitado)	7	21,2
Outros (*)	4	12,1

(\*) Impossibilitada por sequela de acidente vascular cerebral; Déficit cognitivo; Fez cirurgia recente; Paciente estava se sentindo mal.

Tabela 4 – Descrição dos valores reportados na Escala Visual Analógica para dor de acordo com o tipo de coleta. Hospital de Câncer de Barretos, 2013.

	Mediana	Mínimo – Máximo	Intervalo interquartil
Autocoleta (lavado)	0	0 – 10	0 – 0
Lavado pelo médico	2	0 – 10	0 – 5
Citologia em base líquida	1	0 – 10	0 – 5

(\*) Teste de Friedman ( $P < 0,001$ )

### 5.3. Comparação dos resultados dos exames de acordo com o tipo de coleta:

A tabela 5 resume os resultados do exame de citologia cervical, a representatividade glandular e o resultado do teste de HPV (Captura Híbrida e Cobas HPV) de acordo com o tipo de coleta realizada.

As tabelas 6 e 7 mostram as comparações dos resultados dos exames (citologia cervical e teste do HPV) da autocoleta e do lavado realizado pelo médico em relação à coleta padrão (esfregaço). A taxa de representatividade glandular foi significativamente maior na coleta padrão em relação às outras duas ( $P < 0,001$ ). Também se observou proporção significativamente maior de diagnóstico de HSIL na coleta padrão. A taxa de diagnóstico de ASCUS foi maior na coleta padrão quando comparada com o lavado realizado pelo médico (32,1% vs. 20,5%;  $P = 0,013$ ).

Na tabela 6, nota-se diferença estatisticamente significativa na taxa de positividade do teste de HPV quando comparado a auto coleta com o esfregaço (P=0,035), apresentando maior positividade no esfregaço.

Quando comparado o lavado realizado pelo médico versus o esfregaço, observa-se na tabela 7 que não houve diferença significativa relacionada à positividade do teste de HPV.

Tabela 5 – Distribuição dos casos de acordo com os resultados do exame de citologia cervical e teste do HPV e o tipo de coleta (Hospital de Câncer de Barretos, abril a setembro de 2013).

Variável	Categoria	Autocoleta (n=141)		Lavado pelo médico (n=163)		Esfregaço (n=159)	
		N	(%)	N	(%)	N	(%)
Resultado do de citologia	Sem alteração	97	(68,8)	128	(78,5)	107	(65,6)
	ASC-US	14	(9,9)	4	(2,5)	12	(7,4)
	ASC-H	2	(1,4)	4	(2,5)	3	(1,8)
	LSIL	14	(9,9)	25	(15,3)	18	(11,0)
	HSIL	1	(0,7)	0	(0,0)	15	(9,2)
	Invasor	1	(0,7)	1	(0,6)	1	(0,6)
	Adeno <i>in situ</i>	0	(0,0)	0	(0,0)	1	(0,6)
	Insatisfatório	12	(8,5)	1	(0,6)	6	(3,7)
Representação Glandular	Não	116	(82,3)	158	(96,9)	27	(16,6)
	Sim	12	(8,5)	4	(2,5)	129	(79,1)
	Insatisfatório	13	(9,2)	1	(0,6)	7	(4,3)
Captura Híbrida (*)	Negativo	95	(69,9)	103	(64,0)	94	(62,3)
	Positivo	41	(30,1)	58	(36,0)	57	(37,7)
Cobas – HPV (*)	Negativo	68	(58,6)	87	(58,0)	-	-
	Positivo	48	(41,4)	63	(42,0)	-	-

(\*) Há casos em que não se realizou o teste.

Tabela 6 – Comparação dos resultados do exame citológico e do teste do HPV de acordo com o tipo de coleta: autocoleta versus esfregaço (Hospital de Câncer de Barretos, abril a setembro de 2013).

Resultado do exame	Categoria	Autocoleta		Esfregaço		P (*)
		N	(%)	N	(%)	
Citologia insatisfatória	Não	129	(91,5)	136	(96,5)	0,118
	Sim	12	(8,5)	5	(3,5)	
Representação glandular	Não	129	(91,5)	29	(20,6)	<b>&lt; 0,001</b>
	Sim	12	(8,5)	112	(79,4)	
ASCUS +	Não	94	(75,2)	86	(68,8)	0,291
	Sim	31	(24,8)	39	(31,2)	
ASCH +	Não	108	(86,4)	96	(76,8)	<b>0,036</b>
	Sim	17	(13,6)	29	(23,2)	
LSIL +	Não	110	(88,0)	98	(78,4)	<b>0,029</b>
	Sim	15	(12,0)	27	(21,6)	
HSIL +	Não	123	(98,4)	115	(92,0)	<b>0,008</b>
	Sim	2	(1,6)	10	(8,0)	
Teste do HPV (Captura Híbrida)	Negativo	90	(70,9)	77	(75,5)	<b>0,035</b>
	Positivo	37	(29,1)	50	(39,4)	

(\*) Teste de Mc Nemar

Tabela 7 – Comparação dos resultados do exame citológico e do teste do HPV de acordo com o tipo de coleta: lavado pelo médico versus esfregaço (Hospital de Câncer de Barretos, abril a setembro de 2013).

Resultado do exame	Categoria	Lavado pelo médico		Esfregaço		P (*)
		N	(%)	N	(%)	
Citologia insatisfatória	Não	162	(99,4)	157	(96,3)	0,125
	Sim	1	(0,6)	6	(3,7)	
Representação glandular	Não	159	(97,5)	34	(20,9)	<b>&lt; 0,001</b>
	Sim	4	(2,5)	129	(79,1)	
ASCUS +	Não	124	(79,5)	106	(67,9)	<b>0,013</b>
	Sim	32	(20,5)	50	(32,1)	
ASCH +	Não	128	(82,1)	118	(75,6)	0,143
	Sim	28	(17,9)	38	(24,4)	
LSIL +	Não	132	(84,6)	121	(77,6)	0,099
	Sim	24	(15,4)	35	(22,4)	
HSIL +	Não	155	(99,4)	139	(89,1)	<b>&lt;0,001</b>
	Sim	1	(0,7)	17	(10,9)	
Teste do HPV (Captura Híbrida)	Negativo	97	(64,2)	94	(62,3)	<b>0,761</b>
	Positivo	54	(35,8)	57	(37,7)	

(\*) Teste de Mc Nemar

#### 5.4. Concordância dos resultados dos exames:

A tabela 8 mostra a análise de concordância dos resultados dos exames (citologia cervical e teste do HPV) de autocoleta e do lavado realizado pelo médico em relação à coleta padrão (esfregaço). Os resultados dos exames citológicos dos lavados mostram baixa reprodutibilidade em relação à coleta padrão. Notou-se concordância baixa a moderada entre os resultados do teste de HPV do lavado vaginal ( $\kappa = 0,43$ ; IC95%: 0,27-0,59) e lavado cervical ( $\kappa = 0,39$ ; IC95%: 0,24-0,54) em relação à coleta padrão.

