

MAÍRA DEGIOVANI STEIN

**DESEMPENHO DIAGNÓSTICO DA CITOLOGIA CERVICAL PREPARADA
EM BASE LÍQUIDA, LIDA MANUALMENTE VERSUS A LIDA DE FORMA
AUTOMATIZADA E ASSISTIDA POR COMPUTADOR**

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: Dr. Adhemar Longatto Filho,
Mestre, PhD, PMIAC

**Barretos, SP
2013**

S819d Stein, Máira Degiovani.

Desempenho diagnóstico da citologia cervical preparada em base líquida, lida manualmente versus a lida de forma automatizada e assistida por computador / Máira Degiovani Stein. – Barretos, 2013.
104 f. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado em Oncologia) – Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2013.
Orientador: Dr. Adhemar Longatto Filho.

1. Citologia. 2. Automação. 3. Surepath. 4. Diagnóstico assistido por computador. 5. Controle de qualidade, desempenho. I. Autor. II. Longatto Filho, Adhemar. III. Título.

CDD 611.018

Folha de aprovação

Maíra Degiovani Stein

Desempenho diagnóstico da citologia cervical preparada em base líquida, lida manualmente versus a lida de forma automatizada e assistida por computador

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: 27/02/2013

Banca Examinadora:

Prof. Dr. José Eduardo Levi
Instituição: Universidade São Paulo – USP

Prof. Dr. Eduardo Anselmo Garcia
Instituição: Faculdade de Ciências da Saúde de Barretos

Prof. Dr. José Humberto T. G. Fregnani
Instituição: Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos

Prof. Dr. Adhemar Longatto Filho
Orientador

Prof. Dr. Rui Manuel Vieira Reis
Presidente da Banca Examinadora

“Esta dissertação 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 Ciências da Saúde 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 árduo trabalho a meus pais,
Paulo e Maria das Graças e ao meu irmão Paulo
Guilherme que sempre me apoiaram.

Agradecimentos

Agradeço, primeiramente, a Deus por me proporcionar inspiração, força e saúde para realizar mais esta etapa.

Ao Hospital de Câncer de Barretos – Fundação Pio XII por ter-me proporcionado esta oportunidade com a criação do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.

Ao meu orientador, Dr. Adhemar, que pacientemente respondeu aos meus infinitos questionamentos; sempre me tranquilizou nos momentos de ansiedade e pela confiança em mim depositada.

Aos membros da minha banca de acompanhamento, Dr. José Humberto e Dr. Eduardo, que além de revisarem por várias vezes a minha dissertação, estavam disponíveis em todos momentos para tirar alguma dúvida.

Ao responsável pelo Departamento de Patologia, Dr. Cristovam, pela oportunidade de aprendizado, crescimento e por suas sugestões no decorrer do projeto.

À minha mãe, Maria das Graças, que fez a correção ortográfica, atenciosamente me ouviu nos treinamentos das apresentações e aceitou minha ausência no dia a dia. **Ao meu pai e irmão, Paulo e Paulo Guilherme**, que me deram apoio com suas palavras de otimismo. **Aos meus familiares**, que mesmo longe me deram ânimo para continuar.

Aos citotécnicos, Dioclécio, Erlaine, Eduardo, Fabinho, Fábio e Michele, que me ajudaram em toda a parte prática deste trabalho. Aos patologistas, a toda equipe da Patologia, aos membros do NAP e da pós-graduação que sempre estavam dispostos a me auxiliar.

Aos amigos mestrando, Anderson e Letícia, que me socorreram no momento de usar os recursos do computador como formatação da dissertação e confecção de slides para as apresentações.

Às minhas amigas e amigos que compreenderam meus “nãos” nos momentos de reuniões e festas, mas sempre estavam presentes para ouvir meus desabafos.

Enfim, agradeço a paciência e apoio de todos que direta ou indiretamente estiveram presentes em mais esta etapa da minha vida.

Nunca nada grandioso no mundo foi feito sem uma grande dose de paixão.

Georg Wihelm Friedrich Hegel

Índice

1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DO CÂNCER DE COLO UTERINO	1
1.2 VÍRUS DO PAPILOMA HUMANO (VPH OU HPV DO INGLÊS HUMAN PAPILOMA VIRUS)	1
1.3 CARCINOGENESE INDUZIDA PELO HPV	2
1.4 PREVENÇÃO DO CARCINOMA CERVICAL	3
1.5 ALGORITMO DO TRATAMENTO DAS LESÕES CERVICAIS.....	4
1.5.1 Células escamosas atípicas de significado indeterminado, possivelmente não neoplásicas (ASC-US)	4
1.5.2 Células escamosas atípicas de significado indeterminado, quando não se pode excluir lesão intraepitelial de alto grau (ASC-H)	5
1.5.3 Células glandulares atípicas de significado indeterminado (AGC), tanto para as possivelmente não neoplásicas quanto para aquelas em que não se pode afastar lesão intraepitelial de alto grau	5
1.5.4 Lesão intraepitelial de baixo grau (LSIL)	5
1.5.5 Lesão intraepitelial de alto grau (HSIL).....	6
1.5.6 Adenocarcinoma <i>in situ</i> /invasor.....	6
1.5.7 Carcinoma invasor de células escamosas.....	6
1.5.8 Alterações celulares pelo tratamento por radioterapia.....	7
1.6 RASTREAMENTO DE LESÕES DO COLO UTERINO	7
1.6.1 História do Papanicolaou.....	7
1.6.2 Citologia Convencional	8
1.6.3 Citologia em base líquida (CBL)	9
1.7 VANTAGENS E LIMITAÇÕES DA CITOLOGIA.....	10
1.7.1 Vantagens e limitações da citologia convencional.....	10
1.7.2 Vantagens e limitações da citologia em base líquida.....	11
1.7.3 Dificuldades da análise citológica.....	12
1.7.3.1 Interpretação das alterações morfológicas.....	12
1.7.3.2 Coleta das amostras cervicais.....	13
1.7.3.3 Fadiga do citotécnico.....	13
1.7.4 Citologia Automatizada e Assistida por Computador	14
2 JUSTIFICATIVA.....	17
3 OBJETIVOS.....	18
3.1 OBJETIVO GERAL	18
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	19
4.1 TIPO DE ESTUDO	19
4.2 CASUÍSTICA	20

4.3 ÉTICA.....	20
4.4 DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSE	20
4.5 COLETA DE AMOSTRAS CITOLÓGICAS	21
4.6 PREPARO DAS LÂMINAS	23
4.6.1 PrepMate™	24
4.6.2 PrepStain™	25
4.7 AVALIAÇÃO DAS LÂMINAS	27
4.7.1 Avaliação manual das lâminas.....	27
4.7.2 Avaliação automatizada e assistida pelo BD FocalPoint™ GS Imaging System	28
4.7.2.1 Análise das lâminas pelo FP.....	29
4.7.2.2 Janela de interface do FP.....	30
4.7.2.3 Classificação em quintis pelo FP.....	31
4.7.2.4 Impressão de relatórios.....	32
4.7.2.5 Backup de dados.....	32
4.7.3 Avaliação citológica na GS	33
4.7.4 Revisão citológica pelos Patologistas	38
4.7.5 Casos discordantes	39
4.7.6 Padrão ouro morfológico	39
4.7.7 Análise de dados.....	40
5 RESULTADOS.....	41
5.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA	41
5.2 ANÁLISE DA REPRODUTIBILIDADE DO DIAGNÓSTICO PRIMÁRIO MANUAL E LAAC NO FOCALPOINT™ GS IMAGING SYSTEM.	42
5.3 COMPARAÇÃO DA CLASSIFICAÇÃO EM QUINTIS PELO FP VERSUS O DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO OBTIDO NA LEITURA NA GS.....	44
5.4 AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DO RASTREIO MANUAL E AUTOMATIZADO.	47
6 DISCUSSÃO.....	49
6.1 ANÁLISE DA REPRODUTIBILIDADE	50
6.2 CLASSIFICAÇÃO EM QUINTIS PELO FP.....	52
6.3 DESEMPENHO DIAGNÓSTICO DA LM E LAAC.....	53
7 CONCLUSÕES	57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58
ANEXOS.....	64
TABELAS.....	64
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	74
APROVAÇÃO DO CEP.....	75
ARTIGO ACEITO PELA REVISTA AMERICAN JOURNAL OF CLINICAL PATHOLOGY	76

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Classificação das alterações citológicas ao longo dos anos.....	8
Figura 2- Fluxograma do estudo	19
Figura 3 - Espátula de Ayre, escova endocervical, escova Rover’s Cervex-Brush™ e frasco de coleta SurePath™	21
Figura 4 - Procedimento de coleta.....	22
Figura 5 - A cabeça da escova é destacada.....	22
Figura 6 - Vortex Multi Vial™	23
Figura 7 - PrepMate™ com as bandejas contendo por seringas, tubos de centrifugação e frascos de coleta	24
Figura 8- PrepStain™ com tubos de centrifugação, lâminas e a bateria de coloração ao lado.....	25
Figura 9 - Exemplo do braço do PrepStain™ pipetando as amostras.....	26
Figura 10 - Lâmina SurePath™	26
Figura 11 - BD FocalPoint™ Slide Profiler (FP)	28
Figura 12 - BD FocalPoint™ GS Review Station (GS)	28
Figura 13- Exemplo de informação na janela de interface do FP.....	30
Figura 14 - Exemplo da classificação das lâminas em quintis. Notar que os casos representados por bolinhas azuis estão dentro dos parâmetros de normalidade e que os vermelhos representam os casos alterados.....	31
Figura 15 - Exemplo do resumo do relatório do conjunto de lâminas.....	32
Figura 16 - Mensagem do backup de dados.....	33
Figura 17 - Componentes do BD FocalPoint™ GS Review Station	34
Figura 18 - Exemplo de mensagem observada para calibração da platina da GS.....	35
Figura 19 - Aspecto microscópico da borda superior da lâmina.	35
Figura 20 - Exemplo de um caso analisado na GS, visto de uma janela de seleção de lâminas.....	36
Figura 21 - Tela do BD FocalPoint™ GS Review com o campo de referência selecionado.	37
Figura 22 - Exemplo dos campos da lâmina que o FP separou para leitura.....	38

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Número e porcentagem de exame preventivo e radioterapia em mulheres que realizaram o exame de Papanicolaou no Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.41
- Tabela 2** – Qualidade das amostras analisadas no Departamento de Patologia do Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.....42
- Tabela 3** – Classificação das lâminas pela leitura do FocalPoint™, no Departamento de Patologia do Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.42
- Tabela 4** - Índice de Concordância entre os métodos de LM e LAAC, com e sem a revisão final do patologistas do exame citológico de mulheres que realizaram o exame de Papanicolaou no Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.43
- Tabela 5** - Índice de Concordância entre os métodos de LM e LAAC, com e sem a revisão final do patologistas do exame citológico de mulheres SEM HISTÓRIA PRÉVIA DE RADIOTERAPIA que realizaram o exame de Papanicolaou no Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.....43
- Tabela 6** - Índice de Concordância entre os métodos de LM e LAAC, com e sem a revisão final do patologistas do exame citológico de mulheres COM HISTÓRIA PRÉVIA DE RADIOTERAPIA que realizaram o exame de Papanicolaou no Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.....44
- Tabela 7** - Classificação em quintis feita pelo FP em relação ao Diagnóstico Citológico da leitura dos Citotécnicos. Departamento de Patologia do Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.....45
- Tabela 8** - Classificação em quintis feita pelo FP em relação ao Diagnóstico Citológico da leitura dos Patologistas. Departamento de Patologia do Hospital de Câncer Barretos no

período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.	46
Tabela 9 - Acurácia dos métodos LM e LAAC, com e sem revisão do patologista para o exame citológico. Critério citológico HSIL+e padrão ouro NIC2+.	47
Tabela 10 - Acurácia dos métodos LM e LAAC, com e sem revisão do patologista para o exame citológico. Critério citológico LSIL+e padrão ouro NIC1+.	48
Tabela 11 - Diagnóstico citológico dos citotécnicos nas leituras manual e automatizada das lâminas das pacientes estudadas. Departamento de Patologia do Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.	64
Tabela 12 - Diagnóstico citológico dos citotécnicos nas leituras manual e automatizada das lâminas das pacientes estudadas sem radioterapia prévia. Departamento de Patologia do Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.	65
Tabela 13 - Diagnóstico citológico dos citotécnicos nas leituras manual e automatizada das lâminas das pacientes estudadas com radioterapia prévia. Departamento de Patologia do Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.	66
Tabela 14 - Diagnóstico citológico dos patologistas nas leituras manual e automatizada das lâminas das pacientes estudadas. Departamento de Patologia do Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.	67
Tabela 15 - Diagnóstico citológico dos patologistas nas leituras manual e automatizada das lâminas das pacientes estudadas sem radioterapia prévia. Departamento de Patologia do Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.	68
Tabela 16 - Diagnóstico citológico dos citotécnicos nas leituras manual e automatizada das lâminas das pacientes estudadas com radioterapia prévia. Departamento de Patologia do Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.	69
Tabela 17 - Diagnóstico citológico dos citotécnicos na leitura automatizada das lâminas das pacientes estudadas e biópsias. Departamento de Patologia do Hospital de Câncer	

Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012. 70

Tabela 18 - Diagnóstico citológico dos citotécnicos na leitura manual das lâminas das pacientes estudadas e biópsias. Departamento de Patologia do Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012. 71

Tabela 19 - Diagnóstico citológico dos patologistas na leitura automatizada das lâminas das pacientes estudadas e biópsias. Departamento de Patologia do Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012. 72

Tabela 20 - Diagnóstico citológico dos patologistas na leitura manual das lâminas das pacientes estudadas e biópsias. Departamento de Patologia do Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012. 73

Lista de Abreviaturas

AGC:	Células Glandulares Atípicas de Significado Indeterminado
ASC-H:	Células escamosas atípicas de significado indeterminado, quando não se pode excluir lesão intraepitelial de alto grau
ASC-US:	Células escamosas atípicas de significado indeterminado, possivelmente não neoplásicas
AUC:	Area sobre a Curva
BD:	<i>Becton, Dickson and company</i>
BPM:	Batidas por Minuto
CA:	Carcinoma
CAF	Cirurgia de Alta Frequência
CBL:	Citologia em Base Líquida
CEC:	Carcinoma de células escamosas
CIS:	Carcinoma in situ
CPU:	<i>Central Processing Unit</i> (central de processamento de dados)
DNA:	Ácido desoxirribonucleico
FDA:	<i>Food and Drug Administration</i>
FOV:	<i>Fields of View</i> (campos de visão)
FP:	BD FocalPoint™ Slide Profiler
FPGS:	BD FocalPoint™ GS Imaging System
GS:	BD FocalPoint™ GS Review Station
HCB:	Hospital de Câncer de Barretos
HPV:	<i>Human Papillomavirus</i> (Vírus do Papiloma Humano)
HSIL:	Lesão intraepitelial de alto grau
INCA:	Instituto Nacional de Câncer
JEC:	Junção escamo colunar
KA:	Atipia coilocitótica
LAAC:	Leitura automatizada e assistida por computador
LM:	Leitura manual
LSIL:	Lesão intraepitelial de baixo grau
mm:	milímetro
NIC:	Neoplasia intraepitelial cervical
nm:	nanômetro
OMS:	Organização Mundial da Saúde
SIS-ONCO:	Sistema de Gestão Oncológico
SUS:	Sistema Único de Saúde
TCLE:	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Resumo

Stein, MD. Desempenho diagnóstico da citologia cervical preparada em base líquida, lida manualmente versus a lida de forma automatizada e assistida por computador [dissertação]. Barretos: Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Fundação PIO XII, Hospital de Câncer de Barretos; 2013.

Introdução: A prevenção do câncer de colo de útero, no Brasil, é realizada através do exame de Papanicolaou. A leitura manual (LM) da lâmina é um processo minucioso que leva à fadiga e aos erros de interpretação morfológica das células. Para diminuir estes erros surgiram os sistemas de leitura automatizada e assistida por computador (LAAC). Um dos mais utilizados mundialmente é o FocalPoint™ GS Imaging System. **Objetivos:** Análise da reprodutibilidade da LM e da LAAC pelo FocalPoint™ GS Imaging System; e avaliação da classificação em quintis feita pelo FocalPoint™ (FP) bem como a avaliação da acurácia da LM e LAAC. **Materiais e métodos:** comparação do desempenho diagnóstico da LM e LAAC realizada por citotécnicos e patologistas, de 10.165 citologias cervicais preparadas em base líquida Surepath™, no Hospital de Câncer de Barretos. **Resultados:** a reprodutibilidade entre os métodos de leitura foi substancial; 83% dos casos alterados foram classificados nos quintis 1 e 2 e não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre a acurácia da LM e LAAC usando como padrão ouro a biópsia de colo uterino NIC 2+. **Conclusões:** A LM das amostras analisadas mostrou altos índices de concordância com a LAAC; o FP foi eficiente para classificar em quintis 1 e 2, os de maior relevância, a maioria dos casos alterados (83% dos ASCUS+) e mesmo sem diferenças estatisticamente significativas entre a LM e LAAC em relação à biópsia NIC 2+, o uso do FPGS poderá ser de grande valia pelo potencial de diminuir os resultados falsos negativos e ser um útil instrumento de controle de qualidade interno.

Palavras-chave: citologia, automação, Surepath, diagnóstico assistido por computador, controle de qualidade, desempenho.

Abstract

Stein, MD. Performance and reproducibility of gynecologic cytology interpretation using Focalpoint GS Imaging System prepared by the method SurePath™ liquid based. Barretos: Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Fundação PIO XII, Hospital de Câncer de Barretos; 2013.

Background: The prevention of cervical cancer in Brazil is accomplished through the Pap smear. The manual screening of Pap slides held by cytotechnologist is a monotonous activity, leading to fatigue, that can induce to the morphological changes misinterpretation and false negative results. Currently, automation screening is supposed to ensure to the cytological examination with smaller probabilities of error than manual screening. Nowadays, the automation screening most used in the world is FocalPoint™ GS Imaging System. **Objectives:** This study assessed the reproducibility of manual and automated screening, evaluating the FocalPoint slide classification by quintiles and the accuracy of manual and automated screening biopsy-proven. **Methods:** we have compared the performance and reproducibility of cytotechnologists and pathologists in manual and automated screening using FocalPoint system in 10.165 consecutive cervical liquid-based Surepath cytologies examined at Barretos Cancer Hospital. **Results:** manual and automated screening had high reproducibility, 83% of ASCUS+ was classified as quintiles 1 and 2 and no statistical differences were found between manual and automated screening, using cervical biopsies NIC 2+ as a gold standard. **Conclusions:** FocalPoint screening was proved to safely screening high grade lesions, which can be valuable for high workload routines and internal quality control program.

Keywords: Cervical cytology, automation, Surepath, computer assisted diagnosis , quality control, performance.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Aspectos Epidemiológicos do Câncer de Colo Uterino

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que há uma população de 69,05 milhões de mulheres com mais de 15 anos de idade com risco de desenvolver câncer do colo uterino no Brasil. Anualmente, de cada 19.603 mulheres brasileiras (22/100.000 mulheres) diagnosticadas com câncer do colo do útero, 8.286 morrem da doença^{1, 2}. O câncer do colo do útero, atualmente, representa o segundo câncer mais frequente em mulheres de todas as idades no Brasil². As estimativas disponíveis são controversas, segundo o INCA são diagnosticados 18.430 novos casos por ano e 4.800 mortes. Em 2010 foram oficialmente registradas 4.986 mortes no Brasil com uma estimativa de 17.450 novos casos para o ano de 2012. A estimativa de incidência para 2012 varia de acordo com os estados do país, oscilando desde 10,85 até 35,13 casos para cada 100.000 mulheres, onde os centros mais desenvolvidos apresentam as menores taxas, e os mais carentes as piores³.

Estima-se que 14,1% das mulheres brasileiras (na faixa etária menor que 25 anos até mais de 55 anos) com citologia normal apresentam infecção pelo Vírus do Papiloma Humano (HPV) que é reconhecidamente o agente etiológico necessário para o desenvolvimento do carcinoma cervical, sendo que 69,4% dos carcinomas cervicais invasivos no Brasil são atribuídos aos HPVs do tipo 16 ou 18^{1, 4, 5}.

1.2 Vírus do Papiloma Humano (VPH ou HPV do inglês human papiloma virus)

O Vírus do Papiloma Humano (HPV) é da família Papillomaviridae, possui DNA circular em dupla fita, é um vírus não envelopado, com formato icosaédrico e mede 55 nm. Existem mais de 100 tipos de HPV que são divididos em alto e baixo risco⁶. Os HPVs de alto risco são

atualmente conhecidos como oncogênicos e os de baixo risco como não oncogênicos. O HPV é um vírus epitélio-trófico, que causa verrugas na pele e/ou condiloma nas mucosas⁷.

1.3 Carcinogênese induzida pelo HPV

A infecção genital pelo HPV é uma das doenças sexualmente transmissíveis mais comuns em todo o mundo. Como mencionado anteriormente, para ocorrer o aparecimento dos carcinomas cervicais é necessário a infecção persistente por algum dos tipos de HPVs oncogênicos. A maioria dos tipos de HPVs oncogênicos são filogeneticamente relacionados ao HPV-16 (31, 33, 35, 52 e 58) ou HPV-18 (39, 45, 59 e 68)⁸.

As manifestações clínicas da infecção pelo HPV incluem verrugas genitais, neoplasia intraepitelial cervical (NIC) e carcinoma cervical invasivo, que causam significativa morbidade e, no caso do câncer de colo uterino, mortalidade⁹.

