

DANIELLE DE ARAÚJO CRUZ OLIVEIRA

IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE RASTREIO DO CANCRO DO COLO
DO ÚTERO COM BASE NA DETECÇÃO DO VÍRUS HPV: PREPARAÇÃO DE
UMA PROPOSTA PARA DETECÇÃO DO VÍRUS HPV ATRAVÉS DE TÉCNICAS
DE BIOLOGIA MOLECULAR

UNIVERSIDADE FERNANDO PESSOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

PORTO, 2013

DANIELLE DE ARAÚJO CRUZ OLIVEIRA

IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE RASTREIO DO CANCRO DO COLO
DO ÚTERO COM BASE NA DETECÇÃO DO VÍRUS HPV: PREPARAÇÃO DE
UMA PROPOSTA PARA DETECÇÃO DO VÍRUS HPV ATRAVÉS DE TÉCNICAS
DE BIOLOGIA MOLECULAR

UNIVERSIDADE FERNANDO PESSOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

PORTO, 2013

DANIELLE DE ARAÚJO CRUZ OLIVEIRA

IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE RASTREIO DO CANCRO DO COLO
DO ÚTERO COM BASE NA DETECÇÃO DO VÍRUS HPV: PREPARAÇÃO DE
UMA PROPOSTA PARA DETECÇÃO DO VÍRUS HPV ATRAVÉS DE TÉCNICAS
DE BIOLOGIA MOLECULAR

O Aluno

Monografia apresentada à Universidade Fernando Pessoa
como requisito para obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas

Resumo

Apoiando-se no princípio de que a detecção do HPV possa apresentar um diagnóstico clínico mais reprodutível e adequado que a citologia convencional, o uso de testes de biologia molecular tornou-se uma potencial ferramenta a ser incorporada nos programas de rastreio do cancro do colo útero. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a sensibilidade e a especificidade de testes de biologia molecular, quanto a sua utilização em rastreios primários para detecção do papiloma vírus humano (HPV) em lesões intraepiteliais grau 3 ou maior, em mulheres acima dos 30 anos e traçar uma proposta de método de rastreio. A pesquisa na literatura médica foi conduzida em duas etapas: a primeira consistiu na busca por estratégias e recomendações de programas de rastreio, e a segunda por artigos publicados nos últimos cinco anos, no Pubmed e Science Direct, sendo selecionados aqueles que se adequaram aos critérios de seleção. A sensibilidade e a especificidade foram extraídas, conforme os resultados disponibilizados nos estudos. Estudos recentes sugerem que a complementação de testes que detectam a presença de HPV para os tipos oncogénicos à citologia, melhora a eficiência dos rastreios do cancro do colo do útero pelo aumento da sensibilidade e dos valores preditivos negativos para lesões grau 3/+. O que vem possibilitar um maior intervalo entre os rastreios e que a quantidade de casos referidos à colposcopia possa ser reduzida. A utilização de testes para detecção do DNA-HPV associadas à citologia e aplicados em mulheres a partir dos 30 anos, poderia resultar na melhoria da detecção das lesões cervicais, com consequentemente diminuição da incidência e mortalidade do cancro do colo do útero.

Palavras-chave: HPV, captura híbrida, PCR, Lesão intraepitelial.

Abstract

Relying on the principle that the detection of HPV can provide a more reproducible clinical diagnosis and proper for conventional cytology, the use of molecular biology tests become a potential tool to be incorporated in screening programs for cervical cancer. The objective of this study was to evaluate the sensitivity and specificity of molecular biology tests, as its use in primary screening for the detection of human papilloma virus (HPV) in intraepithelial lesions grade 3 or greater in women over 30 years and draw a proposed screening method. The research in the medical literature was conducted in two stages: the first consisted in the search for strategies and recommendations for screening programs, and the second by articles published in the last five years in Pubmed and Science Direct, and selected those that suited the criteria for selection. The sensitivity and specificity were extracted, according to the results available in the studies. Recent studies suggest that supplementary tests that detect the presence of oncogenic HPV types for cytology, improves the efficiency of cancer screening cervical cancer by increasing the sensitivity and negative predictive values for lesions grade 3 / +. What comes enabling a longer interval between the traces and the number of cases referred to a colposcopy may be reduced. The use of DNA testing for HPV-associated cytological and applied in women from the age of 30 could result in improved detection of cervical lesions, with subsequent decline in the incidence and mortality of cancer of the cervix.

Keywords: HPV, Hybrid Capture 2, PCR, intraepithelial lesion.

Dedicatória

Dedico esta, bem como todas as minhas demais conquistas, aos meus amados pais, marido e irmãos.

Agradecimentos

A Deus por ter iluminado-me em mais uma jornada.

Agradeço ao meu esposo, que de forma especial e carinhosa me deu força e coragem, me apoiando em todos os momentos.

A minha família, que mesmo distantes foram o meu maior estímulo para mais uma conquista.

Ao Professor Rui Medeiros, pelo convívio, pelo apoio, pela compreensão e pela amizade meu mais sincero agradecimento, não podendo deixar de dizer o quanto o admiro como profissional, como simpatia em pessoa...

Aos colegas de curso que bem me receberam, que se tornaram amigos e que hoje fazem parte do meu convívio.