A tabela 9 demonstra a concordância dos testes de HPV entre os lavados vaginal e cervical. Observa-se que a concordância dos resultados foi boa.

Tabela 8 – Concordância da autocoleta e do lavado realizado pelo médico em relação à coleta padrão (esfregaço) de acordo com os resultados citológicos e o teste do HPV. (Hospital de Câncer de Barretos, abril a setembro de 2013).

Resultado do exame	Autocoleta		Lavado pelo médico	
	Kappa	(IC95%)	Kappa	(IC95%)
Citologia insatisfatória	0,07	(-0,14 – 0,28)	-0,01	(-0,03 – 0,01)
Representação glandular	0,01	(-0,04 – 0,06)	0,01	(-0,001 – 0,03)
ASCUS +	0,13	(-0,05 – 0,31)	0,22	(0,06 – 0,38)
ASCH +	0,27	(0,07 – 0,46)	0,27	(0,10 – 0,45)
LSIL +	0,27	(0,07 – 0,47)	0,23	(0,05 – 0,41)
HSIL +	0,32	(-0,02 – 0,70)	0,10	(-0,08 – 0,30)
Teste do HPV (Captura)	0,43	(0,27 – 0,59)	0,39	(0,24 – 0,54)

Tabela 9 – Concordância dos testes de HPV (Captura Híbrida e Cobas HPV) entre as coletas por lavado (Hospital de Câncer de Barretos, abril a setembro de 2013).

Lavado	Cobas HPV	Captura híbrida		Kappa (IC95%)
		Negativo	Positivo	
Auto coleta	Negativo	64	3	0,72 (0,59 – 0,85)
	Positivo	12	35	
Lavado pelo médico	Negativo	74	12	0,54 (0,40 – 0,67)
	Positivo	21	42	

### 5.5. Análise de acurácia para diagnóstico de NIC2+:

Os resultados do teste de HPV em mulheres com diagnóstico histopatológico de NIC2+ encontram-se na tabela 10.

A tabela 11 traz a análise de acurácia para prever NIC2+ de acordo com diversos critérios diagnósticos. As coletas por lavado mostraram, em geral, sensibilidade, VP positivo e AUC significativamente menores em relação à coleta padrão (esfregaço) quando o critério diagnóstico citológico foi empregado (ASCUS+, ASC+, LSIL+ e HSIL+). Contudo, a especificidade e a VP negativo foram similares.

Em relação ao teste do HPV, a autocoleta mostrou menor acurácia em prever NIC2+, com sensibilidade, VP positivo e AUC significativamente menores em relação à coleta padrão (esfregaço). A coleta realizada pelo médico mostrou acurácia semelhante à coleta padrão quando se utilizou o teste do HPV como critério diagnóstico.

Tabela 10 – Resultados dos testes de HPV em mulheres com diagnóstico de NIC2+ de acordo com a coleta e o tipo de teste realizado. (Hospital de Câncer de Barretos, abril a setembro de 2013).

	Autocoleta		Lavado pelo médico		Esfregaço
	Captura Híbrida	Cobas	Captura Híbrida	Cobas	Captura Híbrida
1			Negativo	Positivo	Negativo
2	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
3	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
4			Negativo	Positivo	Negativo
5	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
6	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo
7	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
8	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo
9	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
10	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo
11			Positivo	Positivo	Positivo
12	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
13	Negativo		Negativo		
14	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
15	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
16			Positivo	Positivo	Negativo
17	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo
18			Positivo	Positivo	Negativo
19			Negativo	Positivo	Positivo
20	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
21	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
22	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
23			Positivo	Positivo	Positivo
24	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
25	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
26			Positivo	Positivo	Positivo
27	Negativo	Invalido	Positivo	Positivo	Positivo
28	Negativo	Invalido	Negativo	Negativo	Positivo

Tabela 11 – Análise de acurácia para o diagnóstico de ASCUS+ de acordo com o resultado citológico e o teste do HPV (as diferenças estatisticamente significativas em relação à coleta padrão estão destacadas em vermelho) (Hospital de Câncer de Barretos, abril a setembro de 2013).

Coleta	Estatística	Critério utilizado para o diagnóstico de NIC2 +		
		ASCUS +	Captura - HPV (+)	Cobas - HPV (+)
<b>Autocoleta</b>	Sensibilidade	44,4 (21,5 – 69,2)	50,0 (27,2 – 72,8)	76,5 (50,1 – 93,2)
	Especificidade	77,5 (67,5 – 85,7)	71,4 (61,4 – 80,6)	61,5 (49,8 – 72,3)
	VP positivo	28,6 (13,2 – 48,7)	27,8 (14,2 – 45,2)	30,2 (17,2 – 46,1)
	VP negativo	87,3 (78,0 – 93,8)	86,8 (77,1 – 93,5)	92,3 (81,5 – 97,9)
	AUC	0,61 (0,48 – 0,72)	0,63 (0,49 – 0,78)	0,70 (0,57 – 0,80)
<b>Lavado pelo médico</b>	Sensibilidade	42,9 (24,5 – 62,8)	71,4 (51,3 – 86,8)	88,9 (70,8 – 97,7)
	Especificidade	84,6 (76,2 – 90,9)	68,0 (58,0 – 76,8)	69,5 (59,2 – 78,5)
	VP positivo	42,9 (24,5 – 62,8)	37,7 (24,8 – 52,1)	45,3 (31,6 – 60,0)
	VP negativo	84,6 (76,2 – 90,9)	89,7 (80,8 – 95,5)	95,7 (87,8 – 99,1)
	AUC	0,64 (0,53 – 0,74)	0,73 (0,61 – 0,86)	0,80 (0,70 – 0,88)
<b>Coleta padrão (esfregaço)</b>	Sensibilidade	82,1 (63,1 – 93,9)	81,5 (61,9 – 93,7)	-
	Especificidade	79,8 (70,5 – 87,2)	71,3 (61,0 – 80,1)	-
	VP positivo	53,5 (37,7 – 68,8)	44,9 (30,7 – 59,8)	-
	VP negativo	94,1 (86,7 – 98,0)	93,1 (84,5 – 97,7)	-
	AUC	0,82 (0,72 – 0,89)	0,83 (0,74 – 0,92)	-

AUC: Area under the curve (Área sob a curva ROC).