O desenvolvimento do câncer cervical envolve eventos complexos, como persistência viral e progressão da lesão que pode evoluir desde a infecção epitelial cervical para lesões pré-neoplásicas até neoplásicas propriamente ditas, que culminam com a proliferação de células transformadas capazes de provocar a ruptura da membrana basal epitelial por clones celulares de fenótipo invasor¹⁰.

A maioria das mulheres infectadas pelo HPV “eliminam” o vírus em no máximo dois anos após a infecção. Embora a maioria das infecções pelo HPV se resolva espontaneamente, as infecções persistentes com conhecidos tipos de HPV de alto risco são um importante fator de risco para o câncer de colo uterino¹¹. Após a entrada do HPV através de minúsculas fissuras da pele ou mucosa, ele vai para a camada basal do epitélio, infecta as células e inicia sua proliferação. O HPV inicia a expressão de suas proteínas iniciais (“early”)¹² onde o acontecimento mais importante na carcinogênese induzida pelo HPV acaba sendo a interferência de dois desses oncogenes, o E6 e E7, que alteram o funcionamento das células hospedeiras responsáveis pelo controle do ciclo celular¹³. O genoma viral é replicado e sua estrutura proteica é formada; assim, os vírus saem pela camada superficial do epitélio e infectam as regiões periféricas¹². Embora a prevalência de HPV de alto risco esteja fortemente associada ao câncer do colo de útero, há muitos dados contraditórios a respeito

da importância de um determinado tipo de HPV num contexto epidemiológico devido à falta de informações estatísticas¹⁴. Acredita-se, porém, que 40% das infecções provocadas pelo HPV são infecções mistas; por este motivo, a identificação precisa dos genótipos HPV de alto risco em infecções mistas parece ser crucial para a definição da mulher com risco para o desenvolvimento do câncer cervical¹⁵.

Apesar de muitos esforços para prevenir os carcinomas induzidos pelo HPV, esta doença ainda é considerada um importante problema de saúde e é uma das principais neoplasias malignas em algumas áreas do mundo¹⁶. Mesmo com uma acentuada redução na incidência e mortalidade do carcinoma de colo do útero em alguns países desenvolvidos que têm programas bem estabelecidos de rastreamento citológico, 47% das mulheres no Reino Unido que desenvolveram câncer cervical invasivo estágio B1 ou pior, antes dos 70 anos de idade, tinham história de triagem citológica prévia adequada^{17,18}.

O estudo sobre a biologia do HPV e a indução do câncer de colo do útero é vital para a compreensão dos numerosos eventos que se inter-relacionam durante a gênese das neoplasias anogenitais¹⁹ e o reconhecimento de que a infecção pelo HPV é uma causa necessária para a ocorrência de câncer de colo do útero, abriu novas frentes para a prevenção desta doença.

1.4 Prevenção do carcinoma cervical

A prevenção primária é agora possível com a imunização por vacinas contra o HPV; além disso, a prevenção secundária ganhou impulso com o advento dos testes moleculares de alta sensibilidade para identificação do HPV o que veio melhorar os efeitos dos tradicionais programas baseados em testes de Papanicolaou²⁰. Embora a vacinação global de adolescentes e mulheres jovens seja um procedimento aparentemente vantajoso, os custos para saúde pública e as estratégias para alcançar esse objetivo ainda representam importante dificuldade a ser superada²⁰.

A relação custo-efetividade dos programas de prevenção para a redução significativa nas taxas mortalidade e incidência de carcinoma cervical deve envolver rastreamento e

vacinação em abordagens integradas e organizadas, a fim de que se tire proveito das vantagens da combinação entre o teste molecular do HPV como teste primário de rastreamento, seguido de triagem com citologia^{20, 21}.

No Brasil, a prevenção é realizada em todo o país através do exame de Papanicolaou seguindo uma rotina de rastreamento citológico estabelecida pelo Ministério da Saúde, em 1988^{22, 23}.

1.5 Algoritmo do tratamento das lesões cervicais

As lesões cervicais provocadas pelo HPV são divididas em lesões pré-malignas ou malignas. Segundo o INCA a conduta clínico-terapêutica é específica para cada tipo de lesão²².

1.5.1 Células escamosas atípicas de significado indeterminado, possivelmente não neoplásicas (ASC-US)

Com o diagnóstico de ASC-US, é recomendado repetir o exame citológico em seis meses; após dois exames negativos, a mulher retorna à rotina normal. Se o exame for sugestivo de uma lesão igual ou mais grave, encaminha-se a paciente para exame colposcópico. Se houver alteração é realizada biópsia e um seguimento específico é indicado para a lesão encontrada. Novamente, se não houver lesão, repete-se a citologia em seis meses, e retorna à rotina normal após dois exames negativos²².

1.5.2 Células escamosas atípicas de significado indeterminado, quando não se pode excluir lesão intraepitelial de alto grau (ASC-H)

Após um laudo de ASC-H, a paciente é encaminhada para colposcopia; se tiver lesão faz-se biópsia e um determinado seguimento é proposto dependendo da lesão encontrada. Se não houver, considera-se a possibilidade de revisão de lâmina. Caso haja alteração de laudo, modifica-se também a conduta de tratamento. Se esta revisão, por algum motivo, não for possível de ser realizada, é indicada a repetição da colposcopia e da citologia em seis meses, além de uma conduta específica para o novo laudo²².

1.5.3 Células glandulares atípicas de significado indeterminado (AGC), tanto para as possivelmente não neoplásicas quanto para aquelas em que não se pode afastar lesão intraepitelial de alto grau

A conduta para as mulheres com o laudo de células glandulares atípicas é fazer colposcopia. Se houver lesão, faz-se biópsia e seguimento específico; caso não haja lesão e/ou se a biópsia for negativa, faz-se coleta do canal endocervical com escova apropriada. Se o resultado desta segunda coleta for negativo, ou ainda, de atipias em células escamosas, faz-se o seguimento específico. Caso seja comprovada a atipia em células glandulares, é indicada uma conização e investigação do endométrio²².

1.5.4 Lesão intraepitelial de baixo grau (LSIL)

Como LSIL tem grandes chances de redução espontânea é indicada a repetição da citologia em seis meses. Se o segundo exame for negativo, repete-se novamente a citologia e a mulher volta para a rotina de prevenção; se for positivo, encaminha-se para colposcopia. Sem lesão na colposcopia repete-se a citologia em seis meses e, após duas negativas

consecutivas, a mulher volta para a rotina. Caso haja alteração colposcópica, faz-se biópsia e seguimento específico para lesão encontrada²².

1.5.5 Lesão intraepitelial de alto grau (HSIL)

Com um laudo de HSIL a mulher é diretamente encaminhada para colposcopia. Se a colposcopia for satisfatória e com alteração, colhe-se uma biópsia e prescreve-se um seguimento específico; se houver uma lesão igual a da citologia, recomenda-se a retirada da zona de transformação do colo uterino por Cirurgia de Alta Frequência (CAF). Caso não haja lesão, preconiza-se uma revisão da lâmina. Se a colposcopia não mostrar totalmente a lesão é indicado colher uma biópsia e seguimento específico²².

1.5.6 Adenocarcinoma *in situ*/invasor

Para as pacientes com laudo de adenocarcinoma é recomendada a colposcopia. Se houver alteração faz-se uma biópsia; caso não haja alteração colposcópica, indica-se conização. Não se observando invasão no resultado da biópsia, a conização também é indicada²².

1.5.7 Carcinoma invasor de células escamosas

Encaminhar direto para colposcopia. Para os resultados com lesão faz-se biópsia; se não houver alteração colposcópica, indica-se fazer conização e seguimento específico. Com o resultado da biópsia positivo para carcinoma invasor de células escamosas, faz-se conduta específica²².

1.5.8 Alterações celulares pelo tratamento por radioterapia

As pacientes com carcinoma de células escamosas de colo uterino podem ser submetidas a radioterapia. A radiação utilizada induz a modificações na estrutura celular (surgimento de mitoses atípicas e queratinização das células escamosas) que podem gerar formas celulares bizarras que persistem por vários anos^{24,25}. O exame citológico após a radioterapia continua sendo indicado para o rastreamento de recidivas de células tumorais²⁵.

1.6 Rastreamento de lesões do colo uterino

1.6.1 História do Papanicolaou

O teste de Papanicolaou foi desenvolvido pelo Dr. Georgios Nicholas Papanikolaou (ou George Papanicolaou), médico formado pela Universidade de Atenas. Em 1920, em Nova Iorque, EUA, Papanicolaou colheu vários esfregaços de inúmeras mulheres para entender as fases do ciclo menstrual e atividade hormonal. Contudo, fazendo estudos de fisiologia, ele encontrou células de aspecto bizarro, que conferiu ao teste o potencial de reconhecer células malignas de utilidade em rastreamento do câncer cervical. Publicou suas pesquisas em 1941 no *American Journal of Obstetrics and Gynecology*²⁶.

Papanicolaou em 1943 classificou as alterações citopatológicas em cinco classes que retratavam a progressiva gravidade das alterações celulares (Classe I- Ausência de células atípicas ou anormais, Classe II- Citologia atípica sem evidência de malignidade, Classe III- Citologia sugestiva de malignidade, Classe IV- Citologia muito suspeita de malignidade e Classe V- Citologia conclusiva de malignidade). Em 1952 a Organização Mundial de Saúde propôs uma classificação histológica que, mais tarde, foi refeita por Richart que refez essa classificação baseando-se na história natural da carcinogênese cervical²⁷. E, finalmente, em Bethesda 2001, essa classificação evoluiu para a combinação da morfologia e o comportamento biológico das lesões intraepiteliais²⁸, no Brasil, a “Nomenclatura brasileira

para laudos cervicais e condutas preconizadas” ficou disponível em 2006²². A figura 1 mostra a comparação dessas classificações.

Papanicolaou 1941	Richart 1968	Bethesda 2001	Nomenclatura Brasileira 2006
Classe I	Normal	Negativo para lesões intraepiteliais ou malignidade	Alterações celulares benignas
Classe II	Atipias	ASCUS, ASC-H	ASCUS, ASC-H, Atipias de origem indefinida
Classe III	NIC I	LSIL	LSIL
	NIC II	HSIL	HSIL
	NIC III		
Classe IV	Carcinoma <i>in situ</i>		HSIL, não podendo excluir microinvasão
Classe V	Carcinoma escamoso invasor	Carcinoma de células escamosas	Carcinoma epidermóide invasor
	Adenocarcinoma	Adenocarcinoma <i>in situ</i> , Adenocarcinoma invasor	Adenocarcinoma <i>in situ</i> , Adenocarcinoma invasor

Legenda: NIC-Neoplasia intraepitelial cervical, ASC-US-Atipias de significado indeterminado em células escamosas, possivelmente não neoplásicas, ASC-H-Atipias de significado indeterminado em células escamosas, não podendo afastar lesão de alto grau, HSIL-Lesão intraepitelial de alto grau, LSIL-Lesão intraepitelial de baixo grau.

Figura 1- Classificação das alterações citológicas ao longo dos anos.

Historicamente, o rastreamento do câncer cervical foi altamente beneficiado com o advento do teste de Papanicolaou que, mesmo com suas limitações, foi responsável por uma drástica redução da incidência e, posteriormente da mortalidade pelo câncer cervical a partir da década de 50²⁹.

1.6.2 Citologia Convencional

A coleta do preparado convencional atualmente é realizada utilizando-se uma espátula e uma escova, que representam duas coletas independentes. O material é colocado numa lâmina e fixado imediatamente com o fixador que contém álcool e polietilenoglicol. No

passado utilizava-se um *swab* de algodão que foi descontinuado devido ao reconhecimento de que as fibras do algodão mantinham as células epiteliais aderidas, comprometendo a qualidade da representação citológica nos esfregaços²⁴.

No laboratório, as lâminas convencionais são coradas pelo técnico de laboratório. A leitura das lâminas é realizada por um citotécnico, profissional responsável por analisar as células normais presentes na lâmina e identificar a presença de células alteradas. Os casos selecionados pelo citotécnico são avaliados por um citotécnico sênior e/ou por um Patologista, que se responsabiliza pela emissão do laudo.

1.6.3 Citologia em base líquida (CBL)

Novas tecnologias para o preparo de amostras de citologia cervical estão disponíveis. A citologia em base líquida foi criada para diminuir a sobreposição de células e facilitar a detecção de anormalidades na leitura automatizada. A CBL foi tão bem aceita que hoje é largamente utilizada, em vários países, mesmo sem o sistema de leitura automatizada²⁴. Os métodos de CBL mais utilizados no Brasil são: SurePath™ e Thinprep™.

A citologia de base líquida Thinprep™ (Cytoc Corporation, Boxborough, MA, USA) foi aprovada pelo Food and Drug Administration (FDA), agência reguladora de produtos farmacêuticos, alimentícios e laboratoriais norte-americanos, em 1996 seguida pela aprovação do sistema AutoCyte Prep (hoje SurePath™) (TriPath Imaging, Burlington, NC, USA) em 1999²⁴.

No método Thinprep™ a coleta pode ser feita apenas por escova ou com espátula de plástico e escova. Através da agitação da escova no líquido feito a base de metanol, as células se desprendem, são transferidas para o frasco de coleta e transportadas ao laboratório. O instrumento Thinprep™ 2000 prepara a lâmina circunscrevendo as células em uma área de 20 mm como produto final. O FDA aprovou o Sistema Thinprep™ 3000 no ano 2000, um equipamento que utiliza os mesmos filtros e soluções do Thinprep™ 2000 e faz uma maior quantidade de lâminas³⁰.

O método SurePath™ pode utilizar apenas uma coleta realizada com escova que abrange as áreas endo e ectocervicais simultaneamente ou duas coletas com escova e

espátula dependendo da necessidade da paciente. Ao contrário do método anterior, a cabeça da escova é destacada dentro do frasco com líquido fixador feito com base de etanol, e transportada ao laboratório. Isso garante que 100% das células coletadas serão enviadas, o que evita perdas indesejáveis de material. Todo material do frasco vai ser processado nos equipamentos Prepmate™ e Prepstain™ que culminam em um preparado de células de 13 mm de diâmetro na lâmina³¹.

1.7 Vantagens e limitações da citologia

1.7.1 Vantagens e limitações da citologia convencional

O teste de Papanicolaou convencional foi essencial para a redução da taxa de mortalidade por carcinoma de colo uterino nos Estados Unidos, mesmo com as altas taxas de resultados falsos negativos. Estes resultados ocorrem devido a uma série de variáveis que vão desde a coleta até a leitura da lâmina³¹. A limitação da citologia convencional começa na coleta do material cervical e na utilização do fixador na lâmina para a conservação das células coletadas; esta fase de fixação deve ocorrer assim que o esfregaço é realizado. Erros na coleta e passagem das amostras para a lâmina, bem como defeitos de fixação comprometem a resolução do preparado e o desempenho do citotécnico. Não é por acaso que o teste de Papanicolaou convencional apresenta altas taxas de resultados falsos negativos. A média da sensibilidade da citologia para detectar lesão de alto grau (neoplasia intraepitelial grau 2 ou mais) ou câncer de colo de útero invasivo tem sido de 53%, com uma grande heterogeneidade na sensibilidade, que varia de 30% a 75% em diferentes estudos ao redor do mundo¹⁷. A notoriedade do teste de Papanicolaou advém, em grande parte, da especificidade média normalmente superior a 95% e também ao baixo custo para realização do exame²⁰.

1.7.2 Vantagens e limitações da citologia em base líquida

Com o advento da citologia de base líquida o problema da falta de eficiência no processamento de amostras celulares tão comuns em preparados convencionais, diminuiu. Uma das notórias vantagens da CBL é a diminuição dos casos insatisfatórios. Um estudo realizado entre o método convencional e os métodos em base líquida SurePath™ e Thinprep™ pelo Programa de Comparação Interlaboratorial de Citologia Ginecológica da Faculdade Americana de Patologistas em 2007, com questionários enviados a 1621 laboratórios, mostrou que a taxa de insatisfatórios é em média 1,1%. A CBL tem a taxa mais baixa de insatisfatórios por poucas células escamosas com o método SurePath™, seguida do método Thinprep™; a taxa mais alta ficou com o método convencional³².

A CBL permite uma melhor visualização da membrana nuclear e da cromatina, facilitando a detecção de alterações nas células³¹.

A metanálise de Arbyn *et al*³³ aponta para um melhor desempenho da CBL para detectar lesão intraepitelial de baixo grau (LSIL) e diminuição de casos insatisfatórios, mas não tem aumento para detecção de lesões intraepiteliais de alto grau (HSIL). Vale observar, entretanto, que as metanálises disponíveis têm reiteradamente avaliado séries estudadas em países ou centros desenvolvidos, o que implica áreas de baixa prevalência de HSIL. Portanto, não é surpresa que tais performances sejam semelhantes para as duas metodologias³³. Já em países subdesenvolvidos e em desenvolvimento, como o Brasil, o estudo realizado com 1.095 pacientes utilizando-se o sistema DNA Citoliq (Digene, Brasil; hoje, descontinuado) mostrou um aumento na detecção de lesões LSIL+ e HSIL+³⁴. E, em estudo realizado no Hospital de Câncer de Barretos também houve um aumento significativo da detecção de HSIL+³⁵. Na Holanda, a citologia de base líquida diminuiu as amostras insatisfatórias e também aumentou a sensibilidade para a detecção de anormalidades³⁶.

Amostras de pacientes que passaram por tratamento de radioterapia, também têm sido regularmente representadas em citologia de base líquida. O índice de amostras satisfatórias tem sido similar aos de amostras não irradiadas (cerca de 97% em um estudo norte-americano), com alterações benignas pós-irradiação em torno de 50%³⁷.

As limitações da CBL relacionam-se ao custo (geralmente maior que o do método convencional), ao tempo de preparo da lâmina (maior do que no convencional) e ao treino

de citotécnicos não habituados a uma técnica que promove uma significativa “limpeza” do fundo do preparado citológico³¹.

1.7.3 Dificuldades da análise citológica

O teste citológico tem limitações muito bem documentadas. Embora hajam critérios rigorosos para identificar e classificar as alterações morfológicas, a interpretação tem um considerável grau de subjetividade, além disso, as amostras do colo uterino devem ser colhidas com a devida atenção à amostragem de células da zona de transformação e a natureza altamente monótona do trabalho de triagem leva a fadiga o que, invariavelmente, provoca erros de interpretação²⁰.

1.7.3.1 Interpretação das alterações morfológicas

O processo manual de leitura de lâminas depende principalmente do profissional citotécnico que realiza esta função. Em alguns casos pode ocorrer uma falha do citotécnico na interpretação das alterações: laudos falsos negativos são liberados e resultam em pacientes com câncer cervical invasivo e sem tratamento adequado. Como, por exemplo, neste estudo no Reino Unido, no qual esfregaços de material cervical de 76 pacientes com câncer cervical invasivo foram reavaliados. De um total de 209 esfregaços reavaliados, 48% foram liberados corretamente, 46,4% cuja primeira leitura foram classificados como normal ou insatisfatório, numa segunda leitura foram encontradas numerosas células alteradas: um total de 50 pacientes tiveram laudos falsos negativos³⁸.

A taxa de prevalência das lesões cervicais também é uma limitação do método de rastreamento manual, pois quanto menor a prevalência maior será o índice de falsos negativos, como foi demonstrado no estudo realizado em Boston, MA e no País de Gales, RU com lâminas em base líquida SurePath™. Neste estudo foi observado que quando a lesão é rara, maior é a chance de um falso negativo do que quando a lesão é mais comum. O desempenho de dois grupos de citotécnicos foi comparado em condições de baixa e alta

prevalência, e a porcentagem de falsos negativos foi maior no grupo de baixa prevalência, em ambos os grupos³⁹.

1.7.3.2 Coleta das amostras cervicais

Uma limitação importante do teste citológico de Papanicolaou é a coleta do material cervical. Esta etapa depende primeiramente da habilidade do profissional em coletar as células; o material deve conter células da junção escamo-colunar (JEC)⁴⁰. As células da JEC são importantes pois é nesta área que se inicia a maioria das lesões do colo uterino⁴¹.

Na coleta convencional grande parte das células coletadas não são transferidas para a lâmina pois se aderem a espátula de coleta. Já na coleta em base líquida Surepath™ todas as células são transferidas para o frasco com o líquido fixador, conforme descrito anteriormente.

1.7.3.3 Fadiga do citotécnico

O citotécnico realiza a leitura manual de lâminas que é uma atividade minuciosa, monótona, que leva a fadiga e a erros de interpretação das alterações morfológicas das células.

Os citotécnicos apresentam diferenças na produtividade, tempo de leitura da lâmina e acurácia. A acurácia pode variar de acordo com os dias da semana e até com o período do dia (manhã ou tarde)⁴².

A leitura de lâminas é uma atividade que exige extrema concentração; depende tanto do estado físico quanto emocional do profissional que, mesmo usando um sistema automatizado de leitura primária ThinPrep™ Imaging System, pode ser influenciado por uma série de variáveis que comprometerão seu desempenho. No intrigante estudo de Elsheikh et al⁴² os profissionais apresentaram maior detecção de anormalidades nas terças, quartas e quintas-feiras pela manhã, supondo-se que segundas e sextas feiras, e o período da tarde possam de alguma forma desviar a atenção mesmo de citotécnicos experientes.

A sensibilidade para detecção de alterações pode estar relacionada à carga de trabalho diária do profissional. Numa rotina de leitura manual de aproximadamente 30 lâminas por dia a sensibilidade é 100%, mas se a quantidade aumentar para 70 lâminas por dia a sensibilidade pode diminuir para 80%⁴³. Comparando vários laboratórios a sensibilidade também pode diminuir quando são analisadas lâminas de regiões com baixa frequência de lesões. Se a região tem baixa frequência de lesões o profissional pode ter um pior desempenho diagnóstico⁴³.