Índice Geral

| | |
|---|-----------|
| I Introdução | 1 |
| 1.1 Aspectos Gerais | 1 |
| 1.2 O cancro do colo do útero..... | 3 |
| 1.3 Medidas de Diagnóstico | 6 |
| II Objetivos..... | 8 |
| 2.1 Objetivo Geral | 8 |
| 2.2 Objetivos Específicos | 8 |
| III Métodos..... | 9 |
| 3.1 Pesquisa por propostas/estratégia de rastreio primário – 1ª etapa..... | 9 |
| 3.2 Identificação e seleção dos estudos – 2ª etapa..... | 9 |
| 3.2.1 Seleção dos estudos..... | 9 |
| 3.2.2 Avaliação da qualidade metodológica..... | 12 |
| 3.2.3 Extração e processamento dos dados | 13 |
| IV Resultados | 14 |
| 4.1 Pesquisa por propostas/estratégias de rastreio primário – 1ª etapa | 14 |
| 4.2 Identificação e Seleção dos estudos incluídos – 2ª etapa | 16 |
| 4.2.1 Extração e processamento dos dados | 18 |
| 4.2.2 Avaliação da Qualidade Metodológica | 24 |
| 4.2.3 Curva ROC | 24 |
| V Discussão..... | 27 |
| 5.1 Avaliação das recomendações de rastreio | 27 |
| 5.2 Avaliação dos estudos | 30 |
| 5.3 Proposta de implementação de um sistema de rastreio para o cancro do colo do útero..... | 36 |

Implementação de um sistema de rastreio do cancro do colo do útero com base na detecção do vírus HPV.

| | |
|---|-----------|
| VI Conclusão | 38 |
| VII Referências Bibliográficas | 41 |
| 8 Anexos..... | 48 |

Índice de Tabelas

| | |
|---|----|
| Tabela I: Perguntas para a avaliação da qualidade dos estudos. | 12 |
| Tabela II: Recomendações para rastreios cervicais. Países do continente americano. | 14 |
| Tabela III: Recomendações para rastreios cervicais. Países da Europa. | 15 |
| Tabela IV: Características dos estudos incluídos na revisão..... | 19 |
| Tabela V: Valores de sensibilidade e especificidade dos testes realizados com a técnica de captura..... | 20 |
| Tabela VI: Valores de sensibilidade e especificidade dos testes realizados com a técnica de PCR. | 21 |
| Tabela VII: Valores de sensibilidade e especificidade das citologias com seus diferentes limiares de detecção de acordo com os resultados reportados pelos estudos incluídos. | 22 |
| Tabela VIII: Recomendação dos autores dos estudos selecionados quanto aos rastreios cervicais..... | 23 |

Índice de Figuras

| | |
|--|----|
| Figura I: Modelo de Progressão do cancro cervical..... | 4 |
| Figura II: Esquema do processo de seleção dos estudos | 16 |
| Figura III: Resumo da avaliação da qualidade dos estudos..... | 24 |
| Figura IV: Valores de VP, FP, FN e VN de acordo com os estudos e respectivos valores de sensibilidade e especificidade.. | 25 |
| Figura V: Curva ROC | 26 |
| Figura VI: Estratégia de rastreio primário contra o cancro cervical: Combinação de citologia cervical e teste de DNA HPV adaptado de Wright et al., 2004..... | 38 |

I Introdução

1.1 Aspectos Gerais

Atualmente o cancro do colo do útero é o terceiro tipo de cancro mais incidente entre as mulheres em todo o mundo, com uma estimativa de 530.000 casos no ano de 2008. Mais de 85% de todos os casos ocorrem em países em desenvolvimento, sendo que este representa 13% de todos os tipos de cancro que acometem as mulheres (Globocan, 2008).

A infecção pelo vírus do HPV (Papilomavírus humano) é considerada a doença de transmissão sexual mais distribuída na população em geral, sendo estimado que entre 50 e 75% desta população sexualmente ativa irá adquirir o vírus alguma vez na vida (Genuis e Genuis, 2004).

Em Portugal, a incidência do cancro do colo do útero apresenta ainda valores relativamente elevados em comparação com os outros países da Europa Ocidental. No entanto, o perfil dos HPV detectados e a relevância dos cofatores associados seguem um padrão semelhante aos restantes países da Europa (Medeiros et al., 2005, Matos et al., 2005).

O cancro do colo do útero está intimamente associado à infecção por vírus da família *Papillomaviridae*, o papiloma vírus humano (HPV) (Akers et al., 2007). Embora a infecção do colo uterino por tipos HPV de alto risco seja necessária para a progressão do desenvolvimento do cancro do colo do útero, a maioria das infecções são consideradas passageiras com resolução espontânea dentro do período de um ano (Rebolj et al., 2011).

Na década de 1950 surgiram nos Estados Unidos os primeiros programas de rastreio de cancro do colo do útero, posteriormente, no ano de 1959, a Europa inicia seus primeiros rastreios, e a partir de então com a constatação de que o cancro do colo do útero se

Implementação de um sistema de rastreio do cancro do colo do útero com base na detecção do vírus HPV.

tratava de um problema de saúde pública, países de todo o mundo passaram a implementar programas semelhantes. Os rastreios passaram então a ser uma medida de prevenção e controle do cancro cervical através da citologia esfoliativa cérvico-vaginal, conhecida por teste de Papanicolau (Teixeira et al., 2011).

Estudos epidemiológicos têm demonstrado que países que implementaram programas de rastreio visando a detecção do colo do útero apontam que a incidência de cancro cervical tem diminuído consideravelmente (Modinou et al., 2010)

A associação do risco do cancro cervical à infecção pelo HPV de alto risco tem sido estabelecida por numerosos estudos epidemiológicos e moleculares ao longo dos anos. Atualmente há cerca de 15 subtipos classificados como vírus de alto risco para o desenvolvimento do cancro cervical e cerca de 12 subtipos classificados como de baixo risco. Dentre os de alto risco, o HPV16 e 18 estão relacionados com 70% dos casos de cancro cervical (Burger et al., 2011).