## 6. DISCUSSÃO

Neste estudo, foi realizado lavado vaginal através de uma sonda uretral, seringa e solução fisiológica, para comparação citológica e realização de testes moleculares para detecção do HPV de alto risco. Este método de coleta (autocoleta), além de barato, é de fácil execução. É possível que a autocoleta seja uma alternativa atraente para o Brasil, já que por sua grande extensão territorial, há regiões de difícil acesso aos serviços de saúde. A autocoleta poderia, pelo menos em teoria, melhorar a inclusão de mulheres que não participam do rastreamento do câncer do colo do útero por receio ou vergonha, realizando sua própria coleta. Dados da literatura<sup>32</sup> corroboram os resultados obtidos neste estudo, sugerindo que a autocoleta é uma opção interessante na prevenção do câncer do colo do útero, principalmente em países em desenvolvimento ou em áreas remotas.

Algumas desvantagens foram observadas no momento da autocoleta. O líquido injetado na vagina escorreu frequentemente para fora da vagina, de forma moderada. Em alguns casos, ocorreu perda total ou parcial deste material, impossibilitando a análise. Além do mais, há de se considerar que o frasco onde o material foi armazenado (SurePath™) contém líquido com metanol e isopropanol em sua composição. O uso doméstico do frasco poderia ser arriscado e trazer sérios problemas à saúde da mulher caso houvesse ingestão acidental do líquido, levando à intoxicação por metanol. Assim, uma barreira a ser transposta é a disponibilização de um frasco com líquido conservante sem metanol e que possa ser utilizado, sem perigo, em ambiente doméstico. A inserção do método de auto coleta em grandes populações, não seria um método factível devido as desvantagens apresentadas acima.

Outra opção de coleta seria através de um swab, cuja sensibilidade e especificidade dos testes de HPV quando coletadas com cotonete seco respectivamente (88,7% 92,5%) são maiores em relação às amostras em base líquida (87,4% 90,9%) respectivamente. A autocoleta vaginal com um swab é precisa em detectar a infecção pelo HPV, podendo ser facilmente encaminhado à residência das mulheres (40). Considerando-se as desvantagens acima apontadas em usar o frasco SurePath™ para preservar as amostras obtidas por autocoleta, o swab seria outra opção interessante

como método de coleta, sobretudo para as mulheres que moram em locais de difícil acesso ou com acesso limitado aos serviços de saúde.

A maioria das mulheres não apresentou dificuldades em entender e realizar o procedimento de autocoleta (lavado vaginal), sendo que a maioria acreditou ser um método de fácil realização. Dados da literatura corroboram os achados do presente estudo<sup>37</sup>. Jones *et al*, ao avaliaram a aceitabilidade de um dispositivo de autocoleta por lavagem para o rastreamento do câncer do colo do útero, destacaram que quase todas as mulheres (96%) relataram estar muito ou bastante confortáveis com o método de coleta em comparação com a coleta realizada pelo médico (47%)<sup>39</sup>.

Quando avaliado os resultados citológicos, a coleta por lavado vaginal e por lavado cervical apresentaram baixa concordância em relação ao resultado do exame citológico obtido por esfregaço cervical. Isto já era esperado acontecer, já que a quantidade de células presente no material coletado por lavado é bem menor do que a presente em uma coleta por esfregaço. A literatura<sup>36</sup> mostra dados semelhantes aos obtidos neste estudo. Conclui-se, portanto, que o exame citológico obtido por lavado, seja vaginal ou cervical, não tem qualquer aplicação no rastreamento do câncer do colo do útero.

Os resultados dos testes moleculares para detecção de HPV de alto risco tiveram concordância baixa entre as três formas de coleta, quando usado o método Captura Híbrida 2, o que difere de dados encontrados na literatura científica. Um estudo que comparou a autocoleta e a coleta realizada pelo médico apresentaram elevada concordância entre os métodos quando utilizada a reação em cadeia da polimerase (PCR) (41). Szarewski *et al* evidenciaram bom desempenho quando utilizada a Captura Híbrida 2, porém o material coletado não foi conservado em solução fisiológica e sim através de escova já padronizada<sup>42</sup>. Em estudo realizado na Austrália, enviou-se Kit contendo swab de nylon para realizar autocoleta em domicílio para um grupo, enquanto em outro, realizou-se a coleta convencional de material para citologia na clínica. O teste utilizado para detecção de HPV foi através da plataforma Cobas 4800, sendo realizado somente nas amostras da autocoleta. O Teste de HPV na autocolera apresentou desempenho melhor do que a citologia cervical na detecção de anormalidades do colo do útero<sup>43</sup>. Corroborando com resultados obtidos acerca do

melhor desempenho no teste Cobas 4800, ressalta-se que os testes baseados em PCR apresentam maior sensibilidade na detecção de DNA viral, mesmo em concentrações baixas<sup>44</sup>.

Este estudo observou diferença significativa entre os resultados dos testes de HPV, havendo maior positividade quando o teste foi realizado pela plataforma Cobas. Estes resultados sugerem que a Captura Híbrida 2 pode apresentar desempenho prejudicado quando o teste é realizado a partir de amostras preservadas em SurePath™, porém o estudo não nos permitiu a conclusão desta relação. Entretanto, um estudo que avaliou a sensibilidade da Captura Híbrida 2 em amostras cervicais com diagnóstico de NIC 2+ armazenadas em frasco SurePath™ e comparou com dados na literatura com amostras armazenadas em frasco ThinPrep® concluiu que a taxa de resultado falso negativo quando utilizado frasco SurePath™ foi baixa quando comparada com dados já existentes utilizando ThinPrep®<sup>45</sup>.