Em alguns países a carga de trabalho diária do citotécnico com citologia ginecológica não é definida, assim como no Brasil. Mas nos Estados Unidos e Canadá a carga de trabalho diária é controlada; o laboratório estipula uma carga para cada citotécnico dependendo das funções que ele realiza dentro do laboratório⁴⁴. Nos Estados Unidos é permitida a leitura de até 100 lâminas por dia, e no Canadá um máximo de 80 lâminas por 8 horas de trabalho.

Em um estudo realizado no Canadá com a carga de trabalho específica para cada profissional, os citotécnicos foram avaliados durante três meses, e conclui-se que a sensibilidade de um citotécnico com baixa carga de trabalho não é estatisticamente diferente da sensibilidade daquele com maior carga de trabalho diária⁴⁴.

1.7.4 Citologia Automatizada e Assistida por Computador

As novas tecnologias atualmente disponíveis para melhorar a precisão dos exames citológicos visam não apenas agilizar a avaliação das lâminas mas também tirar proveito de relações morfológicas analisadas de forma mais objetiva. Parte dessas melhorias veio com a automação do preparo e leitura das amostras citológicas. O preparo mantém um padrão de qualidade substancialmente elevado; enquanto a leitura assistida por computador melhora um processo que, como foi mencionado anteriormente, é repleto de dificuldades cognitivas.

O desenvolvimento dos sistemas de rastreamento citológico assistidos por computador começou na década de 1950. O primeiro sistema desenvolvido com potencial para ser introduzido no mercado foi o Cytoanalyzer, Airborne Instruments Inc., USA, que teve seu projeto descontinuado por falta de bom desempenho nos testes pré-clínicos. A maior dificuldade estava na leitura de esfregaços convencionais, repleto de imperfeições e

sobreposições celulares. As pesquisas continuaram na Europa e Japão. Na década de 1990, contudo, os europeus perderam interesse, mas pesquisadores dos Estados Unidos e Canadá conseguiram a aprovação pelo FDA do AutoPap System (hoje FocalPoint™) (TriPath Imaging, Burlington, NC) em 1998²⁴.

O sistema mais utilizado mundialmente tem sido o BD FocalPoint™ GS Imaging System (FPGS) composto pelo FocalPoint™ Slide Profiler (FP) e pelo FocalPoint™ GS Review Station (GS) que pode avaliar tanto os preparados em base líquida quanto os convencionais⁴⁵. A utilização desses aparelhos de rastreamento primário serve como um importante instrumento de controle interno de qualidade, assegurando rotinas com menores margens de erros.

Tem sido demonstrado que o FPGS identifica mais casos anormais que a leitura manual e classifica as alterações com maior especificidade⁴⁶; classifica as alterações citológicas em cinco quintis de acordo com a probabilidade de anormalidade, sendo que os quintis 1 e 2 albergam as alterações provavelmente mais graves, o quintil 3 tem um grau de incerteza médio, e nos quintis 4 e 5 estariam os casos provavelmente menos graves de uma população normal⁴⁷.

Mesmo em cenários de baixa prevalência, a análise automatizada parece conferir um acréscimo de sensibilidade aos preparados em CBL superiores aos preparados convencionais. A citologia em base líquida SurePath™ mostrou ser mais sensível para detecção de importantes lesões cérvico vaginais^{47, 48}.

Além disso, o FPGS também pode ser utilizado como recurso metodológico para controle da qualidade interno de exames citológicos⁴⁹. Para rastreio, há dados ainda controversos que precisam ser mais bem avaliados, por exemplo, o estudo MAVARIC avaliou mais de 70.000 citologias em base líquida e concluiu que a automação foi 8% menos sensível para lesão de alto grau e 0,6% mais específica do que a leitura manual⁵⁰. Paradoxalmente, os autores afirmaram que o sistema não perdeu nenhum caso positivo no percentil No Further Review, que dispensa revisão dos casos aí classificados.

Por outro lado, outro estudo de desenho randômico publicado na Finlândia com 503.000 casos, que utilizou o Sistema Papnet (atualmente descontinuado), constatou que não há diferença entre a automação e o manual, ressaltando, ao contrário do primeiro estudo, que havia uma baixa quantidade de câncer cervical no país (no caso a Finlândia) o que, de alguma forma, poderia influenciar no resultado⁵¹.

O método Thinprep™ Imaging System também tem sido eficiente para detectar células atípicas glandulares, como mostrou um estudo com 124 casos, no qual a análise manual realizada por dois citotécnicos experientes e outra assistida por computador mostrou que de 70 casos com atipias de células glandulares detectados pelos dois citotécnicos, o Thinprep™ Imaging System detectou 68⁵².

Espera-se que esse estudo gere dados que possam ser traduzidos em melhoria do desempenho do teste de Papanicolaou devido aos motivos relatados abaixo:

1) Devido a numerosos vieses na interpretação citológica causados por dificuldades de coleta, fixação e preparo das amostras de colo uterino do método convencional de Papanicolaou; e,

2) considerando que o rastreamento manual é uma atividade monótona que gera extrema fadiga ao citotécnico; e,

3) considerando-se ainda que o teste de Papanicolaou em base líquida lido pelo computador e assistido pelo homem é potencialmente útil, reprodutivo, com alta sensibilidade e especificidade para identificar lesões graves e classificar com segurança casos sem lesões; e,

4) que a automação pode melhorar a detecção de anormalidades nas regiões brasileiras mais carentes de bons profissionais.

2 JUSTIFICATIVA

Como os erros de escrutínio citológico ocorrem em grande parte por deficiências do citotécnico que comete erros de avaliação, sub-valorizando alterações celulares encontradas nos preparados citológicos do teste de Papanicolaou; e, como a carga de trabalho está diretamente relacionada a esses erros (quanto mais lâminas lidas maior a chance de erro); e como em programas de rastreio de países como o Brasil, cuja população feminina é enorme, os recursos humanos para trabalhar nessa área são escassos, mal preparados e mal remunerados; e, como faltam dados brasileiros na literatura sobre a utilização da automação na rotina citológica.

O presente estudo é pertinente para responder questões relacionadas a esses tópicos mencionados acima e oferecer opções metodológicas que sirvam tanto para agilizar de forma segura o rastreio de câncer cervical, como atuar como meio de garantia interna de qualidade do diagnóstico citológico.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Comparar o desempenho diagnóstico das avaliações citológica por leitura manual (LM) versus a automatizada e assistida por computador (LAAC), usando lâminas de coletas cervicais preparadas em sistema SurePath™ de base líquida e lidas pelo aparelho BD FocalPoint™ GS Imaging System.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Análise da reprodutibilidade do diagnóstico primário LM e do LAAC pelo FocalPoint™ GS Imaging System.
2. Avaliação da acuidade da distribuição das amostras em quintis feita pelo FP de acordo com sua probabilidade em apresentar alterações.
3. Avaliação da acurácia da LM e LAAC.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Tipo de Estudo

Estudo transversal para análise de dois instrumentos, seguindo o fluxograma abaixo:

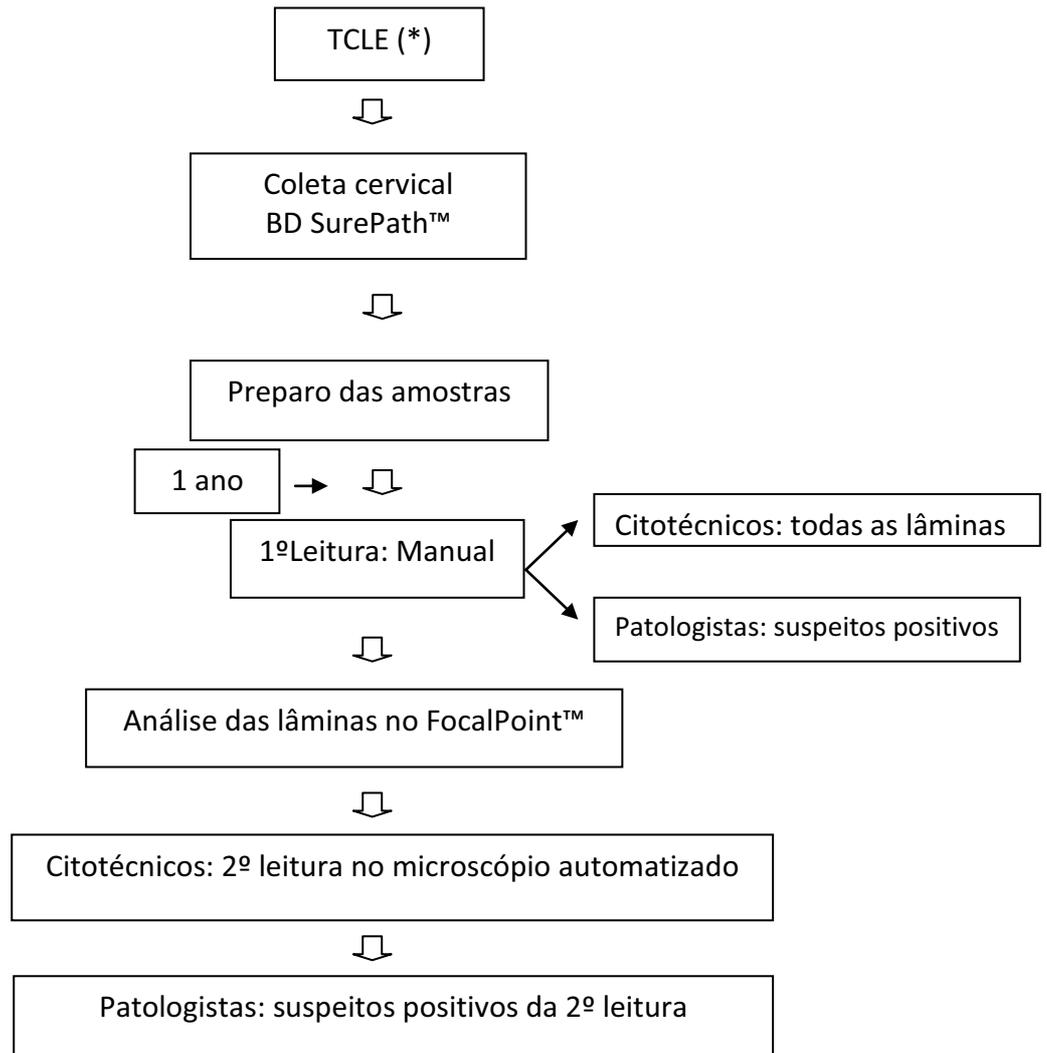


Figura 2- Fluxograma do estudo

(*) Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

4.2 Casuística

Os exames coletados foram provenientes de mulheres encaminhadas ao ambulatório do Hospital de Câncer de Barretos, de mulheres examinadas nas carretas da Prevenção do Hospital de Câncer de Barretos e de mulheres que passaram por consultas ginecológicas nos municípios que enviaram seus exames ao setor de Patologia do Hospital de Câncer de Barretos, no período de maio de 2010 a agosto de 2011. A idade média das mulheres foi de 45 anos (D.P. = 13,9) variando de 13 a 96 anos.

Foram analisados, retrospectivamente, dez mil cento e sessenta e cinco casos de citologia cervical preparadas pelo método em base líquida SurePath™ (TriPath Imaging, Burlington, NC, USA).

4.3 Ética

Esse trabalho é parte do projeto: “Prevenção de Câncer Anogenital: Para Novos Desafios, Novas Soluções”, aprovado pelo CEP-Barretos com o nº244/2009.

As mulheres que participaram deste estudo foram previamente informadas dos objetivos e as possíveis aplicações futuras dos resultados obtidos pelo projeto. Todas assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, e tiveram suas identidades preservadas em sigilo.

4.4 Declaração de conflito de interesse

A BD Brasil financiou 10.165 kits de coleta em base líquida SurePath™, os instrumentos de preparo e coloração das lâminas PrepMate™ e PrepStain™, o instrumento para leitura automatizada FocalPoint™ Slide Profiler e os sistemas microscópicos automatizados da GS.

O desenho do estudo, a leitura das lâminas pelos citotécnicos e patologistas e as análises estatísticas foram realizados pelos profissionais do Hospital de Câncer de Barretos de forma independente.

4.5 Coleta de amostras citológicas

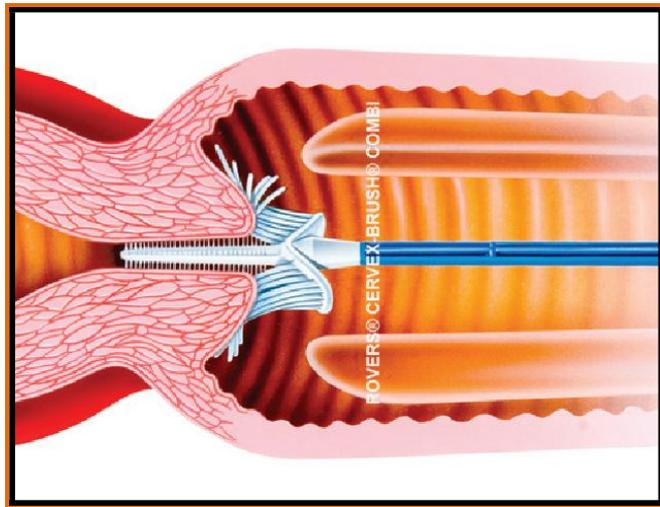
As informações das pacientes foram retiradas da Requisição de Exame Citopatológico do Colo de Útero (“Formulário Rosa”) do SUS (Sistema Único de Saúde): nome, data de nascimento, cidade e estado de origem, endereço, data da última menstruação, data do último exame preventivo de Papanicolaou, uso de anticoncepcional, uso de hormônios contraceptivos, radioterapia, data da coleta do exame.

Após o consentimento da paciente, foi colhida uma amostra para o exame citológico em base líquida SurePath™, com o uso de escova tipo Rover's Cervex-Brush (Figura 3 e Figura 4). Toda a cabeça da escova foi destacada e inserida no frasco contendo líquido SurePath™ conforme indicação do fabricante (Figura 5), e enviada ao laboratório para preparação de lâminas usando os equipamentos PrepMate™ e PrepStain™.



Fonte: Manual do operador — Sistema BD FocalPoint™⁵³

Figura 3 - Espátula de Ayre, escova endocervical, escova Rover's Cervex-Brush™ e frasco de coleta SurePath™.



Fonte: Manual do operador — Sistema BD FocalPoint™⁵³
Figura 4 - Procedimento de coleta



Fonte: Manual do operador — Sistema BD FocalPoint™⁵³
Figura 5 - A cabeça da escova é destacada

4.6 Preparo das lâminas

Todos os frascos de coleta SurePath™ e os pedidos de exames que chegaram ao laboratório foram rotineiramente conferidos. Exames com não-conformidade não foram processados e foram devolvidos à origem.

Foram utilizadas quatro etiquetas com a numeração igual de código de barras, mas com os dígitos finais diferentes para cada caso: final 0 foi colocado no pedido de exame, final 1 no frasco de coleta, final 2 no tubo de centrifugação e final 3 na lâmina. O modelo do código de barras foi indicado pelo fabricante do sistema e utilizado para garantir o reconhecimento de cada exame pelo FocalPoint™.

O passo inicial ocorreu com a colocação dos frascos no Vortex Multi Vial™ onde eles foram agitados por 15 segundos na velocidade 3.000 RPM (Figura 6). Este procedimento garante que todas as células se desprendam da escova e fiquem no meio líquido.



Fonte: Manual do operador — Sistema BD FocalPoint™⁵³
Figura 6 - Vortex Multi Vial™

4.6.1 PrepMate™

A seguir, os frascos de coleta foram alocados no PrepMate™, aparelho que transfere parte do meio líquido contendo as células para o tubo de centrifugação. Seringas especiais pipetaram automaticamente o volume necessário para o processamento das amostras (Figura 7). Na rack, os tubos de centrifugação, com 4 ml do reagente de densidade, ficaram inclinados de tal forma que as seringas dispensaram o material citológico na parede dos tubos.



Fonte: Manual do operador — Sistema BD FocalPoint™⁵³

Figura 7 - PrepMate™ com as bandejas contendo por seringas, tubos de centrifugação e frascos de coleta

Com as racks montadas o processo foi iniciado. A porção afilada da seringa perfurou o frasco de coleta e aspirou parte da amostra (8 ml), homogeneizou por oito vezes e transferiu para o tubo de centrifugação. O tubo passou por duas etapas na Centrífuga Rotina 460S Hettich™: na primeira etapa por dois minutos a 200 G onde a amostra passou pelo gradiente de densidade separando as células de interesse diagnóstico dos possíveis interferentes como sangue e muco. O sobrenadante foi aspirado com o Easy Aspirator PrepStain™. Na segunda etapa de centrifugação realizada por dez minutos a 800 G, um *pellet* de células foi formado.

Inverteu-se o tubo de centrifugação para dispensar o sobrenadante restante e utilizou-se o concentrado de células para a próxima etapa.

4.6.2 PrepStain™

Os tubos de centrifugação com o *pellet* de células formado foram agitados no Vortex™ para desprender o *pellet* do fundo do tubo, e colocados no PrepStain™, aparelho que faz o preparo e a coloração das lâminas (Figura 8).



Fonte: Manual do operador — Sistema BD FocalPoint™⁵³

Figura 8- PrepStain™ com tubos de centrifugação, lâminas e a bateria de coloração ao lado.

O PrepStain™ foi montado com os tubos de centrifugação nas bandejas e lâminas identificadas com código de barras na sua extremidade fosca e do mesmo lado da lamínula, nos locais predeterminados, de tal forma que não ocorressem trocas. A bateria de coloração fechada em frascos foi conectada ao PrepStain™ por tubulações. Essa bateria é composta por álcool BD Blend Rinse™, corante Orange/Eosina, corante Hematoxilina e solução tampão Tris pH 8,0.

Para início do preparo e coloração das lâminas foi acionada a opção *Slide Preparation and Staining* no computador, registrou-se o nome do operador e a quantidade de amostras presentes. O braço do PrepStain™ fez automaticamente as pipetagens necessárias para o

4.7 Avaliação das lâminas

Um grupo de seis citotécnicos, sendo três homens e três mulheres com idades entre 30 e 40 anos e com experiência em citologia de 2 a 12 anos (média de 6,8 anos) realizaram tanto a primeira quanto a segunda leitura das lâminas. Para tanto, foi realizado treinamento prévio para familiarização da leitura em base líquida SurePath™ no microscópio automatizado. O treinamento, que é composto por aulas teóricas e práticas sobre a citologia em base líquida SurePath™, foi ministrado por profissionais qualificados BD. Envolveu a avaliação citológica dos preparados Surepath™ e treinamento sobre o funcionamento dos aparelhos de preparo e coloração, Prepmate™ e Prepstain™, funcionamento do FocalPoint™ e dos microscópios automatizados GSs. Após estas aulas os citotécnicos passaram por duas avaliações de leitura de lâminas nas GSs e receberam um certificado de proficiência.

As lâminas foram avaliadas numa rotina de 90 lâminas diárias por 7 horas de trabalho. A avaliação foi realizada durante a rotina diária do Departamento de Patologia do Hospital de Câncer de Barretos, na qual os citotécnicos lêem as lâminas e separam os casos suspeitos positivos (ASCUS+) e insatisfatórios para uma segunda leitura cujo laudo final é emitido por um patologista.

4.7.1 Avaliação manual das lâminas

Primeiramente, o grupo de citotécnicos avaliou as 10.165 lâminas dos preparados em base líquida SurePath™ em microscópio de luz, de maneira tradicional. O microscópio utilizado foi o Nikon Eclipse E200 com objetivas panorâmica (4X), nos aumentos de 10X e 40X.

A leitura foi realizada durante a rotina normal na qual o citotécnico tem acesso à ficha do SUS (“Formulário Rosa”) com informações da paciente: idade, data da última menstruação, data do último exame de Papanicolaou e radioterapia. Os laudos dos exames das mulheres provenientes do Ambulatório do Hospital de Câncer de Barretos foram arquivados no SIS-ONCO (Sistema de Gestão Oncológico) e o restante dos laudos foram digitalizados e armazenados.

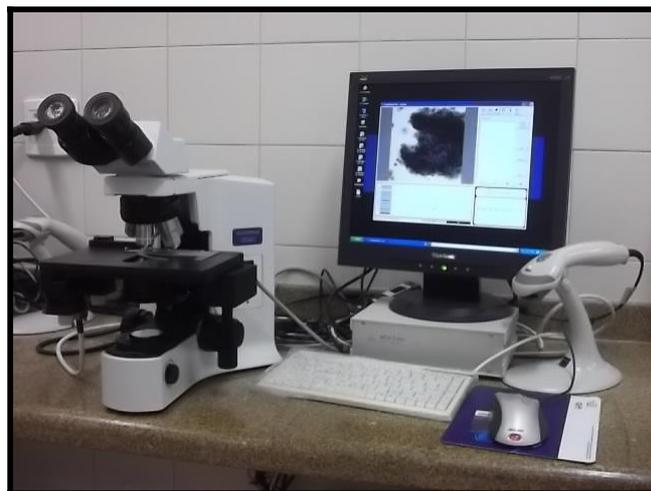
4.7.2 Avaliação automatizada e assistida pelo BD FocalPoint™ GS Imaging System

As figuras abaixo mostram o BD FocalPoint™ GS Imaging System composto pelo BD FocalPoint™ Slide Profiler (FP) (Figura 11) e pelo BD FocalPoint™ GS Review Station (GS) (Figura 12).