O cancro do colo do útero se desenvolve em fases de lesões pré-cancerosas, denominadas neoplasias intraepiteliais, causadas por papilomas vírus potencialmente oncogénicos, ou seja, que têm capacidade de induzir neoplasia. A utilização de técnicas para rastreio, como o teste de Papanicolau, o qual emprega a citologia esfoliativa, permite a prevenção à medida que detecta precocemente lesões do epitélio cervical, possibilitando assim o tratamento da lesão a fim de evitar a progressão para o cancro (Modinou et al., 2010).

O potencial valor do teste de detecção do HPV de alto risco em programas de rastreio tem levado ao desenvolvimento e a inserção no mercado de técnicas cada vez mais valiosas para auxiliar o diagnóstico clínico de lesões cervicais. Estudos randomizados têm mostrado que a detecção do HPV de alto risco, é uma importante ferramenta para o rastreio cervical embora a especificidade deste teste para detectar lesões intraepiteliais de grau 2 ou mais graves, seja 6% mais baixa que a citologia cervical, e tenha uma sensibilidade em torno dos 95% (Meijer et al., 2009).

1.2 O cancro do colo do útero

As infecções de mucosas pelo HPV podem ser causadas por subtipos considerados de alto ou baixo risco para desenvolvimento de neoplasias. As infecções provocadas por tipos de baixo risco geralmente desenvolvem neoplasias benignas, como verrugas e condilomas. No entanto as infecções provocadas por subtipos de alto risco podem evoluir para neoplasia com malignidade, ou seja, uma futura progressão para o cancro cervical (Conway e Meyers, 2009).

O cancro cervical surge na zona de transformação na cérvix uterina, processo que se dá pela metaplasia do epitélio glandular até o epitélio escamoso. A infecção, a maturação e replicação das partículas virais ocorrem no epitélio escamoso estratificado das mucosas. A absorção para a camada basal ocorre através de uma interação complexa entre os vírions e os queratinócitos basais possivelmente quando há microabrasões da superfície epitelial, fazendo assim com que todo o ciclo de vida do vírus esteja relacionado com a diferenciação dos queratinócitos. Os vírus de baixo risco para carcinogénese completam a diferenciação e produção de partículas virais maduras. Os vírus oncogénicos são capazes de produzir proteínas que diminuem a tolerância imunitária, induzindo ao processo neoplásico (Wain, 2010).

A infecção é muito comum em mulheres jovens, geralmente ocorre no início de suas atividades sexuais, e persiste promovendo um descontrolo do ciclo celular devido à presença de oncoproteínas virais, e assim desencadeando uma neoplasia intraepitelial cervical (NIC) (Cuzick et al., 2008).

A progressão até o surgimento do cancro cervical normalmente leva alguns anos, o que permite a prevenção e acompanhar a evolução de infecções persistentes. A incidência da infecção pelo HPV ocorre em mulheres com uma média de idade em torno dos 20 anos, o pico de incidência/detecção em torno dos 30 anos apresentando grau de lesão intraepitelial 3 (NIC 3), e o pico de incidência do cancro por volta dos 40 anos (figura I). A forte relação causal entre infecções persistentes do colo uterino com HPV de alto risco e o surgimento do cancro nesta zona, levou ao desenvolvimento de técnicas de

Implementação de um sistema de rastreio do cancro do colo do útero com base na detecção do vírus HPV.

rastreio que fossem capazes de detectar a presença de vírus potencialmente oncogénicos através da biologia molecular (Cuzick et al., 2008).

O tipo de HPV determinará do ponto de vista clínico as consequências da infecção. A identificação de infecções persistentes, ou seja, aquelas que não regridem espontaneamente, estão mais predispostas a provocarem alterações celulares, e são estas infecções que os testes baseados em técnicas de biologia molecular como a Captura Híbrida 2 e o PCR (Polymerase Chain Reaction) visam identificar (Burger et al., 2011).

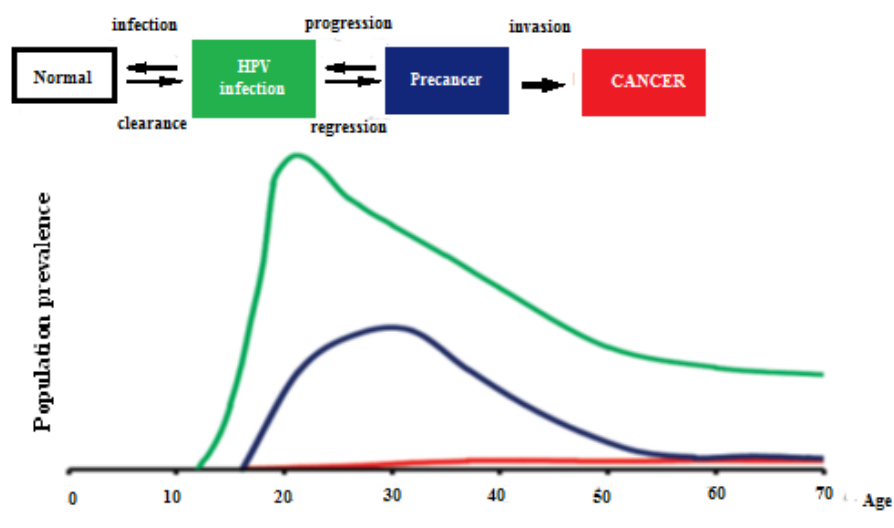


Figura I: Modelo de Progressão do cancro cervical. Adaptado Schiffman et al., 2011.

O HPV é um vírus que não pode ser cultivado *in vitro*, e isto levou ao avanço de técnicas para detectá-lo, quer pela visualização dos efeitos citopáticos, que podem ser observados pela citologia cervical, como: coilocitose, hiper cromasia do núcleo, binucleações, etc., quer pela detecção da presença de vírus considerados de alto risco com técnicas de biologia molecular, por hibridização através de sondas ou amplificação de cadeias de DNA (Nishino et al., 2011).