Estudos compararam três formas de testes diagnósticos, Captura Híbrida 2 vs Linear Array (LA) vs Amplicor, em amostras cérvico-vaginais coletada pela própria paciente e esfregaço cervical coletado pelo médico. O teste LA apresentou maior positividade para o HPV em comparação aos demais testes nas amostras cérvico-vaginais coletada pelo médico, porém não houve diferença significativa (46). Phillips e colaboradores compararam o teste Cobas 4800 (Roche) com o teste Captura Híbrida 2 (Digene), Linear Array (Roche) e Amplicor (Roche), para detecção de HPV de alto risco em mulheres submetidas ao tratamento de displasias cervicais. As taxas de positividade para o HPV de alto risco foram: Cobas (80,8%); Captura Híbrida (72,2%); Linear Array (82%) e Amplicor (83,3%). O teste pela plataforma Cobas 4800 foi comparável ao teste Linear Array e Amplicor, e melhor que a Captura Híbrida 2 na detecção de HPV de alto risco em mulheres submetidas a tratamento para displasia cervical<sup>44</sup>.

Em relação ao exame padrão (citologia por esfregaço cervical), a Captura Híbrida 2 e o teste Cobas apresentaram desempenho inferior para diagnosticar NIC2+ quando o material foi coletado por lavado vaginal. Contudo, quando a coleta foi realizada por lavado cervical, tanto a Captura Híbrida 2 quanto o teste Cobas tiveram acurácia semelhante à citologia cervical obtida por esfregaço, embora o teste Cobas

tenha apresentado desempenho ligeiramente melhor que a Captura Híbrida 2. Isto remete à possibilidade de que, em locais onde há carência de profissional médico ou enfermeiro(a), a coleta de material cervical poderia ser realizada por profissional habilitado que fizesse a irrigação da superfície do colo do útero, não havendo necessidade de treinamento mais complexo. Seria uma alternativa interessante à coleta de material por esfregaço cervical, que exige treinamento mais aprimorado. A coleta de material cervical por lavagem pode, em teoria, melhorar as taxas e coberturas do rastreamento e prevenção do câncer do colo do útero. Ao revisar dados já existentes na literatura tratando da acurácia de amostras coletadas pela própria paciente versus citologia coletada pelo médico, Snijders e colaboradores enfatizaram, em um estudo, que as amostradas em geral obtidas por autocoleta parecem ser iguais, senão mais sensíveis para NIC 2+ que as amostras coletadas pelo médico<sup>47</sup>.

Snijders *et al.*<sup>47</sup> mostraram que a sensibilidade para detecção de NIC 2+ na autocoleta utilizando teste de HPV foi equivalente a sensibilidade na citologia para o diagnóstico de ASCUS, porém foi maior quando comparada com a citologia para LSIL. Arbyn *et al.* evidenciam resultados semelhantes aos obtidos, onde a variação da acurácia nos testes de HPV em autocoleta quando comparado com as amostras coletadas pelos médicos foi baixa em diversos estudos. Os testes de HPV com amostras de autocoleta foi menos sensível e específico do que os testes realizados com amostras coletadas pelo médico<sup>48</sup>.

Existem evidências de que estudos onde a autocoleta é realizada através escovas ou dispositivos patenteados de autolavagem mostram maior sensibilidade que naquelas amostras coletadas através de swab ou tampão (solução fisiológica), quando comparada ao diagnóstico NIC 2+ <sup>41</sup>.

Em resumo, a autocoleta foi melhor aceita pelas mulheres participantes do estudo que o exame de Papanicolaou, o que poderia ser um ponto favorável para melhorar a adesão ao programa de rastreamento do câncer do colo do útero. Contudo, o teste do HPV com este material mostrou acurácia inferior à citologia cervical obtida por esfregaço, o que torna o método limitado em um programa de rastreamento. Por outro lado, a coleta de material cervical realizado por lavagem (irrigação direta do colo), parece representar um método alternativo à coleta de

material cervical, já que o teste do HPV com este material teve acurácia semelhante à da citologia por esfregaço. Assim, o lavado cervical pode representar uma interessante alternativa para melhorar a cobertura do rastreamento do câncer de colo do útero no Brasil.

## **7. CONCLUSÃO**

1) As participantes do estudo reportaram que o método de autocoleta é de fácil realização, apresentando preferência e ótima aceitação por este método.

2) Notou-se que os resultados citológicos não apresentaram boa reprodutibilidade nos lavados quando comparados ao esfregaço cervical.

3) Ao comparar a reprodutibilidade nos resultados moleculares, encontrou-se concordância baixa nas três formas de coleta quando realizado o teste Captura Híbrida 2.

4) A citologia nos métodos através do lavado não apresentaram capacidade satisfatória em rastrear lesões precursoras e invasoras. Os testes moleculares, mostraram boa capacidade de detecção de HPV, incluindo a coleta realizada por lavado.

## REFERÊNCIAS:

1. WHO. Initiative for Vaccine Research (IVR) - Viral Cancer - HPV. World Health Organization; 2011 [cited 2012 Jun 30, 2012]; Available from: [http://www.who.int/vaccine\\_research/diseases/viral\\_cancers/en/index3.html](http://www.who.int/vaccine_research/diseases/viral_cancers/en/index3.html).
2. Ribeiro KC. Epidemiologia do câncer do colo do útero - Fatores demográficos e fatores de risco. Coelho FR, Soares FA, Fregnani JH, Zeferino LC, Villa LL, Federico MH, et al., editors. São Paulo: Tecmedd; 2007.
3. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. CA: a cancer journal for clinicians. 2011;61(2):69-90.
4. Parkin DM. Global cancer statistics in the year 2000. Lancet Oncol. 2001 Sep;2(9):533-43.
5. Curado MP, Edwards B, Shin HR, Storm H, Ferlay J, Heanue M, et al. Cancer Incidence in Five Continents, Vol. IX Lyon: IARC Scientific Publications; 2007.
6. Fundação Oncocentro de São Paulo (FOSP). Banco de dados - RHC. São Paulo: Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo.; 2009 [cited 2009 08/03/2009]; Available from: <http://www.fosp.saude.sp.gov.br/>.
7. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2012: GLOBOCAN 2012. Int J Cancer. Dec 15;127(12):2893-917.
8. Nomelini RS, Guimaraes PD, Candido PA, Campos AC, Michelin MA, Murta EF. Prevention of cervical cancer in women with ASCUS in the Brazilian Unified National Health System: cost-effectiveness of the molecular biology method for HPV detection. Cad Saude Publica. Nov;28(11):2043-52.
9. Castellsagué X, Sanjosé S, Aguardo T, Louie KS, Bruni L, Muñoz J, et al. HPV and cervical cancer in the World - 2007 report. Vaccine. 2007 Nov 1;25 Suppl 3:C1-230.
10. Villa LL. Vacinas contra o papilomavírus humano (HPV). In: Coelho FR, Soares FA, Focchi J, Fregnani JH, Zeferino LC, Villa LL, et al., editors. Câncer do colo do útero. São Paulo: Tecmedd; 2007. p. 18-23.
11. Rosa MI, Medeiros LR, Rosa DD, Bozzeti MC, Silva FR, Silva BR. [Human papillomavirus and cervical neoplasia]. Cad Saude Publica. 2009 May;25(5):953-64.
12. NCI. Human Papillomaviruses and Cancer: Questions and Answers. 2009 [cited 2009 21/02/2009]; Available from: <http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/risk/HPV>.
13. Sichero L, Villa LL. Biologia do HPV. In: Coelho FRG, Soares FA, Focchi J, Fregnani JH, Zeferino LC, Villa LL, et al., editors. Câncer do colo do útero. 1st ed. São Paulo: Tecmedd; 2007. p. 58-66.
14. Carvalho JJM, Oyakawa N. I Consenso Brasileiro de HPV. São Paulo: BG Cultural; 2000.
15. WHO. Comprehensive cervical cancer control: a guide to essential practice. Geneva: WHO Press; 2006.