Fonte: Manual do operador — Sistema BD FocalPoint™⁵³

Figura 11 - BD FocalPoint™ Slide Profiler (FP)



Fonte: Hospital de Câncer de Barretos

Figura 12 - BD FocalPoint™ GS Review Station (GS)

4.7.2.1 Análise das lâminas pelo FP

O FP é composto por um instrumento principal com as objetivas microscópicas, um sistema de captura de imagens e uma estação de trabalho anexa que processa os dados. O instrumento avalia as lâminas e analisa os aspectos morfológicos distribuindo os casos em quintis que representam a probabilidade das possíveis alterações citológicas de cada preparado. A estação de trabalho que é composta por computador e monitor executa as informações processadas pelo software de análise de imagem.

O citotécnico colocou as lâminas devidamente identificadas com código de barras na bandeja, com a extremidade da etiqueta de código de barras alocada embaixo das pinças de metal. Cada bandeja tem capacidade para oito lâminas. Para evitar marcas de digitais nas lâminas estas foram manuseadas pelas extremidades e posicionadas ao nível da bandeja com cautela. Cada uma foi limpa com um pincel para retirar as minúsculas lascas de vidro que eventualmente se desprenderam das lâminas.

O conjunto de bandejas de lâminas foi colocado pela porta de entrada no lado direito do FP. As bandejas possuem apenas uma posição de encaixe e um total de até trinta podem ser colocadas com segurança. Se um conjunto tiver mais de trinta para serem analisadas, as excedentes poderão ser acrescentadas gradativamente à medida que o FP terminar a leitura completa de uma bandeja. A cada conjunto de lâminas analisado pelo FP, ele realiza a classificação em quintis a partir da somatória de alterações das lâminas. Por isso, quanto maior o conjunto de lâminas pré determinadas para a leitura a cada ciclo melhor será a classificação em quintis.

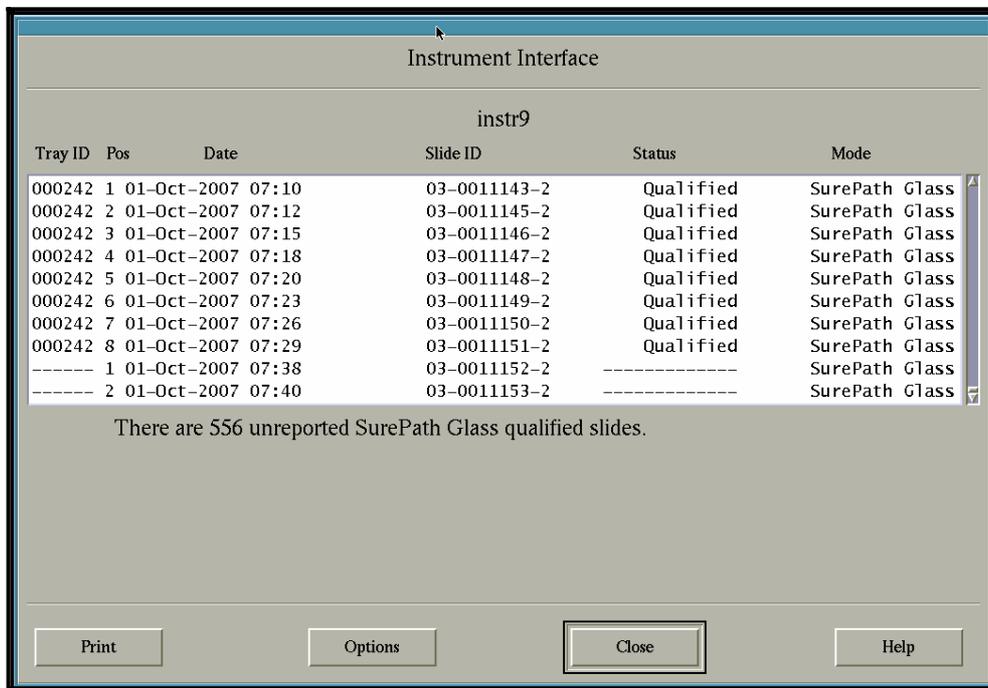
Após as bandejas com lâminas serem colocadas no FP, a porta foi fechada. Um dispositivo eletrônico iniciou as calibrações automaticamente, verificando cada lâmina na bandeja quanto à sua integridade física e reconhecendo o código de barra. O FP efetua a leitura da lâmina na objetiva 4X e analisa os campos prioritários na objetiva 20X.

Ao término da leitura, a bandeja foi ejetada no local de saída. Entre o término de uma bandeja e o início de outra o instrumento realiza uma avaliação completa de integridade do sistema para garantir que todos os mecanismos (fonte de luz, câmeras, partes mecânicas, foco e computadores) estejam funcionando dentro dos limites operacionais especificados.

Ao se levantar a porta de saída no lado esquerdo do FP, o instrumento interrompeu automaticamente a leitura para a segurança do processamento. Com essa porta levantada, as bandejas foram retiradas.

4.7.2.2 Janela de interface do FP

Durante todo o processo de leitura de lâminas o FP foi monitorado através de uma janela de interface na tela do computador (Figura 13). No item Relatório abre-se uma janela com informações sobre o processamento e a quantidade de lâminas deste conjunto. As informações sobre o processamento da lâmina são: número do código de barras da bandeja (Tray ID), posição da lâmina na bandeja (Pos), data e hora do processamento (Date), número do código de barras da lâmina (Slide ID) e status da lâmina. O status pode ser: qualificado (Qualified), foco inadequado (Poor Focus), proceder à análise (Process Review), reexecutar (Rerun), posição vazia (Empty) ou, por alguma razão, o FP não leu o código de barras (-----).



The screenshot shows a window titled "Instrument Interface" with a sub-header "instr9". It contains a table with the following data:

Tray ID	Pos	Date	Slide ID	Status	Mode
000242	1	01-Oct-2007 07:10	03-0011143-2	Qualified	SurePath Glass
000242	2	01-Oct-2007 07:12	03-0011145-2	Qualified	SurePath Glass
000242	3	01-Oct-2007 07:15	03-0011146-2	Qualified	SurePath Glass
000242	4	01-Oct-2007 07:18	03-0011147-2	Qualified	SurePath Glass
000242	5	01-Oct-2007 07:20	03-0011148-2	Qualified	SurePath Glass
000242	6	01-Oct-2007 07:23	03-0011149-2	Qualified	SurePath Glass
000242	7	01-Oct-2007 07:26	03-0011150-2	Qualified	SurePath Glass
000242	8	01-Oct-2007 07:29	03-0011151-2	Qualified	SurePath Glass
-----	1	01-Oct-2007 07:38	03-0011152-2	-----	SurePath Glass
-----	2	01-Oct-2007 07:40	03-0011153-2	-----	SurePath Glass

Below the table, it states: "There are 556 unreported SurePath Glass qualified slides."

At the bottom of the window, there are four buttons: "Print", "Options", "Close", and "Help".

Fonte: Manual do operador — Sistema BD FocalPoint™⁵³

Figura 13- Exemplo de informação na janela de interface do FP.

4.7.2.3 Classificação em quintis pelo FP

Após a leitura de um conjunto de lâminas e no momento da impressão de relatórios, o FP analisa todas as imagens presentes no seu servidor referente ao último conjunto de lâminas, fazendo a classificação das lâminas em quintis de acordo com a probabilidade de apresentarem alterações celulares.

As lâminas que passam pelo FP são classificadas em Review (lâminas qualificadas para leitura), Process Review (lâminas que o FP não interpretou por algum motivo e o citotécnico deve analisar a lâmina inteira) e Rerun (repassar no FP). Das lâminas qualificadas para leitura, o FP faz a classificação em quintis, dividindo em cada um dos cinco quintis aproximadamente 20% dessas lâminas.

Esta classificação é feita de acordo com a probabilidade de anormalidade de cada lâmina. São cinco quintis, sendo que o quintil 1 é o de maior probabilidade de anormalidade e o 5 é o de menor probabilidade. Na figura 14 está um exemplo da classificação das lâminas em quintis, a maioria dos casos com anormalidade (bolinhas vermelhas) estão nos quintis 1 e 2.

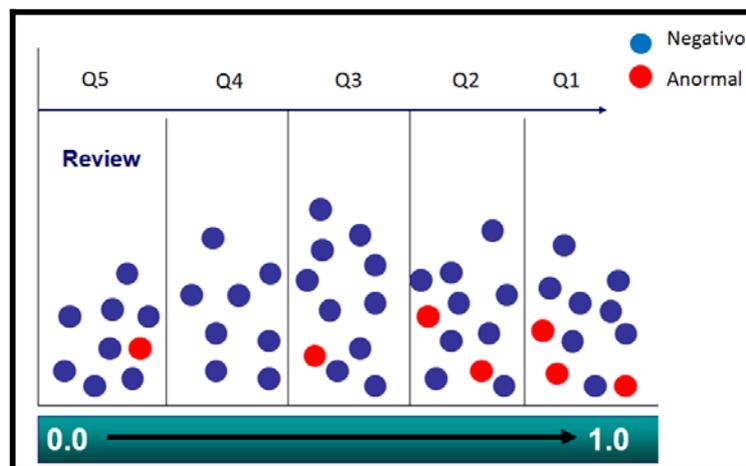


Figura 14 - Exemplo da classificação das lâminas em quintis. Notar que os casos representados por bolinhas azuis estão dentro dos parâmetros de normalidade e que os vermelhos representam os casos alterados.

4.7.2.4 Impressão de relatórios

Após o término do processamento foi impresso um relatório sobre o conjunto de lâminas; esses resultados foram arquivados no banco de dados do FP. No relatório (Figura 15) há informações sobre o status do processamento, tipo de lâmina, quantidade, data e hora do início e final do processo completo de leitura da lâmina.

```

Print Summary Statistics

TriPath Imaging, Inc. - FocalPoint System
Instrument Serial Number: 0067
Print Summary Statistics
Print Date: 03-Aug-2007 11:20
Original Print Set Date: 05-Jan-2007 06:31
Operating Mode: SurePath Glass (Guided Screener)
Processing Mode: Standard Process Mode
Report Title: Slide Results Report(Sorted by Date)
-----
Print Set Requested : 2
(Date range found: 11-23-2006 09:44 to 01-04-2007 16:27)

Empty Positions: 4
All Slides: 116
Rerun: 0 ( 0.0 % of All Slides)
Process Review: 18 ( 15.5 % of All Slides)
Qualified Slides: 98 ( 84.5 % of All Slides)
  No Further Review: 0 ( 0.0 % of Qualified)
  Review: 98 (100.0 % of Qualified)
  Scant Cellularity: 13
-----
END OF REPORT

```

Fonte: Manual do operador — Sistema BD FocalPoint™⁵³

Figura 15 - Exemplo do resumo do relatório do conjunto de lâminas.

4.7.2.5 Backup de dados

Todos os dias os dados de processamento das lâminas que estão armazenados no disco rígido do FP são copiados para um dispositivo de armazenamento portátil. Como dispositivo portátil foram utilizadas duas fitas magnéticas em dias alternados da semana: às segundas, quartas e sextas e às terças, quintas e sábados. Ao término do backup diário, o FP exibe uma mensagem informando o sucesso da operação (Figura 16).



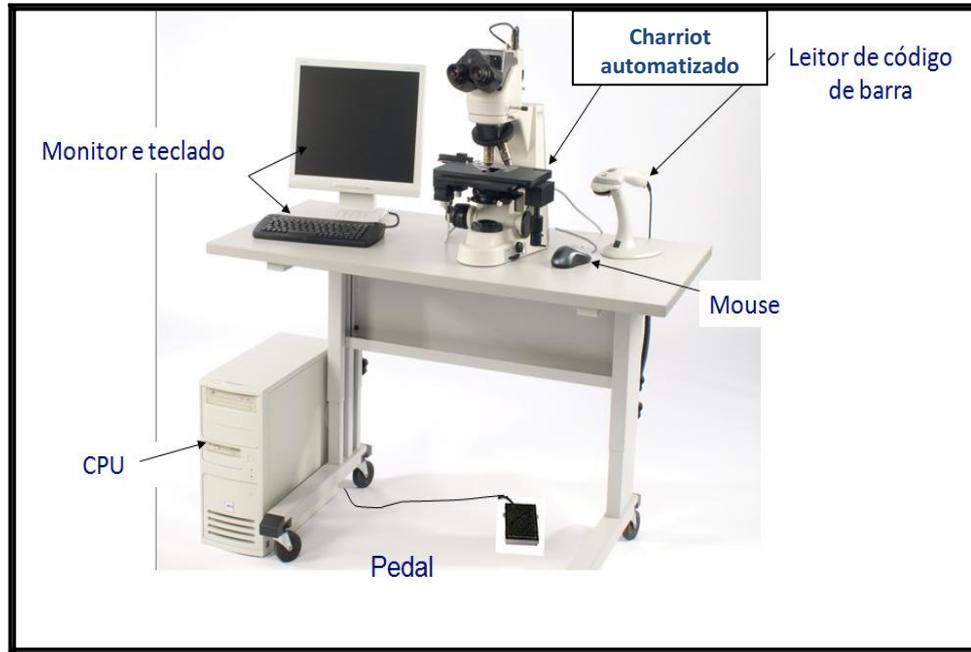
Fonte: Manual do operador — Sistema BD FocalPoint™⁵³

Figura 16 - Mensagem do backup de dados.

4.7.3 Avaliação citológica na GS

Após aproximadamente um ano da leitura manual, o mesmo grupo de citotécnicos realizou a LAAC no microscópio automatizado GS. Este microscópio automatizado é composto por monitor, teclado e mouse, CPU, pedal (opcional), objetiva panorâmica, 10X, 20X, 40X, platina de microscópio mecânica e leitor de código de barras (Figura 17).

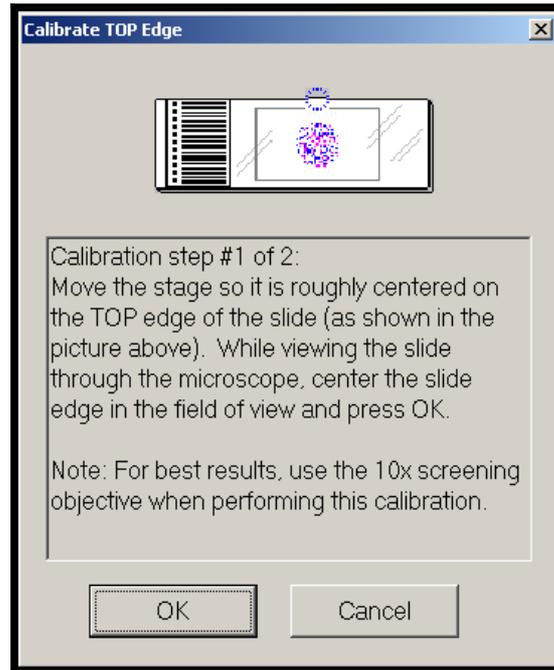
O citotécnico não tinha acesso ao laudo anterior da lâmina bem como das informações básicas da paciente, como idade, data da última menstruação e se a paciente fez tratamento por radioterapia.



Fonte: Manual do operador — Sistema BD FocalPoint™⁵³

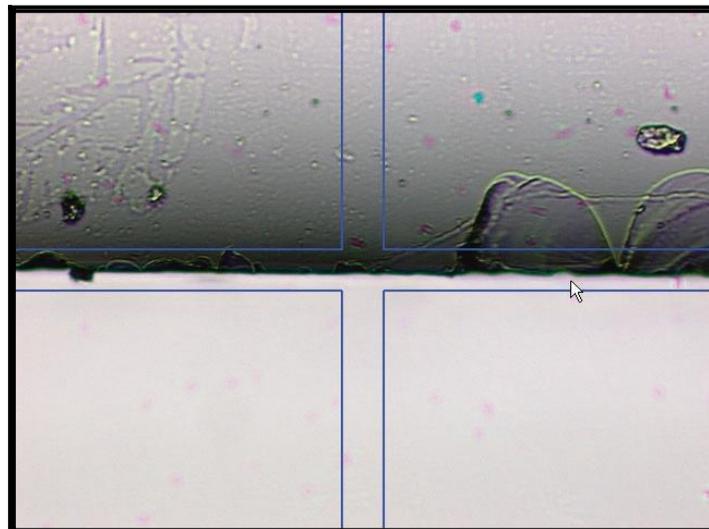
Figura 17 - Componentes do BD FocalPoint™ GS Review Station

A LAAC das lâminas em base líquida SurePath™ começou com a seleção do item FocalPoint™ GS Review na área de trabalho do computador. O citotécnico fez a calibração da platina do microscópio usando uma lâmina da rotina e objetiva de 10X. A calibração define as coordenadas X e Y da platina e determina o ponto de referência para o instrumento mostrar as alterações celulares selecionadas. Uma vez posicionada a lâmina com o código de barras no lado esquerdo da platina, a caixa de diálogo *Calibrate top edge* (Figura 18) é aberta, colocando-se a extremidade superior da lâmina visível no centro do campo de visão (Figura 19) e repetindo-se o procedimento com a extremidade direita, sempre da lâmina e não da lamínula.



Fonte: Manual do operador — Sistema BD FocalPoint™53

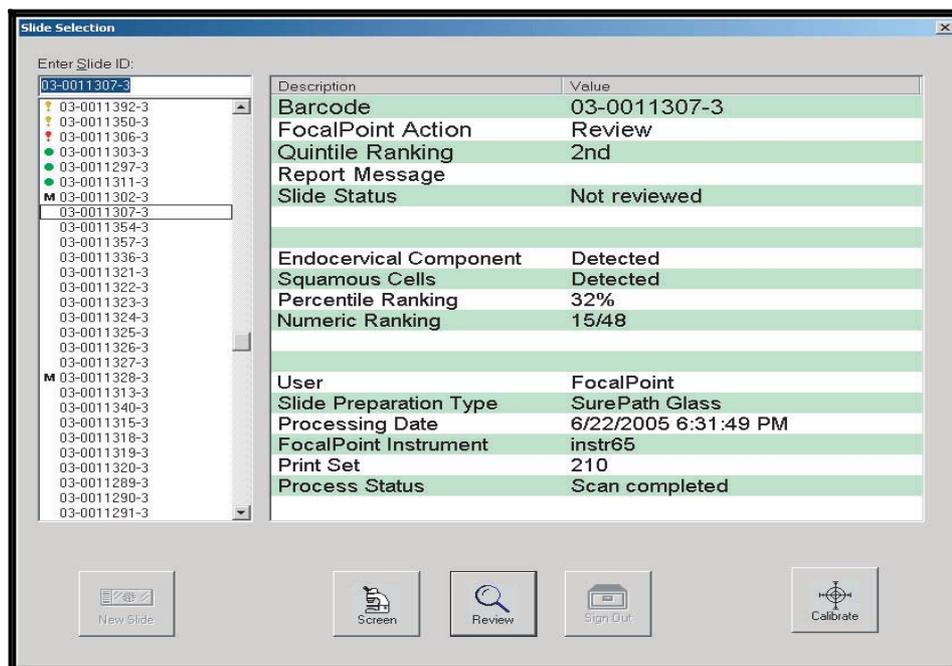
Figura 18 - Exemplo de mensagem observada para calibração da platina da GS.



Fonte: Manual do operador — Sistema BD FocalPoint™53

Figura 19 - Aspecto microscópico da borda superior da lâmina.

Para o início da LAAC, o citotécnico passou a lâmina no leitor de código de barras. O computador da GS reconheceu o caso e forneceu as informações e imagens da lâmina selecionada. As informações foram exibidas na janela de seleção de lâminas conforme o exemplo na figura 20.



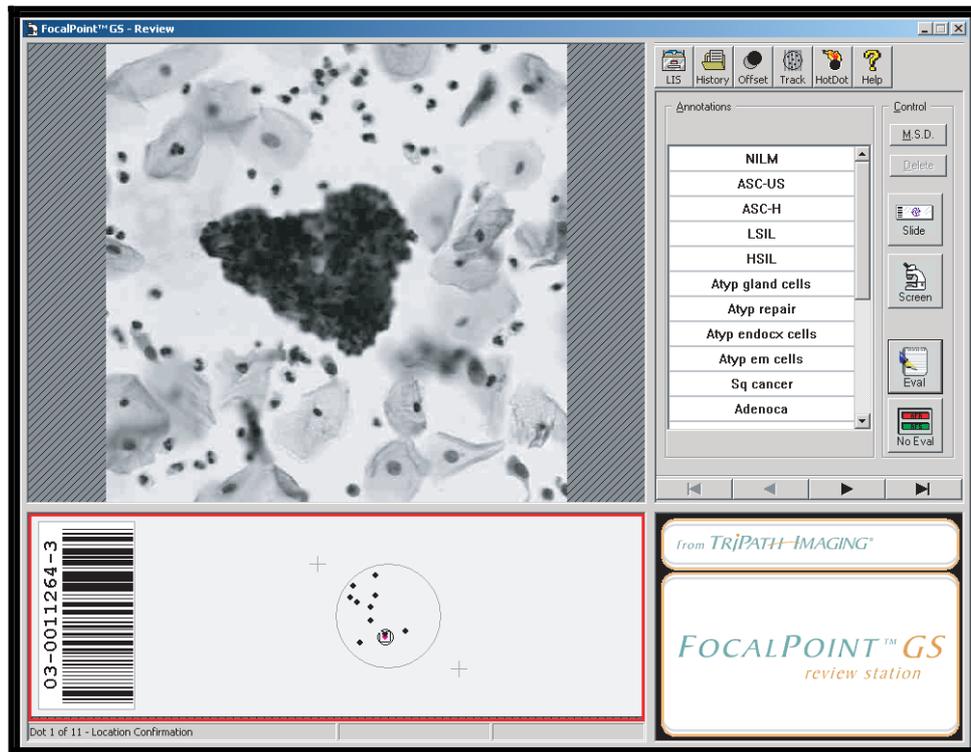
Fonte: Manual do operador — Sistema BD FocalPoint™⁵³

Figura 20 - Exemplo de um caso analisado na GS, visto de uma janela de seleção de lâminas

As informações da lâmina como classificação em quintil, presença ou ausência de células escamosas e células endocervicais ou metaplásicas, classificação no ranking e o código de barras foram conferidas pelo citotécnico.