O aprimoramento de técnicas com base na pesquisa do DNA e RNA viral, foi muito importante para a apresentação de novas propostas de rastreio e o acompanhamento e

monitorização das lesões pré-neoplásicas. Recentemente, a aplicação das novas tecnologias de detecção molecular do HPV em rastreios primários concomitantes com outras técnicas como a citologia cérvico-vaginal (vulgarmente conhecida como teste de Papanicolau) tem possibilitado o diagnóstico de lesões que inicialmente não foram visualizadas por colposcopia. Mais ainda, estas tecnologias têm permitido a triagem e acompanhamento de mulheres com lesões de alto grau submetidas a tratamentos para verificação da eficácia terapêutica (Cuzick et al., 2008).

Os métodos de ensaio mais amplamente utilizados incluem a Captura Híbrida 2 (CH2) e a reação em cadeia polimerase (PCR) (Anexos A e B). A captura híbrida 2 tem sido considerada um método analítico de sensibilidade semelhante a algumas técnicas de PCR para a detecção de lesões intraepiteliais de alto grau e carcinoma cervical (Castle et al., 2003). Na avaliação do seu desempenho em análises laboratoriais tem mostrado ser um teste confiável e reprodutível, características fundamentais para que um teste tenha um grande potencial de utilização (Sandri et al., 2006).

A técnica considerada padrão de referência para o diagnóstico de lesão intraepitelial de alto grau é a avaliação histológica. A biópsia assistida através de colposcopia permite fazer a confirmação do diagnóstico definitivo antes de começar o tratamento. Através desta técnica é possível visualizar de forma amplificada os epitélios do colo uterino, vagina e vulva, identificando lesões invasivas suspeitas e assim a partir dessas regiões identificadas fazer a colheita de amostras para a avaliação histológica (Manual de procedimentos do rastreio do cancro do colo do útero, 2009).

A captura Híbrida 2 geralmente no primeiro rastreio é capaz de detectar mais de 90% de todas as lesões intraepiteliais de grau 2 e grau 3 ou carcinoma (NIC3+). Comparando-a à citologia, é 25% mais sensível na detecção de lesões com significado indeterminado (ASCUS) ou as de baixo grau. Por outro lado a especificidade é 6% mais baixa, o que pode ser atribuída às infecções passageiras (Cuzick et al., 2008).

1.3 Medidas de Diagnóstico

De acordo com Simundic (2012) a acurácia de um diagnóstico está relacionada com a capacidade de um determinado teste distinguir entre a presença ou ausência de doença no indivíduo testado. Esta distinção pode ser feita através de medidas de diagnóstico como: sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivos (VPP) e negativos (VPN), razão de verossimilhança e área da curva ROC. As medidas básicas para quantificar a acurácia de um teste diagnóstico são a sensibilidade e especificidade. Como medidas consideradas igualmente importantes para a avaliação de um teste, os seus respectivos valores são reportados conjuntamente (Weinstein et al., 2005).

A avaliação da acurácia de um método de diagnóstico clínico é importante por duas razões: (1) para dar uma informação confiável sobre o estado de saúde do paciente; (2) o método poderá influenciar na condução do tratamento.

i. Sensibilidade

A sensibilidade é uma medida que permite fazer uma avaliação do resultado de um teste diagnóstico que ao ser submetido a um paciente que sabidamente está doente, será capaz de detectar a doença. Os verdadeiros positivos (VP) são aqueles pacientes que têm a doença e ao fazer o teste de diagnóstico, este apresenta resultado positivo. Os falsos negativos (FN) representam aqueles pacientes que têm a doença mas o teste de diagnósticos foi negativo (Lalkhen e McCluskey, 2008).

Sensibilidade = Verdadeiros Positivos / Verdadeiros Positivos + Falsos Negativos

ii. Especificidade

A especificidade vai revelar a capacidade que o teste tem em identificar se o indivíduo não possui a doença sabendo-se que ele não está doente. Os verdadeiros negativos (VN) representam aqueles pacientes que não estão doentes e que possuem teste negativo. Os

Implementação de um sistema de rastreio do cancro do colo do útero com base na detecção do vírus HPV.

falsos positivos (FP) representam os pacientes que tiveram teste positivo mas não estão doentes (Langlotz, 2003).

Especificidade = $\text{Verdadeiros Negativos} / \text{Verdadeiros Negativos} + \text{Falsos Positivos}$

iii. Curva Roc

A curva ROC (Receiver Operating Characteristic) representa graficamente os valores da sensibilidade e especificidade de um teste de diagnóstico, e assim, permite avaliar o melhor ponto de corte, ou seja, o valor limiar de detecção para um teste diagnóstico. Um teste com bom poder discriminatório concentra-se no canto superior esquerdo. A medida que a sensibilidade aumenta (diminuição do ponto de corte), há pouca ou nenhuma perda da especificidade, até que níveis mais altos sejam alcançados. A acurácia global de um teste é representada como a área sob a curva ROC, ou seja, quanto maior a área, melhor o teste (Amaral, 2007).

II Objetivos

2.1 Objetivo Geral

O objetivo do presente estudo é avaliar a sensibilidade e especificidade de métodos baseados em técnicas de biologia molecular, como PCR e captura híbrida, na detecção da presença do Papiloma vírus humano em mulheres com idade igual ou superior a 30 anos, que apresentam lesões intraepiteliais classificadas histologicamente com grau 3 ou maior (NIC 3/+), e traçar uma proposta de método de rastreio.