16. Creasman WT. Preinvasive disease of the cervix. In: DiSaia PJ, Creasman WT, editors. *Clinical Gynecologic Oncology*. Philadelphia: Elsevier; 2007. p. 1-36.
17. Nadal LRM, Nadal SR. Indicações da vacina contra o Papilomavírus Humano. *Rev Bras Coloproctol*. 2008;28(1):124-6.
18. Nadal SR, Manzione CR. Vacinas contra o Papilomavirus humano; Vaccines against human Papillomavirus. *Rev bras colo-proctol*. 2006;26(3):337-40.
19. Norman AH, Tesser CD. Prevenção quaternária na atenção primária à saúde: uma necessidade do Sistema Único de Saúde Quaternary prevention in primary care: a necessity for the Brazilian Unified National Health System. *Cad Saude Publica*. 2009;25(9):2012-20.
20. Brasil. Estimativas 2008: Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA; 2007.
21. INCA. Normas e recomendações do INCA. Periodicidade de realização do exame preventivo do câncer do colo do útero. *Rev Bras Cancerol*. 2002;48(1):13-5.
22. Brasil. Instituto Nacional do Câncer. Diretrizes rastreamento câncer colo útero. Rio de Janeiro [cited 2013]; Available from: [http://www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/Diretrizes\\_rastreamento\\_cancer\\_colo\\_uterio.pdf](http://www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/Diretrizes_rastreamento_cancer_colo_uterio.pdf).
23. WHO. Human papillomavirus and HPV vaccines: technical information for policy-makers and health professionals. Geneve: WHO Press; 2007.
24. Cordeiro MRA, Costa H, Andrade RPd, Brandão VRA, Santana R. Inspeção visual do colo uterino após aplicação de ácido acético no rastreamento das neoplasias intra-epiteliais e lesões induzidas por HPV. *Rev Brás Ginecol Obstet*. 2005;27(2):51-7.
25. Parkin DM, Bray F. Chapter 2: The burden of HPV-related cancers. *Vaccine*. 2006 Aug 31;24 Suppl 3:S3/11-25.
26. Cuzick J, Cadman L, Mesher D, Austin J, Ashdown-Barr L, Ho L, et al. Comparing the performance of six human papillomavirus tests in a screening population. *Br J Cancer*. [Comparative Study Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2013 Mar 5;108(4):908-13.
27. Cuzick J, Bergeron C, von Knebel Doeberitz M, Gravitt P, Jeronimo J, Lorincz AT, et al. New technologies and procedures for cervical cancer screening. *Vaccine*. [Review]. 2012 Nov 20;30 Suppl 5:F107-16.
28. Wentzensen N. Triage of HPV-positive women in cervical cancer screening. *Lancet Oncol*. [Comment Research Support, N.I.H., Intramural]. 2013 Feb;14(2):107-9.
29. Depuydt CE, Makar AP, Ruymbeke MJ, Benoy IH, Vereecken AJ, Bogers JJ. BD-ProExC as adjunct molecular marker for improved detection of CIN2+ after HPV primary screening. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2011 Apr;20(4):628-37.

30. Hesselink AT, Heideman DA, Steenbergen RD, Gok M, van Kemenade FJ, Wilting SM, et al. Methylation marker analysis of self-sampled cervico-vaginal lavage specimens to triage high-risk HPV-positive women for colposcopy. *Int J Cancer*. 2014 Aug 15;135(4):880-6.
31. Ronco G, Rossi PG. New paradigms in cervical cancer prevention: opportunities and risks. *BMC women's health*. 2008;8(1):23.
32. Lorenzi AT, Fregnani JH, Possati-Resende JC, Neto CS, Villa LL, Longatto-Filho A. Self-collection for high-risk HPV detection in Brazilian women using the careHPV test. *Gynecol Oncol*. 2013 Oct;131(1):131-4.
33. Zhao FH, Lewkowitz AK, Chen F, Lin MJ, Hu SY, Zhang X, et al. Pooled analysis of a self-sampling HPV DNA Test as a cervical cancer primary screening method. *J Natl Cancer Inst*. 2012 Feb 8;104(3):178-88.
34. Torres LM, Páez M, Insaurralde A, Rodriguez MI, Castro A, Kasamatsu E. Detection of high risk human papillomavirus cervical infections by the hybrid capture in Asunción, Paraguay. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2009;13(3):203-6.
35. Gok M, Heideman DA, van Kemenade FJ, Berkhof J, Rozendaal L, Spruyt JW, et al. HPV testing on self collected cervicovaginal lavage specimens as screening method for women who do not attend cervical screening: cohort study. *BMJ*. [Controlled Clinical Trial Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2010;340:c1040.
36. Nobbenhuis MA, Helmerhorst TJ, van den Brule AJ, Rozendaal L, Jaspars LH, Voorhorst FJ, et al. Primary screening for high risk HPV by home obtained cervicovaginal lavage is an alternative screening tool for unscreened women. *J Clin Pathol*. [Evaluation Studies Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2002 Jun;55(6):435-9.
37. Jones HE, Wiegerinck MA, Nieboer TE, Mol BW, Westhoff CL. Women in the Netherlands prefer self-sampling with a novel lavaging device to clinician collection of specimens for cervical cancer screening. *Sexually transmitted diseases*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2008 Nov;35(11):916-7.
38. Nelson EJ, Hughes J, Oakes JM, Thyagarajan B, Pankow JS, Kulasingam SL. Human Papillomavirus Infection in Women Who Submit Self-collected Vaginal Swabs After Internet Recruitment. *J Community Health*. 2014 Sep 26.
39. Jones HE, Brudney K, Sawo DJ, Lantigua R, Westhoff CL. The acceptability of a self-lavaging device compared to pelvic examination for cervical cancer screening among low-income women. *J Womens Health (Larchmt)*. 2012 Dec;21(12):1275-81.
40. Haguenoer K, Giraudeau B, Gaudy-Graffin C, de Pinieux I, Dubois F, Trignol-Viguier N, et al. Accuracy of dry vaginal self-sampling for detecting high-risk human papillomavirus infection in cervical cancer screening: a cross-sectional study. *Gynecol Oncol*. 2014 Aug;134(2):302-8.
41. Campos KL, Machado AP, Almeida FG, Bonin CM, Prata TT, Almeida LZ, et al. Good agreements between self and clinician-collected specimens for the detection of human papillomavirus in Brazilian patients. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2014 Jun;109(3):352-5.