A janela de seleção com o ícone Review ativado demonstra que o FP fez uma leitura qualificada da lâmina e gravou as imagens no servidor. Nos casos em que o ícone Review não está ativado, a janela apresenta informações Process Review (analisar a lâmina inteira), Rerun (repassar a lâmina no FP para tentar uma análise) ou Slide edge not found (o FP não localizou a borda da lâmina e, portanto, deve-se repassa-lá).

Após verificar as informações da lâmina o citotécnico acionou o Review para fazer a leitura da mesma. A tela principal foi exibida (Figura 21) com a área da imagem dos campos de visão (FOVs), onde apareceu primeiramente o campo de referência e depois os outros campos selecionados. Nesta tela também aparece o formato original, o código de barras e o mapeamento da lâmina mostrando em que local se está da leitura.

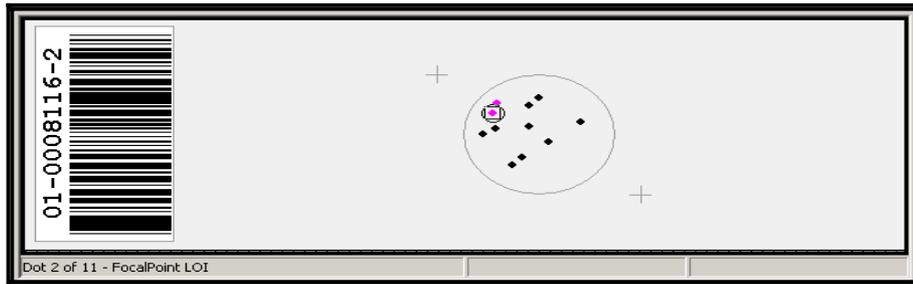


Fonte: Manual do operador — Sistema BD FocalPoint™⁵³

Figura 21 - Tela do BD FocalPoint™ GS Review com o campo de referência selecionado.

Utilizando-se um pedal ou mesmo o mouse, o citotécnico pode iniciar a navegação pelos FOVs da lâmina. O primeiro FOV apresentado é o campo de referência, importante para se garantir uma calibração correta da GS. O citotécnico conferiu a imagem na tela do computador com a visualizada no campo do microscópio, com a objetiva de 10x. Com o reconhecimento da imagem igual foi iniciada a leitura dos FOVs restantes. Se a imagem for diferente, compete ao citotécnico examinar ao redor do campo, manualmente, até encontrar o campo indicado no monitor, clicando na opção *Offset* para ajustar os campos nos locais corretos. Uma recalibração também foi indicada para esses casos.

Conforme o citotécnico passou para o seguinte FOV, o ponto preto mudou para rosa, indicando que este já foi observado (Figura 22). A leitura foi feita com a objetiva de 10x para se observar o campo todo e, como opcional, pode-se utilizar as objetivas de 20x e 40x.



Fonte: Manual do operador — Sistema BD FocalPoint™⁵³

Figura 22 - Exemplo dos campos da lâmina que o FP separou para leitura.

Os FOVs restantes, de 1 a 10, são apresentados para a avaliação de acordo com a ordem de classificação de probabilidade de anormalidade. Nos casos em que células alteradas com suspeita de anormalidade foram encontradas e, nos casos em que o FP indicou a presença do componente da JEC e as mesmas não foram vistas nos 10 FOVs selecionados pelo aparelho, as lâminas foram analisadas por completo acionando-se a opção Screen. A análise completa da lâmina foi realizada logo após os 10 FOVs e pelo mesmo citotécnico.

Após avaliação de todos os FOVs e/ou da lâmina completa, o citotécnico emitiu seu parecer diagnóstico. Clicando na opção NoEval, o sistema GS classificou esta lâmina como “lida” e foi liberada para o Arquivo da GS. O laudo de cada caso foi colocado na Base de Dados GS em programa Access-Windows, junto com o código de barras da lâmina, com as informações do nome do citotécnico responsável pelo laudo, presença dos epitélios cervicais e presença de anormalidade.

4.7.4 Revisão citológica pelos Patologistas

Os casos com alterações citológicas suspeitas dos braços manual e automatizado (ASCUS+) foram revistos por um grupo de seis patologistas, mantendo-se a proporcionalidade de casos para cada patologistas em ambos os braços.

Preferencialmente as leituras das lâminas dos braços manual e automatizado foram realizadas pelos mesmos patologistas; mas houve, entretanto, a substituição de três profissionais posto que eles não estavam presentes no momento da LAAC.

Os patologistas revisaram o braço manual no período de julho de 2010 a agosto de 2011, e o braço automatizado no mês de maio de 2012. As revisões foram feitas em microscópio de luz modelo Nikon Eclipse E200 com objetivas panorâmica, aumento de 10X e 40X, de maneira manual.

Como a leitura do citotécnico foi realizada no microscópio automatizado, confirmando que os casos positivos foram detectados pelo FP, os patologistas não tiveram necessidade de usar novamente o microscópio automatizado.

4.7.5 Casos discordantes

Os casos que foram considerados pelos citotécnicos como negativos na LM e alterados na LAAC ou alterados na LM e negativos na LAAC, foram denominados de casos discordantes. Os diagnósticos discordantes foram analisados por um patologista no microscópio automatizado GS para confirmar os campos que o FP separou em cada caso. Neste momento, o patologista reviu os 10 campos separados pelo FP e rastreou a lâmina toda apenas nos casos onde havia alguma célula com probabilidade de anormalidade e nos casos alterados que não foram selecionados pela FP.

4.7.6 Padrão ouro morfológico

O padrão ouro foi o da biópsia do colo uterino.

4.7.7 Análise de dados

As informações da LAAC foram armazenadas numa base de dados Access criada para esta finalidade e para análise estatística dos dados coletados. Uma base de dados Excel foi criada para introduzir todas as informações geradas a partir do estudo; esta base de dados compreendeu informações da paciente, resultados citológicos das LM e LAAC, além da biópsia (quando realizada). As informações da paciente e o resultado do braço manual foram importados diretamente do programa SIS-ONCO e o resultado do braço automatizado foi transportado da base Access. A base Excel completa foi transferida para o programa SPSS para Windows® v. 19.0 (Inc., Chicago, IL, USA) para análise estatística.

Um bioestatístico analisou os dados no programa SPSS para determinar a significância das diferenças nas taxas de detecção de anormalidades entre os dois sistemas de preparação das amostras e a revisão de lâminas. Todas as análises da reprodutibilidade utilizaram o Índice Kappa com intervalo de confiança de 95%. O Índice Kappa avalia a concordância entre dois observadores ou duas técnicas. É classificado de 0 a 1, onde 0 é uma concordância pobre, de 0 a 0,20 é ligeira, de 0,21 a 0,40 é considerável, 0,41 a 0,60 é moderada, 0,61 a 0,80 é substancial e de 0,81 a 1,00 é excelente⁵⁴.

Em todo o estudo foi considerado o nível de significância de 0,05.

Análises da sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e curva ROC foram realizadas nos casos das pacientes que foram submetidas à biópsia. A curva ROC é um método para se comparar testes diagnósticos: quanto maior o valor da área sob a curva, AUC (máximo de 1) melhor o desempenho diagnóstico.

5 RESULTADOS

5.1 Caracterização da amostra

As pacientes que realizaram os exames de Papanicolaou incluídos neste estudo responderam ao médico as questões do SUS (“Formulário Rosa”). As variáveis analisadas do questionário foram: se a paciente realizou exame preventivo prévio, data do último exame e se houve radioterapia (Tabela 1).

Tabela 1 - Número e porcentagem de exame preventivo e radioterapia em mulheres que realizaram o exame de Papanicolaou no Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.

Variável	Categoria	n	%
Já realizou exame Preventivo prévio	Não	394	3,9
	Não Sabe	673	6,6
	Sim	8759	86,2
	Sem informação	339	3,3
Fez Radioterapia	Não	8967	88,2
	Não Sabe	9	0,1
	Sim	378	3,7
	Sem informação	811	8,0
Ano do último Exame preventivo	Últimos 3 anos	5313	52,3
	Anos anteriores	3495	34,4
	Sem informação	1357	13,3
Total		10165	100

Foram analisadas 10.165 lâminas de material cervical preparadas em base líquida SurePath™. Na análise manual foi avaliada a presença ou ausência de células da junção escamo colunar (JEC) e se a lâmina era satisfatória para leitura conforme Tabela 2. Neste estudo consideramos como representatividade da JEC se houve a presença de células glandulares e/ou metaplásicas.

Tabela 2 – Qualidade das amostras analisadas no Departamento de Patologia do Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.

Variável	Categoria	n	%
Presença de JEC	Presente	6.353	62,5*
	Ausente	3.812	37,5
Adequabilidade da amostra	Satisfatória	10.149	99,8
	Insatisfatória	16	0,2
total		10165	100

JEC: Junção escamo colunar

* Leitura Manual

Todas as lâminas observadas manualmente no primeiro braço foram analisadas também na LAAC. Na Tabela 3 observa-se a classificação do comportamento do FP para a avaliação de cada lâmina.

Tabela 3 – Classificação das lâminas pela leitura do FocalPoint™, no Departamento de Patologia do Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.

Variável	Categoria	n	%
Avaliação do FP	Review (Qualificada)	9.847	96,9
	No Review	102	1,0
	Process Review	216	2,1
total		10165	100

FP: FocalPoint™

5.2 Análise da reprodutibilidade do diagnóstico primário manual e LAAC no FocalPoint™ GS Imaging System.

Foi avaliada a concordância dos citotécnicos e do processo na LM e LAAC (n=10165). O processo é a leitura dos citotécnicos e a revisão dos patologistas nos casos ASCUS+ e insatisfatórios. Na tabela 4 está a análise da reprodutibilidade do profissional nas duas técnicas de leitura.

Tabela 4 - Índice de Concordância entre os métodos de LM e LAAC, com e sem a revisão final do patologistas do exame citológico de mulheres que realizaram o exame de Papanicolaou no Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.

Leitura N= 10.165	Critério					
	< ASC-H vs ≥ ASC-H *		< LSIL vs ≥ LSIL**		< HSIL vs ≥ HSIL***	
	Kappa	IC 95%	Kappa	IC 95%	Kappa	IC 95%
Sem revisão do patologista	0,71	(0,68-0,75)	0,66	(0,61-0,71)	0,65	(0,58-0,72)
Com revisão do patologista	0,78	(0,74-0,81)	0,70	(0,65-0,74)	0,72	(0,66-0,77)

*< ASC-H = Negativo + ASCUS

**<LSIL = Negativo + ASCUS + ASC-H + AGC

***< HSIL = Negativo + ASCUS + ASCH + AGC + LSIL

≥ ASC-H = ASC-H + LSIL + HSIL + Adeno/CEC + AGC

≥ LSIL = LSIL + HSIL + Adeno/CEC

≥ HSIL = HSIL + Adeno/CEC

Do total de pacientes (n=10165) 8.967 não fizeram radioterapia. Na tabela 5 foi calculada a reprodutibilidade dos profissionais nas leituras destas lâminas.

Tabela 5 - Índice de Concordância entre os métodos de LM e LAAC, com e sem a revisão final do patologistas do exame citológico de mulheres SEM HISTÓRIA PRÉVIA DE RADIOTERAPIA que realizaram o exame de Papanicolaou no Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.

Leitura N= 8.967	Critério					
	< ASC-H vs ≥ ASC-H *		< LSIL vs ≥ LSIL**		< HSIL vs ≥ HSIL***	
	Kappa	IC 95%	Kappa	IC 95%	Kappa	IC 95%
Sem revisão do patologista	0,71	(0,67-0,75)	0,66	(0,61-0,71)	0,67	(0,60-0,74)
Com revisão do patologista	0,78	(0,74-0,81)	0,71	(0,66-0,75)	0,73	(0,67-0,79)

*< ASC-H = Negativo + ASCUS

**< LSIL = Negativo + ASCUS + ASC-H + AGC

***< HSIL = Negativo + ASCUS + ASCH + AGC + LSIL

≥ ASC-H = ASC-H + LSIL + HSIL + Adeno/CEC + AGC

≥ LSIL = LSIL + HSIL + Adeno/CEC

≥ HSIL = HSIL + Adeno/CEC

Das pacientes que fizeram radioterapia (n=378) também foi calculada a reprodutibilidade que está representada na tabela 6.

Tabela 6 - Índice de Concordância entre os métodos de LM e LAAC, com e sem a revisão final do patologistas do exame citológico de mulheres COM HISTÓRIA PRÉVIA DE RADIOTERAPIA que realizaram o exame de Papanicolaou no Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.

Leitura N= 378	Critério					
	< ASC-H vs ≥ ASC-H *		< LSIL vs ≥ LSIL**		< HSIL vs ≥ HSIL***	
	Kappa	IC 95%	Kappa	IC 95%	Kappa	IC 95%
Sem revisão do patologista	0,71	(0,60-0,82)	0,65	(0,51-0,80)	0,57	(0,38-0,77)
Com revisão do patologista	0,79	(0,70-0,88)	0,63	(0,48-0,77)	0,65	(0,47-0,82)

* < ASC-H = Negativo + ASCUS
 ** < LSIL = Negativo + ASCUS + ASC-H + AGC
 *** < HSIL = Negativo + ASCUS + ASCH + AGC + LSIL
 ≥ ASC-H = ASC-H + LSIL + HSIL + Adeno/CEC + AGC
 ≥ LSIL = LSIL + HSIL + Adeno/CEC
 ≥ HSIL = HSIL + Adeno/CEC

5.3 Comparação da classificação em quintis pelo FP versus o diagnóstico citológico obtido na leitura na GS.

A classificação em quintis dos casos lidos pelos citotécnicos na LAAC foi analisada e seus resultados estão relacionados na Tabela 7 e a leitura dos patologistas na Tabela 8.

Tabela 7 - Classificação em quintis feita pelo FP em relação ao Diagnóstico Citológico da leitura dos Citotécnicos. Departamento de Patologia do Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.

Quartil	Diagnóstico Citológico Automatizado										Total
	Negativo (%)	ASCUS (%)	ASC-H (%)	LSIL (%)	HSIL (%)	Adeno/CEC (%)	AGC (%)				
1	1516 (16,3)	59 (55,7)	74 (64,9)	115 (72,8)	101 (84,2)	0	6 (46,2)			1871 (19,0)	
2	1809 (19,4)	24 (22,6)	16 (14,0)	23 (14,6)	7 (5,8)	1 (33,3)	2 (15,4)			1882 (19,1)	
3	1891 (20,3)	9 (8,5)	10 (8,8)	11 (7,0)	3 (2,5)	0	1 (7,7)			1925 (19,6)	
4	1889 (20,2)	6 (5,7)	6 (5,3)	4 (2,5)	2 (1,7)	0	2 (15,4)			1909 (19,4)	
5	1814 (19,4)	1 (0,9)	5 (4,4)	2 (1,3)	0	0	0			1822 (18,5)	
99*	410 (4,4)	7 (6,6)	3 (2,6)	3 (1,9)	7 (5,8)	2 (66,7)	2 (15,4)			434 (4,4)	
Total	9329 (100)	106 (100)	114 (100)	158 (100)	120 (100)	3 (100)	13 (100)			9843 (100)	

* Lâminas que o FP classificou como Process Review e não separou imagens.

Tabela 8 - Classificação em quintis feita pelo FP em relação ao Diagnóstico Citológico da leitura dos Patologistas. Departamento de Patologia do Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.

Quartil	Diagnóstico Citológico Automatizado										Total
	Negativo	ASCUS(%)	ASC-H (%)	LSIL (%)	HSIL (%)	Adeno/CEC (%)	AGC (%)				
1	25 (29,8)	40 (54,1)	45 (57,0)	123 (69,9)	131 (86,2)	8 (40,0)	3 (37,5)			375 (63,2)	
2	23 (27,4)	19 (25,7)	14 (17,9)	27 (15,3)	7 (4,7)	3 (13,0)	2 (25,0)			95 (16,0)	
3	14 (16,7)	7 (9,5)	10 (12,8)	12 (6,8)	5 (3,3)	1 (4,3)	1 (12,5)			50 (8,4)	
4	10 (11,9)	5 (6,8)	4 (5,1)	6 (3,4)	3 (2,0)	0	2 (25,0)			30 (5,1)	
5	3 (3,6)	0	4 (5,1)	4 (2,3)	0	0	0			11(1,9)	
99*	9 (10,7)	3 (4,1)	2 (2,6)	4 (2,3)	6 (4,0)	8 (40,0)	0			32 (5,4)	
Total	84 (100)	74 (100)	79 (100)	176 (100)	152 (100)	20 (100)	8 (100)			593 (100)	

* Lâminas que o FP classificou como Process Review e não separou imagens.

5.4 Avaliação da sensibilidade e especificidade do rastreio manual e automatizado.

A sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e valor da curva ROC foram calculados dos casos que tinham uma biópsia de colo de útero avaliadas no Departamento de Patologia do HCB, e estão relacionadas nas tabelas 9 e 10. O cálculo foi para a leitura do citotécnico (sem revisão do patologista) e do processo (citotécnico e revisão do patologista).

Tabela 9 - Acurácia dos métodos LM e LAAC, com e sem revisão do patologista para o exame citológico. Critério citológico HSIL+e padrão ouro NIC2+.

Critério citológico: HSIL + Biópsia: NIC2 +		LM		LAAC	
		%	(IC95%)	%	(IC95%)
Sem revisão do patologista	N	N = 337		N = 337	
	Sensibilidade	52,8	(44,8 – 60,7)	45,3	(37,5 – 53,4)
	Especificidade	81,8	(75,3 – 87,2)	85,8	(79,8 – 90,6)
	Valor preditivo positivo	72,7	(63,6 – 80,5)	74,5	(64,7 – 82,8)
	Valor preditivo negativo	65,5	(58,8 – 71,7)	63,2	(56,2 – 69,3)
	AUC (Curva ROC) (*1)	0,67	(0,62 – 0,72)	0,66	(0,60 – 0,71)
Com revisão do patologista	N	N = 337		N = 334	
	Sensibilidade	59,6	(51,6 – 67,3)	60,4	(52,3 – 68,0)
	Especificidade	83,0	(76,6 – 88,2)	76,0	(69,0 – 82,1)
	Valor preditivo positivo	76,2	(67,8 – 83,3)	69,6	(61,2 – 77,1)
	Valor preditivo negativo	69,2	(62,5 – 75,4)	67,9	(60,8 – 74,3)
	AUC (Curva ROC) (*2)	0,71	(0,66 – 0,76)	0,68	(0,63 – 0,73)

HSIL+: LIEAG +, adenocarcinoma in situ, carcinoma invasor.

NIC2+: NIC2, NIC3, adenocarcinoma in situ, carcinoma invasor.

AUC: Área sob a curva

(*1) Comparação das AUCs entre as leituras manual e assistida, sem revisão final do patologista para a citologia: P = 0,469.

(*2) Comparação das AUCs entre as leituras manual e assistida, com revisão final do patologista para a citologia: P = 0,212.

Tabela 10 - Acurácia dos métodos LM e LAAC, com e sem revisão do patologista para o exame citológico. Critério citológico LSIL+ e padrão ouro NIC1+.

Critério citológico: LSIL + Biópsia: NIC1 +		LM		LAAC	
		%	(IC95%)	%	(IC95%)
Sem revisão do patologista	N	N = 337		N = 337	
	Sensibilidade	64,9	(58,1 – 71,4)	59,2	(52,3 – 65,9)
	Especificidade	72,2	(63,5 – 79,8)	61,1	(52,0 – 69,7)
	Valor preditivo positivo	79,7	(72,9 – 85,4)	71,8	(64,5 – 78,4)
	Valor preditivo negativo	55,2	(47,2 – 62,9)	47,2	(39,4 – 55,2)
	AUC (Curva Roc) (*1)	0,69	(0,63 – 0,74)	0,60	(0,55 – 0,65)
Com revisão do patologista	N	N = 337		N = 334	
	Sensibilidade	69,7	(63,0 – 75,8)	72,7	(66,2 – 78,6)
	Especificidade	73,8	(65,2 – 81,2)	51,2	(42,1 – 60,2)
	Valor preditivo positivo	81,7	(75,2 – 87,0)	71,4	(64,8 – 77,3)
	Valor preditivo negativo	59,2	(51,1 – 67,0)	52,9	(43,6 – 62,0)
	AUC (Curva Roc) (*2)	0,71	(0,67 – 0,77)	0,62	(0,56 – 0,67)

LSIL +: LIEBG, LIEAG, adenocarcinoma in situ, carcinoma invasor.
 NIC1 +: NIC1, NIC2, NIC3, adenocarcinoma in situ, carcinoma invasor.
 AUC: Área sob a curva

(*1) Comparação das AUCs entre as leituras manual e assistida, sem revisão final do patologista para a citologia: P = 0,007.

(*2) Comparação das AUCs entre as leituras manual e assistida, com revisão final do patologista para a citologia: P = 0,001.