2.2 Objetivos Específicos

- i. Identificar, após revisão da literatura científica, propostas/recomendações de utilização do teste de detecção de HPV no rastreio do cancro do colo do útero;
- ii. Identificar através de pesquisa bibliográfica estudos que mencionem valores de sensibilidade e especificidade de testes de biologia molecular, restritamente às técnicas de Captura Híbrida e PCR, em rastreios realizados em mulheres com idade igual ou superior a 30 anos diagnosticadas com NIC 3/+;
 - ii.a) Selecionar os estudos de acordo com os critérios de inclusão e exclusão propostos por este trabalho;
 - ii.b) Submeter os estudos escolhidos à avaliação metodológica por meio de um questionário (QUADAS) para verificação de vieses;
 - ii.c) Coletar os valores de sensibilidade e especificidade dos estudos selecionados e avaliar os resultados obtidos;
- iii. A partir da avaliação das atuais recomendações de programas de rastreios e dos resultados obtidos de sensibilidade e especificidade destas técnicas apresentar uma proposta de implementação de um sistema de rastreio primário do cancro do colo do útero.

III Métodos

A pesquisa bibliográfica foi dividida em duas etapas. A primeira consistiu na pesquisa de propostas/estratégias e programas atualmente existentes quanto a recomendações para a realização do rastreio primário. A segunda etapa consistiu na pesquisa de estudos que apontassem valores de sensibilidade e especificidade de testes de biologia molecular, restritas às técnicas de Captura Híbrida e PCR, para detectar lesões grau 3 ou maior (NIC 3/+), em mulheres com idade igual ou superior a 30 anos ao realizar o rastreio primário.

3.1 Pesquisa por propostas/estratégia de rastreio primário – 1ª etapa

Foram pesquisados artigos com estratégias e recomendações dos programas de rastreio de alguns países do continente americano e da Europa. A pesquisa foi feita no Pubmed com os seguintes termos: *cervical cancer screening strategies*; e em sites governamentais.

3.2 Identificação e seleção dos estudos – 2ª etapa

3.2.1 Seleção dos estudos

i. Pesquisa Eletrónica

A fim de seleccionar os estudos foi realizada uma ampla pesquisa da literatura médica, incluindo estudos publicados entre janeiro de 2008 e dezembro de 2012, em língua inglesa na Medline e Science Direct. Para estratégia da pesquisa foram utilizados os termos: "*hpv primary screening sensitivity specificity*" (Pubmed), "*primary screening*

Implementação de um sistema de rastreio do cancro do colo do útero com base na detecção do vírus HPV.

HPV testing" (Science Direct) e filtros para limitar e especificar a busca. Para a pesquisa na Medline foram utilizados como filtros o período de publicação (2008-2012) e língua inglesa". No Science Direct os filtros de busca foram para artigos publicados em jornais nos últimos cinco anos como os seguintes tópicos: cervical cancer, HPV DNA, HPV testing, CIN, hrHPV.

ii. Outras fontes

A pesquisa ainda foi efetuada através de busca manual a partir de títulos de referências bibliográficas citadas nos artigos encontrados, e selecionadas conforme a relevância.

iii. Tipos de estudos

Os estudos incluídos não foram discriminados quanto a tipologia ou desenho do estudo. Foram considerados como critérios de seleção os estudos que apresentassem valores de sensibilidade e especificidade dos testes de biologia molecular realizados, por meio de técnicas de captura híbrida e/ou PCR, em que posteriormente diante dos casos positivos os mesmos fossem referidos à colposcopia e biópsia para confirmação da presença e extensão da lesão. Sendo assim as lesões consideradas grau 3, carcinoma *in situ*, carcinoma invasor (NIC 3/+), de acordo a classificação de Richart, foram escolhidas como *end point* de interesse para este trabalho. As lesões classificadas como NIC 3/ + foram escolhidas como confirmação clínica porque têm mostrado ser um diagnóstico válido e reprodutível para a confirmação de lesões pré-cancerosas e cancerosas.

iv. Critérios de inclusão

Foram aplicados como critérios de inclusão dos estudos as seguintes características: (1) o estudo deveria ser randomizado em que utilizasse no rastreio primário técnicas de detecção vírus do HPV por meio das técnicas de Captura Híbrida ou PCR; (2) doença e grau de lesão confirmada por biópsia; (3) a idade das participantes deveria ser maior ou igual a 30 anos; (4) o resultado dos estudos deveria apresentar valores de especificidade e sensibilidade dos testes baseados na detecção da presença do vírus para lesão NIC 3/+, ou que assim pudessem ser computados

Implementação de um sistema de rastreio do cancro do colo do útero com base na detecção do vírus HPV.

v. Critérios de exclusão

Foram excluídos os estudos que: (1) tivessem títulos não condizentes ou irrelevantes aos termos aplicados; (2) não reportassem valores de sensibilidade e especificidade exclusivaente para lesões NIC3/+; (3) estudos que não apresentassem os resultados estratificando a idade estabelecida pelo critério de inclusão; (4) incluíssem participantes grávidas, hysterectomizadas, imunossuprimidas ou com diagnóstico prévio de cancro cervical.

vi. Participantes

A população alvo inclui mulheres com idade igual ou superior a 30 anos que foram submetidas ao rastreio primário por meio de técnicas de biologia molecular associadas ou não a outras técnicas.

vii. Testes a serem avaliados

Os testes de biologia molecular considerados na avaliação dos estudos e selecionados de acordo com critério de inclusão utilizaram as técnicas de PCR e Captura Híbrida associados ou não à citologia.

viii. Padrão de referência

Foram considerados os artigos que, nos casos positivos na citologia e na pesquisa do DNA do HPV, indicavam a confirmação do diagnóstico clínico para a presença de lesão intraepitelial cervical, com colposcopia seguida de biópsia, já que são consideradas “padrão referência”,

3.2.2 Avaliação da qualidade metodológica

i. QUADAS

Para fazer a verificação de vieses foi aplicada uma ferramenta bastante difundida na literatura científica que é utilizada para avaliação da qualidade de estudos de validação de testes diagnósticos, o Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies (QUADAS), o qual é composto por 14 perguntas (Oliveira et al, 2011 e Whiting et al., 2003).