42. Szarewski A, Cadman L, Mesher D, Austin J, Ashdown-Barr L, Edwards R, et al. HPV self-sampling as an alternative strategy in non-attenders for cervical screening - a randomised controlled trial. *Br J Cancer*. 2011 Mar 15;104(6):915-20.
43. Sultana F, English DR, Simpson JA, Brotherton JM, Drennan K, Mullins R, et al. Rationale and design of the iPap trial: a randomized controlled trial of home-based HPV self-sampling for improving participation in cervical screening by never- and under-screened women in Australia. *BMC Cancer*. 2014;14:207.
44. Phillips S, Garland SM, Tan JH, Quinn MA, Tabrizi SN. Comparison of the Roche Cobas((R)) 4800 HPV assay to Digene Hybrid Capture 2, Roche Linear Array and Roche Amplicor for Detection of High-Risk Human Papillomavirus Genotypes in Women undergoing treatment for cervical dysplasia. *J Clin Virol*. 2015 Jan;62:63-5.
45. Zhou F, Pulinthanathu R, Elgert P, Cangiarella J, Simsir A. Sensitivity of high-risk HPV Hybrid Capture II (hrHPV HC2) test using SurePath specimens in the prediction of cervical high-grade squamous lesions. *Diagn Cytopathol*. 2014 Dec 26.
46. Gage JC, Partridge EE, Rausa A, Gravitt PE, Wacholder S, Schiffman M, et al. Comparative performance of human papillomavirus DNA testing using novel sample collection methods. *J Clin Microbiol*. 2011 Dec;49(12):4185-9.
47. Snijders PJ, Verhoef VM, Arbyn M, Ogilvie G, Minozzi S, Banzi R, et al. High-risk HPV testing on self-sampled versus clinician-collected specimens: a review on the clinical accuracy and impact on population attendance in cervical cancer screening. *Int J Cancer*. 2013 May 15;132(10):2223-36.
48. Arbyn M, Verdoodt F, Snijders PJ, Verhoef VM, Suonio E, Dillner L, et al. Accuracy of human papillomavirus testing on self-collected versus clinician-collected samples: a meta-analysis. *Lancet Oncol*. 2014 Feb;15(2):172-83.

**ANEXO 1**

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)  
PARA PARTICIPAÇÃO EM PESQUISA**

Titulo do Projeto:

***Lavado cérvico-vaginal: possível alternativa para o rastreamento do câncer do colo do útero no Brasil?***

---

**INVESTIGADORES DO ESTUDO**

Hospital de Câncer de Barretos, Brasil

Larissa de Melo Kuil

José Humberto Tavares Guerreiro Fregnani

---

Identificação do participante

Número do prontuário médico

---

(se pertinente)

Você está sendo convidada a participar deste estudo que será realizado no Hospital de Câncer de Barretos - Fundação Pio XII. Este Termo de Consentimento explica porque este estudo está sendo realizado e qual será a sua participação, caso você aceite o convite. Este documento também descreve os possíveis riscos e benefícios se você quiser participar. Após analisar as informações com a pessoa que explica este Termo de Consentimento, e esclarecer suas dúvidas, você deverá ter o conhecimento necessário para tomar uma decisão esclarecida sobre sua participação ou não neste estudo.

#### **JUSTIFICATIVA PARA O ESTUDO**

O câncer do colo do útero é uma doença muito comum no Brasil e em diversos países no mundo. A prevenção desta doença é feita com o exame preventivo do colo do útero (Papanicolaou), mas ainda há necessidade de se encontrar novas formas de prevenção deste câncer.

#### **OBJETIVO DO ESTUDO**

O objetivo geral do estudo é avaliar um exame preventivo do câncer do colo do útero diferente do exame de Papanicolaou, onde você mesma fará a coleta de secreção do colo do útero e da vagina. Este estudo pretende avaliar a aceitação deste novo método e também se ele é tão bom quanto o exame preventivo normalmente realizado.

#### **PROCEDIMENTOS**

Se você aceitar participar do estudo, vamos pedir a você que faça uma lavagem da vagina com soro fisiológico. Para isso, você deverá dirigir-se ao consultório, despir-se da cintura para baixo, deitar-se na maca e colocar um tubo fino de silicone (“sonda uretral”) na vagina, por pelo menos 10-12 cm. Este tubo será conectado a uma seringa por onde você deverá injetar 20 ml de “soro fisiológico” (líquido composto por água e um pouco de sal) dentro da vagina. A seguir, você deverá aspirar o líquido que injetou

na vagina para dentro da seringa. Este líquido aspirado será transferido para um frasco que contém um líquido conservante. Quando terminar esta parte, o médico também fará a coleta de material para exame. Para isso, você se deitará em uma maca especial, onde ficará em posição parecida com a do parto normal (parto vaginal). O médico colocará na sua vagina um aparelho que facilitará a visualização do colo do útero (“espécuro”). Após, ele fará lavagem do seu colo do útero e da vagina usando novamente uma “sonda uretral” e uma seringa. Este lavado será aspirado e transferido também para outro frasco com líquido conservante. Por fim, o médico fará a coleta do exame de preventivo (Papanicolaou), raspando delicadamente o seu colo do útero com uma escova especial (exame de Papanicolaou) e a colocará em um terceiro frasco com líquido conservante. Terminadas as três coletas de material, você fará o exame de colposcopia que já estava programado fazer.