6 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste estudo são originais e únicos no Brasil até o presente momento. Introduzimos o conceito de qualidade em citologia oncológica respaldado na análise de um método automatizado com vieses de interpretação reduzidos. O subjetivismo do rastreo manual realizado por citotécnicos foi analisado de forma crítica e bastante objetiva; e os resultados obtidos neste estudo servirão de base para uma mudança significativa do paradigma da prevenção de câncer de colo uterino onde a automação poderá servir concomitantemente de opção para um rastreo primário, e/ou como uma importante ferramenta de controle de qualidade interno de diagnóstico citológico. Nossos resultados mostram claramente que o método automatizado tem performance semelhante ao método manual executado por profissionais de alta competência para a vasta maioria dos casos de lesões graves; a avaliação automatizada em quintis determinou com segurança a classificação das lesões graves em quintis um e dois, que são os de maior risco de alterações de grande significado clínico. Em termos gerais, esses resultados qualificaram o sistema automatizado FPGS para introdução na rotina do laboratório de Citologia do Departamento de Patologia do Hospital de Câncer de Barretos.

Por outro lado, o poder diferencial deste estudo começou pelo fato dele ter sido realizado com uma casuística robusta de amostras de citologia cervical preservadas em base líquida, em uma instituição de referência em prevenção e tratamento de câncer no Brasil, como é o Hospital de Câncer de Barretos. (HCB). No HCB anualmente são examinadas em média 120.000 citologias lidas e analisadas por um grupo de sete citotécnicos. Os patologistas revisam 10% dos negativos e todos os casos ASCUS+ (em torno de 3%).

Neste estudo consideramos como representatividade da JEC se houve a presença de células glandulares e/ou metaplásicas, é possível que parte das pacientes oriundas do Ambulatório do HCB justifiquem a alta ausência de JEC decorrente dos seus tratamentos.

No momento do desenho do estudo não julgamos necessária a avaliação dos dados da paciente na LAAC da lâmina pelos profissionais, o que pode ter gerado um viés nos diagnósticos da LAAC. Principalmente nos diagnósticos citológicos duvidosos que são frequentes em um quadro de atrofia celular. Ainda, as análises não puderam ser feitas

individualmente para cada profissional pois os mesmos viram lâminas diferentes nas duas leituras; por isso, analisamos dois grupos: os citotécnicos e os citotécnicos com a revisão do patologista.

6.1 Análise da reprodutibilidade

Foram avaliadas duas técnicas diferentes de leitura de lâminas citológicas com o intuito de analisar a reprodutibilidade entre elas. Um braço foi dedicado a tradicional LM realizada em microscópio de luz; o outro braço foi a LAAC em sistema BD FocalPoint™ Imaging System. Em cada braço as leituras foram realizadas por citotécnicos e patologistas a fim de se avaliar a concordância das duas técnicas de leitura utilizadas.

Na etapa manual os profissionais tinham a informação se a paciente tinha feito ou não radioterapia, mas na etapa automatizada esta informação não foi disponibilizada. Por isto, todas as análises de reprodutibilidade foram feitas em três etapas: para todas as pacientes; para as pacientes que não tinham se submetido à radioterapia e para as pacientes que tinham sido submetidas à radioterapia.

A concordância entre as técnicas de leitura foi avaliada para os citotécnicos e para o processo (citotécnicos e revisão do patologista). Entre os citotécnicos as LM e LAAC para todas as pacientes e para as pacientes sem radioterapia tiveram uma concordância substancial, mas para as pacientes com radioterapia variou de substancial para ASC-H e LSIL e moderada para HSIL. A concordância menor no grupo de pacientes pós-radioterapia não chega a surpreender devido ao viés que a radiação representa para a análise citológica, uma vez que, como já adiantado, ela produz alterações celulares significativas, mesmo em condições de normalidade.

Quando analisamos todo o processo de leitura nas duas técnicas encontramos resultados mais reprodutíveis, mas sem diferença estatisticamente significativa entre eles. No processo, a reprodutibilidade foi muito significativa (substancial) para todas as pacientes e para as pacientes sem radioterapia prévia. Já as pacientes com radioterapia prévia tiveram também uma reprodutibilidade substancial só que com valores de kappa menores do que o restante.

Exemplos interessantes têm sido relatados na literatura acerca da avaliação da reprodutibilidade da leitura de citologia cervical em base líquida. Tsilalis et al⁵⁵ em Atenas, Grécia, estudaram a performance de um grupo de patologistas que analisaram imagens digitais de lâminas; esse mesmo grupo reavaliou as mesmas imagens após 12 e 24 meses. A concordância entre as leituras foi de substancial a excelente com o valor de kappa variando de 0,79 a 0,97.

Diferente do resultado obtido na Grécia, uma pesquisa da Universidade Federal de Goiás, Brasil, avaliou a reprodutibilidade dos citologistas na leitura de lâminas de citologia cervical preparadas em base líquida DNA Citoliq e convencional. Um grupo de citologistas avaliou lâminas com lesões glandulares e a concordância entre pares de citologistas foi moderada com os valores de kappa em torno de 0,45⁵⁶.

Num programa de qualidade na Austria, pacientes com carcinoma cervical invasivo tiveram suas lâminas de exames preventivos, coletadas nos 5 anos antes da detecção da doença, reavaliadas. Os valores de kappa encontrados entre as duas leituras das lâminas foram apenas moderados⁵⁷.

A reprodutibilidade moderada tem sido a constante mais frequente das interpretações citológicas cervicais interobservadores, em diferentes cenários²⁴.

O presente estudo tem um cenário melhor do que a maioria dos estudos encontrados na literatura sobre a performance dos citotécnicos, pois a maioria dos resultados mostrou reprodutibilidade substancial; e, com a revisão dos patologistas, a reprodutibilidade melhorou. Esta reprodutibilidade substancial entre as duas técnicas de leitura mostra que a substituição da LM pela LAAC não causará perdas de casos positivos.

6.2 Classificação em quintis pelo FP

A maioria das lâminas analisadas nesse trabalho apresentou uma tela com o ícone Review ativado, o que demonstra que o FP fez uma leitura qualificada da lâmina e gravou as imagens no servidor. Estas lâminas que estão dentro do seu padrão de leitura foram classificadas em quintis.

Esta classificação é feita de acordo com a probabilidade de anormalidade do *pool* de células presentes em cada lâmina analisada. O quintil 1 é o de maior probabilidade de anormalidade e os quintis 4 e 5 de menor probabilidade. Para garantir um bom funcionamento do FP numa rotina diária normal de lâminas de um laboratório de citotologia a maioria dos casos alterados ASCUS+ deve estar nos quintis 1 e 2.

Neste estudo foi avaliada a performance do FP na classificação em quintis das lâminas lidas pelos citotécnicos e pelos patologistas. A maioria dos casos ASCUS+ avaliados pelos citotécnicos foram classificados no quintil 1, variando de 46,2% a 84,2% dependendo da lesão. Nos quintis 1 e 2 estão 90% dos HSIL e 33% dos Adeno/CEC (66% dos Adeno/CEC foram selecionados para leitura da lâmina toda). Nas lâminas analisadas pelos patologistas a maioria dos ASCUS+ também estão no quintil 1, variando de 37,5% a 86,2%. Nos quintis 1 e 2 estão 90,9% dos HSIL e 53% dos Adeno/CEC. Todos esses valores mostram claramente que o FP tem um excelente poder discriminatório para classificar casos citológicos com anormalidades. Os casos de carcinomas invasores que não foram selecionados nos quintis 1 e 2 foram classificados no quintil 5 sem abertura de imagens. Em nossa rotina, rebatizamos esse quintil de 99. Ele representa casos onde as alterações celulares são tantas e tão pleomórficas que o FP alerta para o fato de que as lâminas devem ser inteiramente revistas pelo observador.

Os resultados deste estudo mostram uma concordância com os dados encontrados na literatura. No estudo de Parker et al⁴⁹ foram avaliadas 1.275 lâminas, onde 90% dos HSIL e 83% HSIL+ (HSIL, AIS e Carcinoma) estavam nos quintis 1 e 2.

Wilbur et al⁴⁷ avaliou 12.313 lâminas nos Estados Unidos e fez a classificação em quintis dos casos ASCUS+. Setecentos casos dos 1.275 ASCUS+ foram classificados no quintil 1, dos HSIL+ (HSIL, AIS e Carcinoma) 94,6% ficaram nos dois primeiros quintis.

Esses dados são importantes para ratificar o poder discriminatório do FP e a confiabilidade que se pode esperar desse sistema em condições de rotina, já que neste estudo com aumento do grau da lesão de colo uterino analisada pelo FP aumentou também a porcentagem de lesões encontradas nos quintis 1 e 2.

6.3 Desempenho diagnóstico da LM e LAAC

Para avaliar a sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e valor da curva ROC das técnicas de rastreamento manual e automatizado usou-se como padrão ouro a biópsia de colo de útero.

Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre as duas técnicas de rastreamento, tanto na leitura dos citotécnicos quanto do processo, utilizando-se critério NIC 2+ das biópsias para o corte de positividade. Mesmo não tendo uma diferença significativa, entretanto, a sensibilidade ficou em torno de 50% e a especificidade em torno de 80%, números que refletem o comportamento do teste citológico de Papanicolaou em condições convencionais²⁰, a sensibilidade média pode ser devido a representatividade inadequada nas amostras de biópsia. Foi encontrada, ainda, uma diferença estatisticamente significativa da especificidade e dos valores da curva ROC, com um melhor resultado para a LM dos preparados em base líquida, quando o critério de corte foram as biópsias foi NIC1+; para NIC2+, ambos os métodos tiveram performances semelhantes. Os profissionais que participaram do estudo são experientes na detecção de anormalidades em citologia ginecológica, o que pode justificar a semelhança dos resultados das duas técnicas de leitura.

Por outro lado, é sabido que um bom método de rastreamento para câncer cervical deve ser eficiente para detectar aquelas mulheres que realmente tem uma lesão intraepitelial cervical, pois um exame falso positivo pode causar desde a ansiedade da paciente até maiores gastos do governo com exames complementares para detecção do câncer cervical, e os exames falso-negativos geram uma falsa sensação de segurança que pode levar à negligência de eventos que são críticos para a vida da mulher⁵⁸. O valor

preditivo positivo (VPP) é usado para avaliar esta eficiência e neste estudo foi encontrado um bom resultado. A variação para os citotécnicos foi de 72,7% e 74,5%, e para o processo 76,2% e 69,6%, na LM e LAAC respectivamente, usando o critério citológico HSIL+. Com o critério citológico LSIL+ o VPP foi 79,7% e 71,8% para os citotécnicos e 81,7% e 71,4% para o processo na LM e LAAC respectivamente.

A avaliação das biópsias nem sempre pode ser considerada como o padrão definitivo para julgar uma citologia. É possível encontrar resultados negativos de biópsias e uma citologia positiva, neste caso o médico deverá realizar biópsias adicionais. Para garantir um bom controle de qualidade a correlação cito-histológica deve ser realizada sempre que possível²⁵.

A sensibilidade e especificidade de uma técnica pode ser calculada de várias formas, nem sempre utilizando a biópsia como padrão ouro. Um estudo realizado no Reino Unido, denominado MAVARIC, com 73.266 lâminas de SurePath™ e ThinPrep™; na técnica de leitura manual, automatizada com ThinPrep™ Imaging System e automatizada com FocalPoint™ GS Imaging System concluiu que a leitura automatizada foi 8% menos sensível do que a leitura manual para NIC2+⁵⁰. O estudo MAVARIC não esclarece se foi utilizado um intervalo de confiança para avaliar se a diferença entre as técnicas de leitura foi estatisticamente significativa, e os parâmetros para avaliação da sensibilidade também não ficam claros já que avaliar citologia com citologia não compreende verdadeiramente um padrão ouro; e embora o governo inglês tenha desautorizado o uso de aparelhos computadorizados para rastreio primário, o método ainda é sustentado como poderoso meio de controle de qualidade.

Nossos resultados estão de acordo com o estudo realizado na Finlândia, país com um ativo Programa Nacional de Rastreamento e com raros casos de câncer cervical; Antilla et al⁵¹ analisaram impressionantes 503.000 casos e também não encontraram diferenças estatisticamente significativas entre a LM e LAAC. Este estudo mesmo sendo realizado em um local de baixa prevalência de câncer cervical sustenta o uso da automação para rastreio primário, uma vez que não subestimaria a detecção de casos alterados e facilitaria o rastreamento. Nos Estados Unidos, um estudo que analisou a LM e a LAAC com lâminas em base líquida ThinPrep™ e o ThinPrep Imaging System, em 4 laboratórios diferentes, também não encontrou diferença estatisticamente significativa para HSIL+ para a sensibilidade dos dois métodos de leitura³⁰.

Cengel et al⁵⁹ compararam lâminas em base líquida SurePath™ na LM e LAAC concluindo que a sensibilidade do método automatizado foi melhor quando se usou como padrão ouro a leitura manual (96%), do que quando se usou a biópsia de colo uterino (93%) como padrão ouro. Essa é uma forma singular de se avaliar a performance de um método, e poderá ser sujeita a críticas. Contudo, considerando-se que o rastreamento manual é o utilizado há décadas em milhões de testes anuais, a premissa do trabalho trouxe uma nova visão de como se avaliar a introdução de uma nova metodologia. Já em uma análise da implementação do FPGS em Connecticut, EUA, as lâminas em base líquida SurePath™ lidas nos dezesseis meses anteriores a implantação do FPGS foram utilizadas como padrão ouro, havendo um aumento na detecção de ASCUS e LSIL com a leitura automatizada⁶⁰. Mesmo em pacientes examinadas pós-radioterapia foi demonstrado em 302 casos preparados em base líquida Thinprep™ altos índices de amostras satisfatórias para leitura, com VPP para LSIL de 25%, e de 100% para os carcinomas³⁷.

Diferente dos nossos resultados, um estudo realizado nos Estados Unidos em área de baixa prevalência de câncer cervical, comparou a LM com a LAAC utilizando o sistema Thinprep™ Imaging System, e mostrou que o braço LAAC foi mais sensível para detecção de ASCUS+, e que os dois métodos tiveram a mesma especificidade global. Para LSIL+, ambos tiveram a mesma sensibilidade e especificidade e para HSIL+ a mesma sensibilidade e melhor especificidade no braço LAAC⁶¹.

A LAAC será importante nos próximos anos, pois com o advento da vacinação contra HPV há chances de diminuição das lesões pré-neoplásicas devido à diminuição da prevalência de lesões graves. Nesse cenário, a baixa sensibilidade da citologia convencional será ainda pior que os atuais 50%, o que dificultará ainda mais o reconhecimento de alterações celulares pelo citotécnico que necessitará de uma nova logística e novos recursos para atuar com a eficácia esperada³⁹. O futuro do exame de Papanicolaou está na automação e nos testes moleculares que auxiliam num diagnóstico mais preciso de uma lesão intraepitelial.

Em resumo o presente estudo demonstrou que, mesmo sem grandes diferenças significativas neste cenário, entre a LM e LAAC, o uso do FP na rotina diária de um laboratório de Citologia é de grande valia pois, além de contribuir para evitar prováveis falsos negativos no rastreamento citológico, principalmente em centros onde a carga de trabalho do citotécnico é alta (80 a 100 lâminas por dia), os recursos avaliados prestam-se

igualmente como um excelente parâmetro de controle interno de qualidade, superando em muito o atual sistema imposto pelas autoridades de saúde. Embora importante, esse sistema deixa de lado, as causas que originam os resultados falsos negativos, passando ao largo desse grave problema verificando, apenas, 10% das casuísticas selecionadas em um determinado período. A utilização do FP demonstrou que pode-se evitar que casos falsos negativos sejam liberados, e corrige, em tempo real, eventuais distorções diagnósticas. Identificando os erros e suas causas, oferece a possibilidade de um contínuo processo de educação, onde o controle interno é apenas mais um elemento no rol de garantias de qualidade em citologia.

7 CONCLUSÕES

1. A LM das amostras analisadas mostrou altos índices de concordância com a LAAC;
2. O FP foi eficiente para estratificar corretamente em quintis a maioria dos casos alterados.
3. A acurácia obtida pela LM e LAAC foram semelhantes. A especificidade oscilou entre valores superiores a 80%, mostrando grande capacidade em identificar lesões do colo uterino, sobretudo as de alto grau. Esses dados geraram um alto valor preditivo positivo, que é um indicador de qualidade para exames utilizados em prevenção de câncer.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. WHO/ICO. *Human Papillomavirus and Related Cancers in Brazil*. [Internet] 2010 [cited 24/09]; Available from: http://apps.who.int/hpvcentre/statistics/dynamic/ico/country_pdf/BRA.pdf?CFID=6175346&CFTOKEN=55289727.
2. Villa LL. *Cervical cancer in Latin America and the Caribbean: the problem and the way to solutions*. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**. 2012;21(9):1409-13.
3. INCA. *Estimativa 2012 Rio de Janeiro* 2012. Available from: <http://www1.inca.gov.br/estimativa/2012/mapa.asp?ID=5>.
4. Fernandes JV, Meissner Rde V, de Carvalho MG, Fernandes TA, de Azevedo PR, Villa LL. *Prevalence of HPV infection by cervical cytologic status in Brazil*. **Int J Gynaecol Obstet**. 2009;105(1):21-4.
5. Prado JC, Calleja-Macias IE, Bernard HU, Kalantari M, Macay SA, Allan B, et al. *Worldwide genomic diversity of the human papillomaviruses-53, 56, and 66, a group of high-risk HPVs unrelated to HPV-16 and HPV-18*. **Virology**. 2005;340(1):95-104.
6. Steben M, Duarte-Franco E. *Human papillomavirus infection: epidemiology and pathophysiology*. **Gynecol Oncol**. 2007;107(2 Suppl 1):S2-5.
7. Stoler MH. *Human papillomavirus biology and cervical neoplasia: implications for diagnostic criteria and testing*. **Arch Pathol Lab Med**. 2003;127(8):935-9.
8. Bernard HU, Burk RD, Chen Z, van Doorslaer K, Hausen H, de Villiers EM. *Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments*. **Virology**. 2010;401(1):70-9.
9. Wiley D, Masongsong E. *Human papillomavirus: the burden of infection*. **Obstet Gynecol Surv**. 2006;61(6 Suppl 1):S3-14.
10. Moscicki AB, Schiffman M, Kjaer S, Villa LL. *Chapter 5: Updating the natural history of HPV and anogenital cancer*. **Vaccine**. 2006;24 Suppl 3:S3/42-51.
11. Gravitt PE. *The known unknowns of HPV natural history*. **J Clin Invest**. 2011;121(12):4593-9.
12. zur Hausen H. *Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application*. **Nat Rev Cancer**. 2002;2(5):342-50.

13. Pett M, Coleman N. *Integration of high-risk human papillomavirus: a key event in cervical carcinogenesis?* **J Pathol**. 2007;212(4):356-67.
14. Maucort-Boulch D, Franceschi S, Plummer M. *International correlation between human papillomavirus prevalence and cervical cancer incidence.* **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**. 2008;17(3):717-20.
15. Carozzi F, Ronco G, Gillio-Tos A, Marco LD, Mistro AD, Girlando S, et al. *Concurrent infections with multiple human papillomavirus (HPV) types in the New Technologies for Cervical Cancer (NTCC) screening study.* **Eur J Cancer**. 2011.
16. Bosch FX, de Sanjose S. *The epidemiology of human papillomavirus infection and cervical cancer.* **Dis Markers**. 2007;23(4):213-27.
17. Sasieni PD, Cuzick J, Lynch-Farmery E. *Estimating the efficacy of screening by auditing smear histories of women with and without cervical cancer. The National Co-ordinating Network for Cervical Screening Working Group.* **Br J Cancer**. 1996;73(8):1001-5.
18. Cox T, Cuzick J. *HPV DNA testing in cervical cancer screening: from evidence to policies.* **Gynecol Oncol**. 2006;103(1):8-11.
19. Mudrikova T, Jaspers C, Ellerbroek P, Hoepelman A. *HPV-related anogenital disease and HIV infection: not always 'ordinary' condylomata acuminata.* **Neth J Med**. 2008;66(3):98-102.
20. Franco EL, Cuzick J. *Cervical cancer screening following prophylactic human papillomavirus vaccination.* **Vaccine**. 2008;26 Suppl 1:A16-23.
21. de Kok IM, van Rosmalen J, Dillner J, Arbyn M, Sasieni P, Iftner T, et al. *Primary screening for human papillomavirus compared with cytology screening for cervical cancer in European settings: cost effectiveness analysis based on a Dutch microsimulation model.* **BMJ**. 2012;344:e670.
22. Felipe JS, Temporão JG, Silva LA, Mendonça GA, Parada R. *Nomenclatura brasileira para laudos cervicais e condutas preconizadas.* 2 ed. **Rio de Janeiro**2006. 56 p.
23. INCA. *Brazilian Cervical Cancer Screening Guidelines.* **Rio de Janeiro**2011.
24. Cibas ES. *Cervical and Vaginal Cytology.* In: Cibas ES, Ducatman BS, editors. *Cytology: Diagnostic Principles and Clinical Correlates.* **Edinburgh: Saunders**; 2003. p. 52-4.
25. Koss LG, Gompel C. *Introdução a Citopatologia Ginecológica com Correlações Histológicas e Clínicas:* **Roca**; 2006.