Das 14 perguntas que compõem o questionário do QUADAS, foram utilizadas 13 para se fazer a *checklist*, as quais abordam os seguintes tópicos na tabela I.

Tabela I: Perguntas para a avaliação da qualidade dos estudos.

| |
|--|
| 1. O espectro de pacientes foi representativo dos pacientes que receberão o teste na rotina? |
| 2. Os critérios de seleção foram claramente descritos? |
| 3. O período entre a aplicação do padrão-ouro e o teste em avaliação foi curto o suficiente para que se tenha segurança de que não houve mudanças no estado de saúde do indivíduo testado? |
| 4. O padrão de referência escolhido é capaz de detectar a doença corretamente? |
| 5. A amostra total ou uma subamostra randomizada realizou o diagnóstico pelo padrão ouro? |
| 6. Os pacientes receberam o mesmo teste como padrão-ouro, independente do resultado obtido pelo teste em avaliação? |
| 7. O teste avaliado não faz parte do teste padrão ouro? |
| 8. A execução do teste em avaliação foi descrita com suficientes detalhes, permitindo a sua replicação? |
| 9. A execução do teste padrão-ouro foi descrita com suficientes detalhes, permitindo a sua replicação? |
| 10. Os resultados do teste em avaliação foram interpretados sem o conhecimento dos resultados do teste padrão-ouro? |
| 11. Os resultados indefinidos ou intermediários dos testes foram relatados? |
| 12. As perdas do estudo foram explicadas? |
| 13. Os resultados do teste padrão-ouro foram interpretados sem o conhecimento dos resultados do teste em avaliação? |

Implementação de um sistema de rastreio do cancro do colo do útero com base na detecção do vírus HPV.

Baseando-se em critérios de estudos anteriores, determinou-se que os estudos que apresentassem uma pontuação acima de 50% pela atribuição a respostas “sim”, seriam considerados de boa qualidade.

3.2.3 Extração e processamento dos dados

Dos estudos elaborados através de ensaios clínicos randomizados, os valores considerados foram aqueles obtidos do grupo de intervenção que tiveram resultados positivos para o teste de pesquisa do DNA alvo, ou seja, para o HPV, e que tiveram confirmação com biópsia guiada por colposcopia, nos casos referidos.

i. Análise e coleta dos dados

A coleta de informações baseou-se na avaliação dos estudos quanto aos valores de especificidade e sensibilidade dos testes de biologia molecular executados mediante à confirmação dos resultados referidos à biópsia para diagnóstico de NIC3/+, na faixa etária estabelecida pelo critério de inclusão. Nos estudos em que não foram revelados os valores de sensibilidade e especificidade, estes foram manualmente calculados, o que é o caso do estudo de Rijkaart et al, 2012.

Em cada estudo foram extraídas informações como: autor, ano de publicação, país em que foi feito o estudo, faixa etária, desenho do estudo, critério de exclusão, tipo de testes realizados, valores de sensibilidade e especificidade do(s) teste(s) executados.

ii. Elaboração da Curva ROC

A curva ROC foi traçada utilizando como ferramenta o software Review Manager 5.2®.

IV Resultados

4.1 Pesquisa por propostas/estratégias de rastreio primário – 1ª etapa

As estratégias de rastreios aplicadas pelos diferentes países podem ser observadas nas tabelas II III quanto as recomendações para iniciar o rastreio, bem como intervalos e testes de diagnóstico utilizados.

Tabela II: Recomendações para rastreios cervicais. Países do continente americano.

| País/Organização | Recomendação por idade, anos | | | | | | Teste de HPV |
|--|--|---|--|---|--|--|--------------|
| | <20 | 20-24 | 25-29 | 30-69 | ≥70 | | |
| Canadá/ Canadian Task Force on Preventive Health Care (2013)* | Rastreio não recomendado | Rastreio não recomendado | Citologia cervical a cada 3 anos | Citologia cervical a cada 3 anos | Parar os rastreios; Citologia a cada 3 anos se os resultados prévios tiverem sido inadequados e até se obter 3 resultados negativos; | Não recomendado | |
| EUA/ US Preventive Task Force (2012)¹ | Rastreio não recomendado abaixo dos 21 anos | Rastreio não recomendado abaixo dos 21 anos; citologia a cada 3 anos em mulheres entre 21-65 anos | Citologia a cada 3 anos em mulheres entre 21-65 anos | Citologia a cada 3 anos entre 21-65 anos; Não é recomendado em > 65 anos com resultados prévios normais e que não tenham alto risco | Não é recomendado o rastreio em mulheres > 65 anos com resultados prévios normais e não tenham outros riscos | Em combinação com a citologia, a cada 5 anos em mulheres com idades entre 30-65 para aumentar o intervalo entre os rastreios | |
| Brasil/ INCA(Instituto Nacional do Câncer)² | Não convidadas | Não convidadas | Citologia a cada três anos, após dois exames normais consecutivos realizados com um intervalo de um ano | Citologia a cada três anos até 64 anos; e parar os rastreios em >64 anos caso os dois últimos resultados tenham sido normais | Parar os rastreios em >64 anos caso os dois últimos resultados tenham sido normais | Não aplicado | |
| EUA/ American Cancer Society(2012)³ | Não fazer rastreio < 21 anos; 21-29 anos fazer a cada 3 anos 21-29 anos fazer a cada 3 anos; | | 21-29 anos fazer a cada 3 anos ; 30-65 anos rastreio com citologia a cada 3anos; e citologia + teste de HPV a cada 5 anos. | 30-65 anos rastreio com citologia a cada 3anos; e citologia + teste de HPV a cada 5 anos. | >65 anos não fazer rastreios se resultados anteriores foram normais; | 30-65 anos citologia + teste de HPV a cada 5 anos | |

*Estas recomendações se aplicam a mulheres sexualmente ativas. Não se aplicam a mulheres com sintomas de cancro cervical, resultados prévios anormais, que não possuam cérvix ou que estejam imunocomprometidas

³Murphy e Mark (2012)

Implementação de um sistema de rastreio do cancro do colo do útero com base na detecção do vírus HPV.