Os três frascos com líquido conservante (um com o líquido da lavagem vaginal que você fez, um com o líquido da lavagem vaginal que o médico fez e um com o raspado do colo do útero que o médico fez) serão encaminhados ao laboratório onde serão feitos exames para a detecção de células de câncer e também de um vírus chamado HPV, que é o responsável pelo aparecimento do colo do útero. Durante a colposcopia, se o médico notar alguma alteração suspeita, ele fará uma biópsia do seu colo do útero na região afetada. Esta biópsia compreende a retirada de um pedaço muito pequeno (poucos milímetros) do colo do útero na região afetada.

### **RISCOS E DESCONFORTOS PARA OS PARTICIPANTES**

Durante a colocação do tubo de silicone (“sonda vesical”) na vagina você poderá sentir algum desconforto, mas ela não irá machucá-la. Durante a aspiração do líquido que você injetou na vagina, você poderá sentir uma pressão leve dentro da vagina. Na colocação do “espécuro”, você poderá sentir um desconforto leve, como se fosse uma ligeira pressão dentro da vagina, mas o aparelho não irá lhe machucar. Durante o raspado do colo do útero no exame de Papanicolaou você poderá sentir uma cólica leve no útero. Se houver necessidade de biópsia do colo do útero, poderá ocorrer

sensação de cólica no útero e um sangramento pela vagina em pequena quantidade que, em geral, dura pouco tempo (alguns minutos).

### **BENEFÍCIOS ESPERADOS**

É possível que este estudo não traga benefícios diretos a você. Mas ao final deste estudo, as informações que ele gerar poderão trazer benefícios a outras mulheres caso o método de lavagem vaginal mostre-se tão bom quanto o exame de Papanicolaou convencional para prevenir o câncer do colo do útero.

### **DESTINO DOS MATERIAIS BIOLÓGICOS**

Todos os materiais biológicos coletados durante este estudo (lavado da vagina e raspado da vagina) e os dados obtidos durante o estudo não serão utilizados para outros fins além daqueles explicados neste Termo de Consentimento. Esses materiais não terão os seus dados pessoais, apenas códigos de identificação, para manter o seu sigilo. Depois de todas as análises terem sido realizadas, o material biológico que restar será adequadamente armazenado no Hospital de Câncer de Barretos. Se houver necessidade de fazer novas análises com seu material e/ou outras pesquisas, o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Câncer de Barretos (CEP-HCB) avaliará esse novo uso. Sem a autorização deste comitê, novas pesquisas com o seu material não poderão ser realizadas. Apesar deste material biológico ficar guardado no Hospital de Câncer de Barretos, ele pertence a você. A qualquer momento, durante ou após este estudo, você poderá retirar este material do hospital ou pedir que seja destruído. Isto não tirará nenhum direito do seu tratamento neste hospital. Ao final deste termo você poderá decidir se autoriza o uso de seu material em pesquisas futuras (aprovadas pelo CEP-HCB) ou se prefere ser avisado em cada situação em que seu material seja utilizado em novos estudos para que você autorize ou não este uso.

### **INTERRUPÇÃO DO ESTUDO**

Este estudo poderá ser encerrado antes do prazo se houver dúvidas relativas à segurança das participantes ou por razões administrativas. Qualquer que seja o motivo, o estudo somente será interrompido depois da avaliação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Câncer de Barretos que o aprovou, a não ser que existam razões de segurança que exijam a interrupção imediata do estudo.

### **LIBERDADE DE RECUSA**

A sua participação neste estudo é voluntária e não é obrigatória. Você pode aceitar participar do estudo e depois desistir a qualquer momento. Isto não tirará nenhum direito do seu tratamento e assistência neste hospital. Você também poderá pedir a qualquer momento que as suas informações sejam excluídas completamente deste estudo e que elas não sejam usadas para mais nada. O presente estudo oferece ao participante um questionário para ser respondido após a execução do procedimento, o indivíduo tem o direito de recusar-se a responder as perguntas que ocasionem constrangimento de alguma natureza.

### **GARANTIA DE SIGILO**

O Hospital de Câncer de Barretos tomará todas as medidas para manter suas informações pessoais (como nome, endereço e outras) em sigilo. Durante todo o estudo e mesmo depois que terminar, quando os resultados deste estudo forem publicados em revistas científicas ou apresentados em congressos ou reuniões, a sua identidade será guardada em segredo, não sendo revelada qualquer informação a seu respeito que possa identificar você publicamente. Contudo, durante o estudo, algumas pessoas do Hospital de Câncer de Barretos envolvidas diretamente na pesquisa poderão ter acesso aos seus dados. Mesmo assim, os seus dados serão preservados e não serão divulgados publicamente.

### **CUSTOS, REMUNERAÇÃO E INDENIZAÇÃO**

A participação neste estudo não terá custos a mais para você. Os custos relacionados diretamente com o estudo serão pagos pela instituição que está participando deste estudo. Também não haverá qualquer tipo de pagamento devido à sua participação (mesmo que haja patentes ou descobertas). Se você sofrer algum dano a sua saúde como resultado da sua participação nesse estudo nesta instituição, o Hospital de Câncer de Barretos será responsável por lhe dar todo o tratamento necessário e de forma gratuita. Ao assinar este Termo de Consentimento, você não perderá nenhum direito, inclusive o de obter indenização por dano a sua saúde se isto acontecer.

#### **ESCLARECIMENTOS ADICIONAIS, CRÍTICAS, SUGESTÕES E RECLAMAÇÕES**

Você poderá tirar qualquer dúvida sobre o estudo, fazer críticas, sugestões e reclamações diretamente com os pesquisadores no Hospital de Câncer de Barretos, Enfermeira Larissa de Melo Kuil, no telefone (17)3321-6600, ramal: 7080, ou Dr. José Humberto Tavares Guerreiro Fregnani – telefone (17)3321-6600, ramal 7009. Você também poderá entrar em contato com o coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Câncer de Barretos (CEP-HCB), Dr. Sérgio Serrano, localizado na Rua Antenor Duarte Vilela, 1331 – telefone (17) 3321-6600, ramal 6894 – e-mail [cep@hcancerbarretos.com.br](mailto:cep@hcancerbarretos.com.br).

## DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO

Entendi o estudo. Tive a oportunidade de ler o Termo de Consentimento ou alguém o leu para mim. Tive a oportunidade de pensar, fazer perguntas e falar a respeito do documento com outras pessoas quando precisei. Autorizo a minha inclusão neste estudo. Ao assinar este Termo de Consentimento, não renuncio a nenhum dos meus direitos legais. Este documento será assinado em duas vias, sendo que uma cópia ficará comigo e outra com o pesquisador.

Manifestação do uso futuro de material biológico após o término da pesquisa:

Após o término deste estudo, todo o material biológico retirado de você (lavado vaginal, raspado do colo e biópsia do colo do útero) será armazenado no Hospital de Câncer de Barretos. No futuro, este material também poderá servir para outros estudos. Se isso ocorrer você poderá ou não autorizar o uso deste material novamente. Esta decisão é sua. Por favor, assinale uma das alternativas abaixo sobre o seu desejo em relação ao uso material biológico em outras pesquisas no futuro:

|  | **SIM**, autorizo o uso de meu material biológico em novas pesquisas, que possam ser realizadas futuramente no Hospital de Câncer de Barretos, desde que sejam aprovadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Câncer de Barretos (CEP-HCB).

|  | **NÃO** autorizo o uso de meu material biológico em novas pesquisas que possam ser realizadas futuramente. Desejo ser informado em cada situação em que meu material será utilizado em novos estudos para que eu possa autorizar ou não este uso.

---

Nome por extenso do sujeito de pesquisa ou do representante legal

---

Data

---

Assinatura

---

Nome por extenso do responsável que explicou e obteve o Termo de Consentimento

---

Data

---

Assinatura

---

Nome por extenso da testemunha imparcial (para casos de analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual)

---

Data

---

Assinatura

**ANEXO 2**

**QUESTIONÁRIO SOCIODEMOGRÁFICO**

## QUESTIONÁRIO SOCIODEMOGRÁFICO

<div style="border: 1px solid black; width: 80%; margin: 0 auto; padding: 10px;"> <p style="text-align: center;">Etiqueta</p> </div>	<p>Número de identificação: _____</p> <p>Data entrevista: ___/___/___</p>
--	---

<b>▪ Estado civil:</b>	(1) Solteira      (2) Casada      (3) Separada / Divorciada (4) Amasiada      (5) Viúva	
<b>▪ Raça:</b>	(1) Branca      (2) Negra      (3) Parda      (4) Amarela	
<b>▪ Renda familiar</b>	(1) Até R\$ 500,00      (2) R\$ 501 – 1.000,00 (3) R\$ 1.001,00 – R\$ 2.000,00      (4) R\$ 2.001,00 – 4.000,00 (5) R\$ 4.000,01 – R\$ 8.000,00      (6) Mais do que R\$ 8.000,00	
<b>▪ Instrução:</b>	(0) Analfabeto (1) Ensino Fundamental completo ou incompleto (2) Ensino Médio – completo ou incompleto (3) Superior completo	
<b>▪ Religião:</b>	(0) Sem religião      (1) Católica      (2) Protestante (3) Espírita      (4) Afro-brasileira      (5) Outras	
<b>▪ Antecedentes:</b>	Idade do início da atividade sexual:	
	Número de parceiros sexuais até hoje:	
	Número de filhos:	

**ANEXO 3**

**QUESTIONÁRIO: DOR E ACEITAÇÃO**

## ESCALA VISUAL DE DOR



Assinale a INTENSIDADE DA DOR de cada coleta:

- 1ª Coleta** – Lavado feito pela paciente (autocoleta) [            ]  
**2ª Coleta** – Lavado feito pelo médico [            ]  
**3ª Coleta** – Papanicolaou normal [            ]

### QUESTIONÁRIO DE ACEITAÇÃO (LAVADO CÉRVICO-VAGINAL – AUTOCOLETA)

**Você teve dificuldade em entender como realizar o procedimento?**

- 0 – Não
- 1 – Um pouco
- 2 – Moderado
- 3 – Muito
- 4 – Não sei

**Foi difícil para realizar o procedimento deitada na maca?**

- 0 – Não
- 1 – Um pouco
- 2 – Moderado
- 3 – Muito
- 4 – Não sei

**Houve dificuldade para introduzir a sonda na vagina?**

- 0 – Não
- 1 – Um pouco
- 2 – Moderado
- 3 – Muito
- 4 – Não sei

**Houve dificuldade para injetar o líquido dentro da vagina?**

- 0 – Não
- 1 – Um pouco
- 2 – Moderado
- 3 – Muito
- 4 – Não sei

**Houve desconforto / dor para aspirar o líquido de vagina para dentro da seringa?**

- 0 – Não
- 1 – Um pouco
- 2 – Moderado
- 3 – Muito
- 4 – Não sei

**O líquido que você injetou escorreu para fora da vagina?**

- 0 – Não
- 1 – Um pouco
- 2 – Moderado
- 3 – Muito
- 4 – Não sei

**Em relação a facilidade em realizar este método de coleta, o que você acha?**

- 0 – Fácil de realizar
- 1 – Um pouco difícil de realizar
- 2 – Moderadamente difícil de realizar
- 3 – Muito difícil de realizar
- 4 – Não sei

**Você acha que este método de coleta causou constrangimento / provocou vergonha?**

- 0 – Não
- 1 – Um pouco
- 2 – Moderado
- 3 – Muito
- 4 – Não sei

**Você achou este método de coleta desconfortável?**

- 0 – Não
- 1 – Um pouco
- 2 – Moderado
- 3 – Muito
- 4 – Não sei

**Você prefere realizar este método de coleta (autocoleta) ou que um profissional como médico ou enfermeira colete o seu Papanicolaou / Preventivo?**

- 1 – Autocoleta
- 2 – Médico / Enfermeira
- 3 – Tanto faz
- 4 – Não sei

**Se preferir a autocoleta, porque prefere este método?**

Resposta: \_\_\_\_\_

## **ANEXO 4**

### **RESULTADO DOS EXAMES**



**Anexo 5**

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**