26. Bibbo M. *IAC Congress Contributes to 21st Century Cytology*. In: Valente PT, editor. *The life of George N Papanicolaou and the Origins of Citology: Cyto Paths*; 1999.
27. Barron BA, Richart RM. *Statistical model of the natural history of cervical carcinoma. II. Estimates of the transition time from dysplasia to carcinoma in situ*. **J Natl Cancer Inst.** 1970;45(5):1025-30.
28. Solomon DA, Nayar R. *The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology*. Second ed. **New York: Springer**; 2004.
29. Gibb RK, Martens MG. *The impact of liquid-based cytology in decreasing the incidence of cervical cancer*. **Rev Obstet Gynecol.** 2011;4(Suppl 1):S2-S11.
30. *ThinPrep Imaging System. Package Insert*.
31. Hoda RS, Loukeris K, Abdul-Karim FW. *Gynecologic cytology on conventional and liquid-based preparations: A comprehensive review of similarities and differences*. **Diagn Cytopathol.** 2012.
32. Moriarty AT, Clayton AC, Zaleski S, Henry MR, Schwartz MR, Eversole GM, et al. *Unsatisfactory reporting rates: 2006 practices of participants in the college of american pathologists interlaboratory comparison program in gynecologic cytology*. **Arch Pathol Lab Med.** 2009;133(12):1912-6.
33. Arbyn M, Bergeron C, Klinkhamer P, Martin-Hirsch P, Siebers AG, Bulten J. *Liquid compared with conventional cervical cytology: a systematic review and meta-analysis*. **Obstet Gynecol.** 2008;111(1):167-77.
34. Longatto Filho A, Pereira SM, Di Loreto C, Utagawa ML, Makabe S, Sakamoto Maeda MY, et al. *DCS liquid-based system is more effective than conventional smears to diagnosis of cervical lesions: study in high-risk population with biopsy-based confirmation*. **Gynecol Oncol.** 2005;97(2):497-500.
35. Fregnani JH, Scapulatempo C, Haikel Jr RL, Saccheto T, Campacci N, Mauad EC, et al. *Could Alarming High Rates of Negative Diagnoses in Remote Rural Areas Be Minimized with Liquid-Based Cytology? Preliminary Results from the RODEO Study Team*. **Acta Cytol.** 2012;57(1):69-74.
36. Beerman H, van Dorst EB, Kuenen-Boumeester V, Hogendoorn PC. *Superior performance of liquid-based versus conventional cytology in a population-based cervical cancer screening program*. **Gynecol Oncol.** 2009;112(3):572-6.

37. Wright JD, Herzog TJ, Mutch DG, Gibb RK, Rader JS, Davila RM, et al. *Liquid-based cytology for the postirradiation surveillance of women with gynecologic malignancies*. **Gynecol Oncol**. 2003;91(1):134-8.
38. Coleman DV, Poznansky JJ. *Review of cervical smears from 76 women with invasive cervical cancer: cytological findings and medicolegal implications*. **Cytopathology**. 2006;17(3):127-36.
39. Evans KK, Tambouret RH, Evered A, Wilbur DC, Wolfe JM. *Prevalence of abnormalities influences cytologists' error rates in screening for cervical cancer*. **Arch Pathol Lab Med**. 2011;135(12):1557-60.
40. Kohlberger PD, Stani J, Gitsch G, Kieback DG, Breitenecker G. *Comparative evaluation of seven cell collection devices for cervical smears*. **Acta Cytol**. 1999;43(6):1023-6.
41. Nai GA, Souza KKGd, Rodrigues ER, Barbosa RL. *Presença de células da junção escamo-colunar em esfregaços cérvico-vaginais de mulheres acima de 40 anos*. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**. 2011;33:128-32.
42. Elsheikh TM, Kirkpatrick JL, Fischer D, Herbert KD, Renshaw AA. *Does the time of day or weekday affect screening accuracy? A pilot correlation study with cytotechnologist workload and abnormal rate detection using the ThinPrep Imaging System*. **Cancer Cytopathol**. 2010;118(1):41-6.
43. Renshaw AA, Elsheikh TM. *Sensitivity and workload for manual and automated gynecologic screening: best current estimates*. **Diagn Cytopathol**. 2011;39(9):647-50.
44. Deschenes M, Renshaw AA, Auger M. *Measuring the significance of workload on performance of cytotechnologists in gynecologic cytology: a study using rapid prescreening*. **Cancer**. 2008;114(3):149-54.
45. Passamonti B, Bulletti S, Camilli M, D'Amico MR, Di Dato E, Gustinucci D, et al. *Evaluation of the FocalPoint GS system performance in an Italian population-based screening of cervical abnormalities*. **Acta Cytol**. 2007;51(6):865-71.
46. Wilbur DC, Parker EM, Foti JA. *Location-guided screening of liquid-based cervical cytology specimens: a potential improvement in accuracy and productivity is demonstrated in a preclinical feasibility trial*. **Am J Clin Pathol**. 2002;118(3):399-407.
47. Wilbur DC, Black-Schaffer WS, Luff RD, Abraham KP, Kemper C, Molina JT, et al. *The Becton Dickinson FocalPoint GS Imaging System: clinical trials demonstrate significantly*

- improved sensitivity for the detection of important cervical lesions. Am J Clin Pathol.* 2009;132(5):767-75.
48. Patel C, Ullal A, Roberts M, Brady J, Birch P, Bulmer JN, et al. *Endometrial carcinoma detected with SurePath liquid-based cervical cytology: comparison with conventional cytology. Cytopathology.* 2009;20(6):380-7.
49. Parker EM, Foti JA, Wilbur DC. *FocalPoint slide classification algorithms show robust performance in classification of high-grade lesions on SurePath liquid-based cervical cytology slides. Diagn Cytopathol.* 2004;30(2):107-10.
50. Kitchener HC, Blanks R, Cubie H, Desai M, Dunn G, Legood R, et al. *MAVARIC - a comparison of automation-assisted and manual cervical screening: a randomised controlled trial. Health Technol Assess.* 2011;15(3):iii-iv, ix-xi, 1-170.
51. Anttila A, Pokhrel A, Kotaniemi-Talonen L, Hakama M, Malila N, Nieminen P. *Cervical cancer patterns with automation-assisted and conventional cytological screening: a randomized study. Int J Cancer.* 2011;128(5):1204-12.
52. Friedlander MA, Rudomina D, Lin O. *Effectiveness of the Thin Prep Imaging System in the detection of adenocarcinoma of the gynecologic system. Cancer.* 2008;114(1):7-12.
53. *Manual do Operador - Sistema BD FocalPoint™* 2008.
54. Branca M, Morosini P, Severi P, Erzen M, Di Benedetto C, Syrjanen K. *New statistical software for intralaboratory and interlaboratory quality control in clinical cytology. Validation in a simulation study on clinical samples. Acta Cytol.* 2005;49(4):398-404.
55. Tsilalis T, Archondakis S, Meristoudis C, Margari N, Pouliakis A, Skagias L, et al. *Assessment of static telecytological diagnoses' reproducibility in cervical smears prepared by means of liquid-based cytology. Telemed J E Health.* 2012;18(7):516-20.
56. Moreira MA, Longatto Filho A, Castelo A, de Barros MR, Silva AP, Thomann P, et al. *How accurate is cytological diagnosis of cervical glandular lesions? Diagn Cytopathol.* 2008;36(4):270-4.
57. Regitnig P, Dinges HP, Ropp E, Fladerer H, Moinfar F, Breitenecker G. *[Reevaluation of cytological smears in patients with cervical cancer. Regional quality assurance program with the cooperation of the Austrian Society for Cytology, the Carinthian Medical Association and the Carinthian Ministry of Health]. Pathologe.* 2007;28(5):339-45.
58. Saslow D, Solomon D, Lawson HW, Killackey M, Kulasingam SL, Cain J, et al. *American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American*

Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer. CA Cancer J Clin. 2012;62(3):147-72.

59. Cengel KA, Day SJ, Davis-Devine S, Adams CL, Madison-Henness D, Hartman ME, et al. *Effectiveness of the SurePath liquid-based Pap test in automated screening and in detection of HSIL. Diagn Cytopathol.* 2003;29(5):250-5.

60. Levi AW, Chhieng DC, Schofield K, Kowalski D, Harigopal M. *Implementation of FocalPoint GS location-guided imaging system: experience in a clinical setting. Cancer Cytopathol.* 2012;120(2):126-33.

61. Biscotti CV, Dawson AE, Dziura B, Galup L, Darragh T, Rahemtulla A, et al. *Assisted primary screening using the automated ThinPrep Imaging System. Am J Clin Pathol.* 2005;123(2):281-7.

ANEXOS

Tabelas

Tabela 11 - Diagnóstico citológico dos citotécnicos nas leituras manual e automatizada das lâminas das pacientes estudadas. Departamento de Patologia do Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.

Citotécnico	Negativo		ASCUS		ASC-H		LSIL		HSIL		Adeno / CEC		AGC		Total
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Manual															
Negativo	9565	98,3	69	0,7	41	0,4	43	0,4	8	0,1	0	0	3	0,0	9729
ASCUS	28	35,0	13	16,3	16	20,0	19	23,8	3	3,8	0	0	1	1,3	80
ASC-H	24	24,7	13	13,4	28	28,9	14	14,4	16	16,5	0	0	2	2,1	97
LSIL	16	13,3	10	8,3	12	10,0	71	59,2	11	9,2	0	0	0	0	120
HSIL	10	7,8	2	1,6	18	14,1	13	10,2	79	61,7	2	1,6	4	3,1	128
Adeno / CEC	1	16,7	0	0	1	16,7	0	0	2	33,3	1	16,7	1	16,7	6
AGC	2	40,0	0	0	0	0	0	0	1	20,0	0	0	2	40,0	5
Total	9646	94,9	107	1,1	116	1,1	160	1,6	120	1,2	3	0,0	13	0,1	10165

Tabela 12 - Diagnóstico citológico dos citotécnicos nas leituras manual e automatizada das lâminas das pacientes estudadas sem radioterapia prévia. Departamento de Patologia do Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.

Citotécnico	Negativo		ASCUS		ASC-H		LSIL		HSIL		Adeno / CEC		AGC		Total
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Negativo	8452	98,4	56	0,7	33	0,4	39	0,5	6	0,1	0	0,0	3	0,0	8589
ASCUS	24	33,3	13	18,1	15	20,8	17	23,6	2	2,8	0	0,0	1	1,4	72
ASC-H	21	26,9	9	11,5	23	29,5	11	14,1	12	15,4	0	0,0	2	2,6	78
LSIL	15	14,0	9	8,4	10	9,3	67	62,6	6	5,6	0	0,0	0	0,0	107
HSIL	9	8,0	2	1,8	15	13,4	12	10,7	69	61,6	1	0,9	4	3,6	112
Adeno / CEC	1	25,0	0	0,0	1	25,0	0	0,0	1	25,0	1	25,0	0	0,0	4
AGC	2	40,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	20,0	0	0,0	2	40,0	5

Tabela 13 - Diagnóstico citológico dos citotécnicos nas leituras manual e automatizada das lâminas das pacientes estudadas com radioterapia prévia. Departamento de Patologia do Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.

Citotécnico	Automatizado						Total											
	Negativo	ASCUS	ASC-H	LSIL	HSIL	Adeno / CEC		AGC										
Manual	n	n	n	n	n	n	n											
	%	%	%	%	%	%	%											
Negativo	308	8	2,4	7	2,1	4	1,2	0	0	0	0	0	0	0	0	327	100	
ASCUS	3	0	0	1	16,7	1	16,7	1	16,7	1	16,7	0	0	0	0	0	6	100
ASC-H	3	17,6	4	23,5	5	29,4	2	11,8	3	17,6	0	0	0	0	0	0	17	100
LSIL	1	9,1	1	9,1	1	9,1	3	27,3	5	45,5	0	0	0	0	0	0	11	100
HSIL	1	6,7	0	0	3	20,0	1	6,7	9	60,0	1	6,7	1	6,7	0	0	15	100
Adeno / CEC	0	0	0	0	0	0	0	0,0	1	50,0	0	0	0	0	1	50,0	2	100

- 820 pacientes não tinham informação de Radioterapia, e dentre eles a lesão máxima foi HSIL (n=4).

Tabela 14 - Diagnóstico citológico dos patologistas nas leituras manual e automatizada das lâminas das pacientes estudadas. Departamento de Patologia do Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.

Patologista	Automatizado												Total			
	Negativo		ASCUS		ASC-H		LSIL		HSIL		Adeno / CEC			AGC		
Manual	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Negativo	26	16,9	38	24,7	22	14,3	51	33,1	15	9,7	1	0,6	1	0,6	154	100
ASCUS	26+	32,5	22	27,5	10	12,5	18	22,5	3	3,7	1	1,3	0	0	80	100
ASC-H	20	21,3	8	8,5	24	25,5	18	19,1	23	24,5	0	0	1	1,1	94	100
LSIL	9	7,4	5	4,1	14	11,5	81	66,4	13	10,7	0	0	0	0	122	100
HSIL	6	4,2	3	2,1	10	7,0	9	6,3	96	67,6	14	9,9	4	2,8	142	100
Adeno / CEC	0	0	0	0	0	0	0	0	3	50,0	3	50,0	0	0	6	100
AGC	1	16,7	0	0	0	0	1	16,7	1	16,7	1	16,7	2	33,3	6	100
Total	88	14,6	76	12,6	80	13,2	178	29,5	154	25,5	20	3,3	8	1,3	604	100

+ 1 caso tem diagnóstico ASC de origem indefinida pelo Patologista na leitura Manual

Tabela 15 - Diagnóstico citológico dos patologistas nas leituras manual e automatizada das lâminas das pacientes estudadas sem radioterapia prévia. Departamento de Patologia do Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.

Patologista	Automatizado														
	Negativo		ASCUS		ASC-H		LSIL		HSIL		Adeno / CEC		AGC		Total
Manual	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Negativo	22	16,8	33	25,2	14	10,7	47	35,9	14	10,7	0	0	1	0,8	131
ASCUS	21*	29,2	20	27,8	9	12,5	18	25,0	3	4,2	1	1,4	0	0	72
ASC-H	17	23,6	4	5,6	20	27,8	14	19,4	16	22,2	0	0	1	1,4	72
LSIL	9	8,3	4	3,7	10	9,2	75	68,8	10	9,2	1	0,9	0	0	109
HSIL	6	4,8	2	1,6	6	4,8	9	7,3	85	68,5	12	9,7	4	3,2	124
Adeno / CEC	0	0	0	0,0	0	0	0	0,0	2	50,0	2	50,0	0	0	4
AGC	1	20,0	0	0,0	0	0	0	0,0	1	20,0	1	20,0	2	40,0	5

*1 caso tem diagnóstico ASC de origem indefinida pelo Patologista na leitura Manual

Tabela 16 - Diagnóstico citológico dos citotécnicos nas leituras manual e automatizada das lâminas das pacientes estudadas com radioterapia prévia. Departamento de Patologia do Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.

Patologista	Negativo		ASCUS		ASC-H		LSIL		HSIL		Adeno / CEC		AGC		Total
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Manual	3	18,8	4	25,0	7	43,8	1	6,3	0	0	1	6,3	1	0,8	16
Negativo	4	66,7	1	16,7	1	16,7	0	0	0	0	0	0	0	0	6
ASCUS	3	15,8	3	15,8	3	15,8	3	15,8	5	26,3	2	10,5	1	1,4	19
ASC-H	0	0	1	10,0	3	30,0	4	40,0	2	20,0	0	0	0	0	10
LSIL	0	0	1	5,9	4	23,5	0	0	10	58,8	2	11,8	4	3,2	17
HSIL	0	0	0	0	0	0	0	0	1	50,0	1	50,0	0	0	2
Adeno / CEC	0	0	0	0	0	0	1	100	0	0	0	0	2	40,0	1
AGC															

- 16 pacientes não tinham informação de Radioterapia, e dentre eles a lesão máxima foi HSIL (n=2).

Tabela 17 - Diagnóstico citológico dos citotécnicos na leitura automatizada das lâminas das pacientes estudadas e biópsias. Departamento de Patologia do Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.

Citotécnico Automatizado	Biópsias													
	Negativo		NIC I		NIC II/III		Ca invasor / Adeno invasor		Adeno in situ		NIVA		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%		
Negativo	27	62,8	5	11,6	7	16,3	2	4,7	1	2,3	1	2,3	43	100
ASCUS	31	70,5	8	18,2	2	4,5	3	6,8	0	0	0	0	44	100
ASC-H	24	37,5	7	10,9	28	43,8	2	3,1	0	0	3	4,7	64	100
LSIL	35	43,8	20	25,0	19	23,8	2	2,5	0	0	4	5,0	80	100
HSIL	18	20,2	9	10,1	55	61,8	6	6,7	0	0	1	1,1	89	100
Adeno / CEC	0	0	0	0	1	100	0	0	0	0	0	0	1	100
AGC	0	0	2	25,0	4	50,0	2	25,0	0	0	0	0	8	100
Total	135	41,0	51	15,5	116	35,3	17	5,2	1	0,3	9	2,7	329	100

- A maioria dos casos ASC-H e HSIL (43,8% e 61,8%) tiveram biópsias NIC II/III.

Tabela 18 - Diagnóstico citológico dos citotécnicos na leitura manual das lâminas das pacientes estudadas e biópsias. Departamento de Patologia do Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.

Citotécnico Manual	Negativo		NIC I		NIC II/III		Ca invasor / Adeno invasor		Adeno in situ		NIVA		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%		
Negativo	49	73,1	4	6,0	6	9,0	5	7,5	0	0	3	4,5	67	100
ASCUS	15	57,7	6	23,1	3	11,5	2	7,7	0	0	0	0	26	100
ASC-H	34	51,5	10	15,2	19	28,8	0	0	1	1,5	2	3,0	66	100
LSIL	15	24,6	21	34,4	20	32,8	1	1,6	0	0	4	6,6	61	100
HSIL	22	21,4	10	9,7	65	63,1	6	5,8	0	0	0	0	103	100
Adeno / CEC	0	0	0	0	2	50,0	2	50,0	0	0	0	0	4	100
AGC	0	0	0	0	1	50,0	1	50,0	0	0	0	0	2	100
Total	135	41,0	51	15,5	116	35,3	17	5,2	1	0,3	9	2,7	329	100

Tabela 19 - Diagnóstico citológico dos patologistas na leitura automatizada das lâminas das pacientes estudadas e biópsias. Departamento de Patologia do Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.

Patologista Automatizado	Biópsias													
	Negativo		NIC I		NIC II/III		Ca invasor / Adeno invasor		Adeno in situ		NIVA		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%		
Negativo	27	73,0	3	8,1	4	10,8	1	2,7	1	2,7	1	2,7	37	100
ASCUS	22	75,9	4	13,8	1	3,4	2	6,9	0	0	0	0	29	100
ASC-H	20	40,8	4	8,3	20	41,7	2	4,2	0	0	3	6,3	48	100
LSIL	38	46,3	23	28,0	16	19,5	1	1,2	0	0	4	4,9	82	100
HSIL	26	23,2	15	13,2	68	60,7	4	3,6	0	0	1	0,9	112	100
Adeno / CEC	1	7,7	1	7,7	5	31,3	6	37,5	0	0	0	0	13	100
AGC	0	0	1	25,0	2	50,0	1	25,0	0	0	0	0	4	100
Total	134	40,9	51	15,5	116	35,4	17	5,2	1	0,3	9	2,7	328	100

- Dos casos HSIL e AGC a maioria das biópsias são NIC II/III

Tabela 20 - Diagnóstico citológico dos patologistas na leitura manual das lâminas das pacientes estudadas e biópsias. Departamento de Patologia do Hospital de Câncer Barretos no período entre maio/2010 a agosto/2011. Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2012.

Patologistas Manual	Biópsias													
	Negativo		NIC I		NIC II/III		Ca invasor / Adeno invasor		Adeno in situ		NIVA		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%		
Negativo	40	72,7	3	5,5	5	9,1	5	9,1	0	0	2	3,6	55	100
ASCUS	21	75,0	5*	17,8	1	3,6	1	3,6	0	0	0	0	28	100
ASC-H	39	54,9	10	14,1	17	23,9	2	2,8	0	0	3	4,2	71	100
LSIL	13	22,4	24	41,4	17	29,3	1	1,7	0	0	3	5,2	58	100
HSIL	21	19,1	9	8,2	74	67,3	5	4,5	1	0,9	0	0	110	100
Adeno / CEC	0	0	0	0	1	33,3	2	66,7	0	0	0	0	3	100
AGC	1	25,0	0	0	1	25,0	1	25,0	0	0	1	25,0	4	100
Total	135	41,0	51	15,5	116	35,3	17	5,2	1	0,3	9	2,7	329	100

*1 caso tem diagnóstico ASC de origem indefinida pelo Patologista na leitura Manual

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



PAT 3

Declaração de
consentimento

C11/1302
16325

Considerando a "Declaração de Helsinque" da Associação Médica Mundial
(Helsinki 1954; Tóquio 1975; Veneza 1983; Hong Kong 1989;
Somerset West 1996 e Edimburgo 2000.)

Designação do Estudo

Título do estudo: Prevenção de câncer anogenital: para novos desafios, novas soluções.

Eu, abaixo - assinado, (nome completo da voluntária), _____, compreendi a explicação que me foi fornecida acerca do estudo e da investigação que se tenciona realizar, bem como do estudo em que serei incluída. Fui informada de que esse estudo fará a comparação de dois métodos de preparo e leitura do teste de Papanicolaou, manual e automatizada. Além disso, será feita a pesquisa sobre quais são os agentes que podem desenvolver o câncer de colo uterino bem como a avaliação de desempenho desses testes para auxiliar na detecção das lesões. Foi-me explicado que todos os objetivos descritos no estudo visam melhorar o diagnóstico preventivo do câncer de colo uterino e estabelecer qual (ou quais) são os agentes mais envolvidos com a doença. Foi-me dada oportunidade de fazer as perguntas que julguei necessárias, e de todas obtive resposta satisfatória. Tomei conhecimento de que, de acordo com as recomendações da Declaração de Helsinque, a informação ou explicações que me foi prestada versou os objetivos, os métodos e os benefícios previstos, bem como a ausência de riscos, potenciais e eventuais desconfortos. Além disso, foi-me afirmado que tenho o direito de recusar minha participação no estudo, sem que isso possa ter como efeito qualquer prejuízo na assistência que me é prestada. Por isso, consisto que me seja aplicado o método e o inquérito proposto pelo investigador.