Tabela III: Recomendações para rastreios cervicais. Países da Europa.

| Recomendação por idade, anos | | | | | | |
|--|---------------------------------|--|--|--|---------------------------------|---|
| País/Organização | <20 | 20-24 | 25-29 | 30-69 | ≥70 | Teste de HPV |
| Reino Unido/ National Health Service Screening Program (2013)¹ | Não convidadas | Não convidadas | Entre 25-64anos teste de HPV a cada 3 anos | Entre 25-64anos teste de HPV a cada 3 anos; ≥ 50 nos teste de HPV a cada 5 anos | Não estabelecido | Entre 25-64anos teste de HPV a cada 3 anos; ≥ 50 anos teste de HPV a cada 5 anos |
| Holanda/ Council of the Netherlands(2011)² | Não convidadas | Não convidadas | Não convidadas | Mulheres entre: 30-40 anos: a cada 5 anos; 50-60 anos: a cada 10 anos | Não convidadas | O teste de HPV deve substituir a citologia como método de rastreio primário; se feita a citologia o teste de HPV é recomendado para fazer a triagem de resultados anormais em mulheres ≥30 anos |
| Irlanda / National Cancer Screening Service (2011)² | Não convidadas a fazer rastreio | Não convidadas a fazer rastreio | A cada 3 anos para mulheres entre 25-44 anos; A cada 5 anos entre 45-60 | A cada 3 anos para mulheres entre 25-44 anos; A cada 5 anos entre 45-60 | Não convidadas a fazer rastreio | Não recomendado |
| Escócia/ Health Service (2010)² | Não convidadas a fazer rastreio | A cada 3 anos para mulheres entre 20-60 anos | A cada 3 anos para mulheres entre 20-60 anos | A cada 3 anos para mulheres entre 20-60 anos | Não convidadas a fazer rastreio | Não recomendado |
| Portugal/ (Agência Nacional de Saúde – Norte 2009) ³ | Não convidadas | Não convidadas | Citologia (LBC) a cada 5 anos | Citologia (LBC) a cada 5 anos | Não estabelecido | Pode ser utilizado a partir de 30 anos como complemento da citologia; Nas mulheres com ASCUS, a realização do teste HPV de alto risco é a opção do actual programa |

¹<<http://www.cancerscreening.nhs.uk/cervical/hpv-primary-screening-protocol-flowchart.pdf>>

²cit. in Canadian Task Force on Preventive Health Care – Guidelines, (2013).

²<<http://portal.arsnorte.minsaude.pt/portal/page/portal/ARSNorte/Conte%C3%BAdos/Planeamento%20Estrategico/Rastreios/RCCU%20%20Manual%20de%20Procedimentos%20UCSP.pdf>>

4.2 Identificação e Seleção dos estudos incluídos – 2ª etapa

Através de busca sistemática por artigos foram encontrados 404 artigos, sendo 73 selecionados e depois da avaliação dos textos foram incluídos 8 estudos, publicados entre 2008 e 2012 realizados em sete países distintos. A primeira etapa da seleção dos artigos consistiu na avaliação do título e dos resumos (figura II). Os estudos cujos títulos e resumos que não estiveram de acordo com os critérios de inclusão foram excluídos.