Data: 18 / 02 / 20 11

Assinatura do paciente / representante legal: _____

O médico responsável:

Assinatura: _____

Aprovação do CEP**Comitê de Ética em Pesquisa
CEP**

Para: Dr. Adhemar Longatto Filho

De: Renato José Affonso Junior
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa

Data: 20/07/2009

Projeto de Pesquisa: **244/2009**

Prezado (a) Senhor (a),

Venho, por meio desta, informar que o Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos analisou o projeto nº **244/2009**, intitulado :“**Prevenção de câncer anogenital: novos desafios, novas soluções**”, decidindo que o mesmo encontra -se “**Aprovado**”.

Atenciosamente,



Dr. Renato José Affonso Junior
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital de Câncer de Barretos

recebi
21.07.2009
[Handwritten signature]

Artigo aceito pela revista American Journal of Clinical Pathology

Performance and reproducibility of gynecologic cytology interpretation using Focalpoint system. Results RODEO Study Team.

Authors

Maíra Degiovani. Stein¹, José Humberto T.G. Fregnani^{1,2} Cristovam Scapulatempo¹, Allini Mafra¹, Natália Campacci¹, Adhemar Longatto-Filho^{2,3,4} and The RODEO study team from Barretos Cancer Hospital

† The RODEO study team from Barretos Cancer Hospital also includes: Teóclito Saccheto de Carvalho¹, Fábio de Paula Mateus¹, Eduardo Tadeu da Silva¹, Michele M. Castro Alves¹, Fábio Cardoso de Lima¹, Erlaine Martins Suriano¹, Eduardo C. A. da Silva¹, Ligia M. Kerr¹, Sandra M. da Silva¹, Lucas F. A. Machado¹, Edmundo C. Mauad¹

1. Barretos Cancer Hospital, Pio XII Foundation, Barretos, Brazil.
2. Molecular Oncology Research Center, Barretos Cancer Hospital, Pio XII Foundation, Barretos, Brazil.
3. Laboratory of Medical Investigation (LIM) 14, Faculty of Medicine, University of São Paulo, São Paulo, Brazil.
4. Life and Health Sciences Research Institute (ICVS), School of Health Sciences, University of Minho, Braga, Portugal; ICVS/3B's - PT Government Associate Laboratory, Braga/Guimarães, Portugal.

ABSTRACT

Background: The manual screening of Pap slides held by cytotechnologist is a monotonous activity, leading to fatigue, that can induce to the morphological changes misinterpretation and false negative results. Currently, automation screening is supposed to ensure to the cytological examination smaller margins of error than manual screening. Methods: we have compared the cytotechnologists performance and reproducibility of manual and automated screening using FocalPoint system of 10.165 consecutive cervical cytology examined at Barretos Cancer Hospital. Results: 83% of ASCUS+ was classified as quintiles 1 and 2; no HSIL+ was observed in quintile 5. No statistical differences were found between manual and automated screening, using cervical biopsies as a gold standard. Conclusion(s): FocalPoint screening was proved to safely screening high grade lesions, which can be valuable for high workload routines.

Keywords: Pap test, automation, Focalpoint, Surepath, quality control

INTRODUCTION

The World Health Organization (WHO) estimates that there is a population of 69.05 million Brazilian women over age 15 with risk of developing cervical cancer¹. In Brazil, prevention is accomplished through Pap smear following a routine cytological screening established by the Ministry of Health of Brazil in 1988^{2, 3}. For several reasons, the estimates of cancer incidence and mortality remains virtually unchanged in the last decades in Brazilian territory.

The manual screening of Pap slides held by cytotechnologist is a monotonous activity, leading to fatigue, that can induce to the morphological changes misinterpretation and false negative results. The number of slides examined daily must be low (40 to 50 / day) to avoid errors. The cytotechnologists differ in productivity, screening time and accuracy of the slide that can vary by day of the week and even (morning or afternoon) time of day⁴. To try to reduce false negative results, new technologies for the preparation and screening of slides of cervical cytology specimens are currently available. The liquid based cytology (LBC) was designed to reduce the overlapping of cells and facilitate the detection of abnormalities in automated screening⁵. In the well-known method SurePath™, a preparation of cells of 13 mm diameter is obtained without undesirable losses of material and cellular crowding⁵. This type of cell preparation maintains a high standard of quality, while the automated screening is believed to improve a process that is fraught with cognitive difficulties.

One of the most used automation screening system worldwide is the BD FocalPoint™ GS Imaging System (FPGS) that can evaluate both LBC as well as conventional preparations⁶. The use of these devices is presumed to serve as a primary screening tool with important improvements of internal quality control, which ensures cytological examination routines with smaller margins of error.

Taking in account the potential usefulness of computer-assisted evaluation of LBC preparations routinely examined at Barretos Cancer Hospital, we sought to evaluate the Focalpoint performance to identify and classify cervical injuries safely and critically analyze the introduction of the robot as internal quality control device.

MATERIALS AND METHODS

The cytological samples were collected from May 2010 to August 2011, from women referred to the Barretos Cancer Hospital due to previous suspicious exam elsewhere, women examined in mobile units of Preventing Cancer Hospital of Barretos and women who had gynecological consultations in the municipalities that send their tests to the sector of Pathology, Barretos Cancer Hospital. The average age was 45 years (SD = 13.9) ranging from 13 to 96 years. We analyzed ten thousand one hundred sixty-five cases of cervical cytology prepared by the method SurePath™ liquid based (TriPath Imaging, Burlington, NC, USA).

Study Design

The screening of the slides and statistical analyzes were performed by professionals from the Barretos Cancer Hospital independently. At first round, the cytotechnologists evaluated the 10,165 slides prepared in the liquid based SurePath™ in light microscope, under routine conditions. Then, all slides were analyzed by FP system that classified the cellular changes into quintiles as previously reported^{6, 7}. Briefly, this classification is made in accordance with the probability of abnormality of each slide. There are five quintiles, quintile 1 is the highest probability of abnormality and 5 is the least^{6, 7}. We introduced the

quintile 99 to identify those cases that were classified as quintile 5 but with no image available for review and those cases that were classified as Process Review, which means that the cellular alterations found by the computer were not able to be classified within the morphological parameters recorded in the system and must be reviewed manually by the cytotechnologist/cytopathologist.

After about a year of manual screening, the same group of cytotechnologists held microscope automated screening in Guided Station (GS) of the FP system. The cases with cytologic changes in manual and automated arms (ASCUS +) were reviewed by a group of six cytopathologists, keeping the proportion of cases of the first round for each cytopathologists in both arms. Analyses of sensitivity and specificity were performed exclusively in cases of patients who underwent biopsy of the cervix.

Ethics

Participants gave informed consent to participate in the study that was approved by the ethics committee of Barretos Cancer Hospital (Nº 244/2009).

Conflict of Interest

The BD Brazil supported part of the study with the SurePath™ collection kits and equipments. The study design, the screening of the slides and statistical analyzes were performed by professionals from the Barretos Cancer Hospital, independently.

RESULTS

From the total of 10,165 slides, 9,847 slides (96.9%) were qualified for revision and 318 cases (3.1%) were not classified by the FP (manual revision was suggested by the computer – quintile “99”)

The classification into quintiles of cases read by cytotechnologists’ automated arm was analyzed and the results are listed in Table 1. Most cases ASCUS + scored by cytotechnologists were classified in quintile 1; 90% and 33% of HSIL and adeno/squamous cell carcinoma were classified in quintiles 1 and 2, the remainder of the cases of adeno/squamous cell carcinoma were selected for screening of the entire slide. Cases of invasive carcinomas that were not selected in quintiles 1 and 2 were classified in quintile 5 without opening images (in our routine, we rename this quintile 99). Generally, quintile 99 represented cases where cellular changes are so numerous and so pleomorphic that the FP alerted to the fact that the slides should be fully reviewed by the observer.

The sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value were calculated from cases that had a biopsy of the cervix. Table 2 shows the results for cytotechnologists screening alone and the completed process screening that involves cytotechnologists screening and cytopathologists final result.

DISCUSSION

We evaluated the performance of classification into quintiles of FP for LBC slides read by cytotechnologists. The vast majority of the high grade lesions, as well as ASCUS+ alterations, were classified as quintile 1 or 2, which endorses the usefulness of FP for screening and for quality control tools. HSIL and carcinomas nor classified as quintile 1 or 2 were allocated to the quintile "99". All these results clearly show that the FP has an excellent discriminatory power to classify cases with cytological abnormalities.

The FP ranked in quintiles all slides that are within your standard screening (Review: slides which FP separates the images to read in GSs). This classification is according to the probability of abnormality pool of cells present in each slide analyzed. The quintile 1 is the highest probability of abnormality and quintiles 4 and 5 less likely.

The results of the classification into quintiles of FP in the present study correlated, in part, with the data of literature. In the study conducted by Parker et al⁷ 90% of HSIL and 83% of HSIL + (HSIL, AIS and carcinoma) were classified in quintiles 1 and 2. Wilbur et al⁸ evaluated 12,313 slides and found the 700 of 1,275 ASCUS + were classified in quintile 1, the HSIL + (HSIL, AIS and carcinoma) were 94.6% in the first two quintiles. These data are important to ratify the discriminatory power of the FP and reliability that can be expected of this system under routine conditions.

To evaluate the sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of automated and manual screening we used biopsy result as the gold standard. No statistical significance was found between the two screening methods, using criteria for CIN 2+ biopsies as a cutt-off for both arms, without cytopathologist revision and with cytopathologist revision. Even without a significant difference, however, the sensitivity was approximately 50% and specificity of approximately 80%, numbers that reflect the

performance of Pap cytology testing under standard conditions⁹ The cytotechnologists who participated in the study are experienced in detecting abnormalities in gynecologic cytology, which may explain the similarity of the results of the two screening techniques, and without cytopathologist interference. Moreover, it is known that a good screening method for cervical cancer should be efficient to detect those women who really have a cervical intraepithelial lesion, because one false positive can cause anxiety the patient and greater government spending on additional tests to detect cervical cancer, and the false negative generate a false sense of security that can lead to neglect of events that are critical for the woman's life¹⁰. The positive predictive value (PPV) is preferred to evaluate the screening test efficiency and in this study the PPV results were notably: the PPV performance for cytotechnologists ranged from 72.7% and 74.5% and 76.2% and 69.9% for cytopathologists in manual and automated screening respectively, using HSIL + cytological criteria.

The sensitivity and specificity of a technique can be calculated in several ways, using not always biopsy as the gold standard. In a study conducted in the UK with 73,266 slides SurePath™ and ThinPrep™, the technique of manual screening, automated with ThinPrep Imaging System™ and automated with FocalPoint™ GS Imaging System concluded that automated screening was 8% less sensitive than manual screening to NIC2+¹¹. Our results, however, are in agreement with the study in Finland, a country with an active National Program Tracking and rare cases of cervical cancer Antilla et al¹² also found no statistically significant differences between manual and automated screening. Another study in 2 large laboratories in Ontario had similarities with the current study. Colgan and colleagues compared the performance of FPGS and manual screening in 10,233 cases and found no differences between FPGS and manual screening performances in detecting LSIL+ (including

HSIL and invasive carcinomas) but they found higher rates false-negatives for LSIL and ASC-US in FPGS than with manual screening¹³.

Cengel et al¹⁴ compared SurePath slides in screening manual and automated and they concluded that the sensitivity of the automated method was better when it was used as the gold standard for manual screening (96%) than when used to biopsy of cervix (93%) as the gold standard. This is a unique way of evaluating the performance of a method, and can be subject to criticism. However, considering that manual tracing is used for decades in millions of annual tests, the premise of the work brought a new vision of how to evaluate the introduction of a new methodology. Already in an analysis of the implementation of FPGS in Connecticut, USA, slides in SurePath liquid medium read in the 16 months preceding the implementation of FPGS were used as the gold standard, there is an increase in the detection of ASCUS and LSIL with automated screening¹⁵. Even examined in a patient after radiation therapy was demonstrated in 302 cases prepared in liquid based ThinPrep™ high levels of satisfactory samples for screening with PPV 25% for LSIL, and 100% for carcinoma¹⁶.

With the advent of HPV vaccination is likely to decrease precancerous lesions due to decreased severe injuries. In this scenario, the low values of negative and positive predictive values of conventional cytology will be even more lower, which further complicate the recognition by cytotechnologist cellular changes that require a new logistics and new features such as automated screening combined with HPV test, to act with efficiency expected¹⁷.

Recently, Sweeney and Wilbur¹⁸ evaluated the BD FocalPoint utility for the cytotechnologists productivity. Because is very difficult to recruit and training new cytotechnologists and, the vaccine era will decrease the (already) low sensitivity of cytology (because it is presumed that high-grade abnormalities will diminish), FPGS could help

improve workload without decline the quality of results. The authors found that productivity after implementation of FPGS increased gradually with period of implementation¹⁵.

At the best of our knowledge, this is the first study in South America that demonstrates the utility of Focalpoint in cytological screening. Even without major differences between the automated and manual screening, the use of FP in the daily routine of a cytology laboratory is valuable, as well as help to avoid possible false results in routine screening, especially in centers where the cytotechnologist's workload is high (80 to 100 slides per day); resources assessed are also suitable as an excellent option for internal quality control overcoming the current system proposed by Brazilian health authorities that indicates the revision of all ASC-US+, unsatisfactory smears and 10% of negative cases. Although important, this system of quality control leaves aside the causes that give rise to false negative results passing off this serious problem checking, only 10% of patient samples selected within a given period.

The use of FP has shown that it can prevent that false HSIL+ negative cases be released, with the possibility to be correct in real time, reducing diagnostic distortions. Identifying errors and their causes, offers the possibility of a continuous education process where internal control is just one more element in the role of quality assurance in cytology.

REFERENCES

1. INCA. Estimativa 2012 Rio de Janeiro 2012. Available from: <http://www1.inca.gov.br/estimativa/2012/mapa.asp?ID=5>.
2. INCA. Brazilian Cervical Cancer Screening Guidelines. Rio de Janeiro 2011.
3. Felipe JS, Temporão JG, Silva LA, Mendonça GA, Parada R. Nomenclatura brasileira para laudos cervicais e condutas preconizadas. 2 ed. Rio de Janeiro 2006.
4. Elsheikh TM, Kirkpatrick JL, Fischer D, Herbert KD, Renshaw AA. Does the time of day or weekday affect screening accuracy? A pilot correlation study with cytotechnologist workload and abnormal rate detection using the ThinPrep Imaging System. *Cancer Cytopathol.* 2010 Feb 25;118(1):41-6.
5. Cibas ES. Cervical and Vaginal Citology. In: Cibas ES, Ducatman BS, editors. *Cytology: Diagnostic Principles and Clinical Correlates*. Edinburgh: Saunders; 2003. p. 52-4.
6. Passamonti B, Bulletti S, Camilli M, D'Amico MR, Di Dato E, Gustinucci D, et al. Evaluation of the FocalPoint GS system performance in an Italian population-based screening of cervical abnormalities. *Acta Cytol.* 2007 Nov-Dec;51(6):865-71.
7. Parker EM, Foti JA, Wilbur DC. FocalPoint slide classification algorithms show robust performance in classification of high-grade lesions on SurePath liquid-based cervical cytology slides. *Diagn Cytopathol.* 2004 Feb;30(2):107-10.
8. Wilbur DC, Black-Schaffer WS, Luff RD, Abraham KP, Kemper C, Molina JT, et al. The Becton Dickinson FocalPoint GS Imaging System: clinical trials demonstrate significantly improved sensitivity for the detection of important cervical lesions. *Am J Clin Pathol.* 2009 Nov;132(5):767-75.

9. Franco EL, Cuzick J. Cervical cancer screening following prophylactic human papillomavirus vaccination. *Vaccine*. 2008 Mar 14;26 Suppl 1:A16-23.
10. Saslow D, Solomon D, Lawson HW, Killackey M, Kulasingam SL, Cain J, et al. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer. *CA Cancer J Clin*. 2012 May-Jun;62(3):147-72.
11. Kitchener HC, Blanks R, Cubie H, Desai M, Dunn G, Legood R, et al. MAVARIC - a comparison of automation-assisted and manual cervical screening: a randomised controlled trial. *Health Technol Assess*. 2011 Jan;15(3):iii-iv, ix-xi, 1-170.
12. Anttila A, Pokhrel A, Kotaniemi-Talonen L, Hakama M, Malila N, Nieminen P. Cervical cancer patterns with automation-assisted and conventional cytological screening: a randomized study. *Int J Cancer*. 2011 Mar 1;128(5):1204-12.
13. Colgan TJ, Bon N, Clipsham S, Gardiner G, Sumner J, Walley V, McLachlin CM. A validation study of the FocalPoint GS imaging system for gynecologic cytology screening. *Cancer Cytopathol*. 2013 Jan 29. doi: 10.1002/cncy.21271.
14. Cengel KA, Day SJ, Davis-Devine S, Adams CL, Madison-Hennes D, Hartman ME, et al. Effectiveness of the SurePath liquid-based Pap test in automated screening and in detection of HSIL. *Diagn Cytopathol*. 2003 Nov;29(5):250-5.
15. Levi AW, Chhieng DC, Schofield K, Kowalski D, Harigopal M. Implementation of FocalPoint GS location-guided imaging system: experience in a clinical setting. *Cancer Cytopathol*. 2012 Apr 25;120(2):126-33.
16. Wright JD, Herzog TJ, Mutch DG, Gibb RK, Rader JS, Davila RM, et al. Liquid-based cytology for the postirradiation surveillance of women with gynecologic malignancies. *Gynecol Oncol*. 2003 Oct;91(1):134-8.

17. Evans KK, Tambouret RH, Evered A, Wilbur DC, Wolfe JM. Prevalence of abnormalities influences cytologists' error rates in screening for cervical cancer. *Arch Pathol Lab Med.* 2011 Dec;135(12):1557-60.
18. Sweeney BJ, Wilbur DC. Effects on Cervical Cytology Screening Productivity Associated with Implementation of the BD FocalPoint™ Guided Screener Imaging System. *Acta Cytol.* 2013;57(2):147-52.

TABLES

Table 1 - Focalpoint classification according to the quintiles distribution.

Quintile	Negative (%)	ASCUS (%)	ASC-H (%)	Focalpoint Cytological Diagnoses					Total
				LSIL (%)	HSIL (%)	Adeno/CEC (%)	AGC (%)		
1	1516 (16,3)	59 (55,7)	74 (64,9)	115 (72,8)	101 (84,2)	0	6 (46,2)	1871 (19,0)	
2	1809 (19,4)	24 (22,6)	16 (14,0)	23 (14,6)	7 (5,8)	1 (33,3)	2 (15,4)	1882 (19,1)	
3	1891 (20,3)	9 (8,5)	10 (8,8)	11 (7,0)	3 (2,5)	0	1 (7,7)	1925 (19,6)	
4	1889 (20,2)	6 (5,7)	6 (5,3)	4 (2,5)	2 (1,7)	0	2 (15,4)	1909 (19,4)	
5	1814 (19,4)	1 (0,9)	5 (4,4)	2 (1,3)	0	0	0	1822 (18,5)	
99*	410 (4,4)	7 (6,6)	3 (2,6)	3 (1,9)	7 (5,8)	2 (66,7)	2 (15,4)	434 (4,4)	
Total	9329 (100)	106 (100)	114 (100)	158 (100)	120 (100)	3 (100)	13 (100)	9843 (100)	

Table 2- Accuracy of manual and automated cytology reading to predict CIN2/3+ (biopsy) using HSIL+ as the cytological criterion.

Cytological Cut-off: HSIL + Biopsy: NIC2 +		Manual screening		Computer-assisted screening		
		%	(IC95%)	%	(IC95%)	
		N = 337		N = 337		
Without cytopathologist review	Sensitivity	52,8	(44,8 – 60,7)	45,3	(37,5 – 53,4)	
	Specificity	81,8	(75,3 – 87,2)	85,8	(79,8 – 90,6)	
	Positive value	predictive	72,7	(63,6 – 80,5)	74,5	(64,7 – 82,8)
	Negative value	predictive	65,5	(58,8 – 71,7)	63,2	(56,2 – 69,3)
	AUC (ROC curve) (*1)		0,67	(0,62 – 0,72)	0,66	(0,60 – 0,71)
		N = 337		N = 334		
With cytopathologist review	Sensitivity	59,6	(51,6 – 67,3)	60,4	(52,3 – 68,0)	
	Specificity	83,0	(76,6 – 88,2)	76,0	(69,0 – 82,1)	
	Positive value	predictive	76,2	(67,8 – 83,3)	69,6	(61,2 – 77,1)
	Negative value	predictive	69,2	(62,5 – 75,4)	67,9	(60,8 – 74,3)
	AUC (ROC curve) (*2)		0,71	(0,66 – 0,76)	0,68	(0,63 – 0,73)
HSIL+:	LSIL +, adenocarcinoma in situ, carcinoma invasor.					
CIN2+:	CIN2, CIN3, adenocarcinoma in situ, carcinoma invasor.					
AUC:	Area under curve					
(*1)	Comparison of Manual and computer-assisted screening AUCs : P = 0,469.					
(*2)	Comparison of Manual and computer-assisted screening: P = 0,212.					