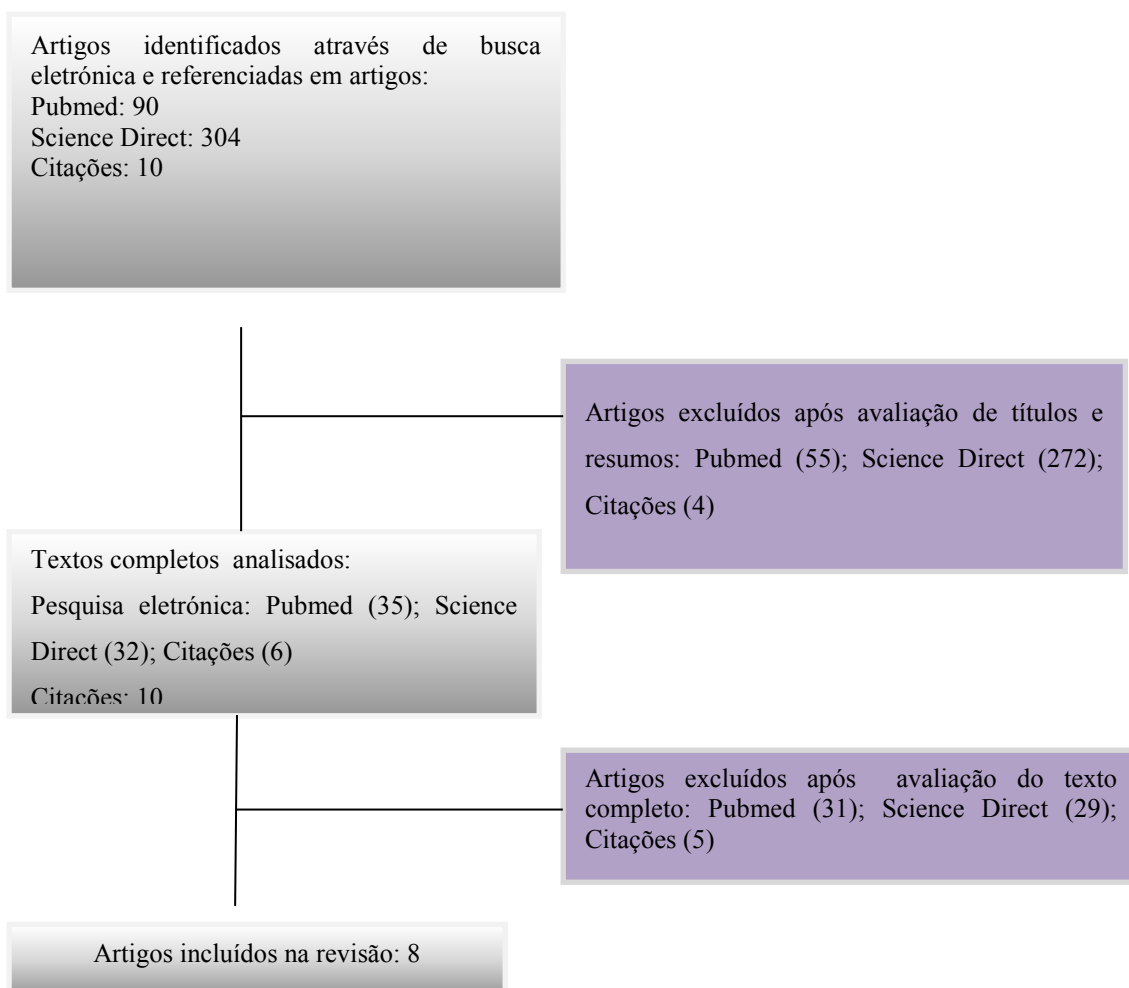


Figura II: Esquema do processo de seleção dos estudos

Ao analisar os textos completos muitos foram também excluídos por não possuírem informações completas que satisfizessem os critérios de inclusão bem como informações necessárias, como os valores de sensibilidade e especificidade para diagnóstico de lesões NIC 3/+ na faixa etária determinada.

Os estudos seleccionados utilizaram como métodos de pesquisa para detecção HPV de alto risco, tecnologias como a Captura híbrida e a Reação em Cadeia Polimerase (PCR), somada à citologia convencional (esfregaço cervical) ou citologia em meio líquido. O limiar de detecção nos testes que utilizaram a Captura híbrida foi de 1 RLU (relative lights unit) o que equivale a 1pg de DNA-HPV por ml de amostra. Alguns estudos utilizaram até duas técnicas de biologia molecular simultaneamente para avaliarem e compararem a performance destes testes.

O número de mulheres submetidas aos testes variou entre 638 (número de participantes com idade maior ou igual a 30 anos) a 19.999. Nos estudos em que foram feitos rastreios em duas etapas, para este trabalho foi definido como resultados de interesse apenas os correspondentes à primeira etapa, os quais referem-se aos obtidos após a seleção e convocação das participantes. Como é o caso de Rijkaart et al 2012, os resultados referem-se somente ao grupo de intervenção na primeira etapa.

Em todos os estudos a citologia convencional (esfregaço em lâmina de vidro), ou citologia em meio líquido foram executadas, já que utilizaram como seguimento do protocolo os resultados da citologia conjuntamente com detecção do HPV de alto risco para referir os casos positivos à colposcopia.

A classificação da citologia utilizada pelos estudos foi de acordo com o sistema de Bethesda, com exceção de um, Rijkaart et al, 2012, a classificação citológica foi executada por um sistema de classificação próprio holandês, o CISOE-A, que segundo os autores pode ser facilmente convertido para o sistema de Bethesda.

Para referir os resultados com citologia anormal à colposcopia, a fim de confirmar a presença de lesão, foram utilizados critérios diferentes entre os estudos quanto ao limiar da classificação citológica, como por exemplo sendo referidos os casos em que tivessem

Implementação de um sistema de rastreio do cancro do colo do útero com base na detecção do vírus HPV.

classificados como ASCUS ou mais, LSIL (Low grade squamous intraepithelial lesion) ou somente HSIL (High grade squamous intraepithelial lesion), sendo esta uma das principais características que remete à heterogeneidade dos estudos.

Alguns estudos incluíram mulheres com faixa etária inferior a 30 anos, mas apresentaram resultados correspondentes para a faixa etária de forma estratificada, correspondendo a proposta do critério de inclusão, portanto foram considerados. Para uma melhor compreensão de como foram realizados os estudos escolhidos, encontra-se disponível em Anexo C o resumo sucinto de cada estudo.

4.2.1 Extração e processamento dos dados

A heterogeneidade dos estudos pôde ser observada com respeito ao desenho do estudo, número de participantes e técnica molecular empregada. As características de cada estudo como país em que foi realizado, número de participantes, teste realizado, estão sumarizados na tabela IV.

Com referência ao método de detecção de lesões NIC3/+, seis artigos relatam emprego da tecnologia de Captura Híbrida e três relatam emprego de PCR. Sendo que um artigo descreve o uso de ambas as técnicas: Monsonigo et al, 2011.

Tabela IV: Características dos estudos incluídos na revisão.

| Autor/ ano/ País | Delineamento | Faixa etária (anos) | Critério de Exclusão | Testes realizados | Nº de mulheres submetidas aos testes |
|--|---------------------------------------|------------------------------------|---|------------------------------|---|
| Qiao et al., 2008 China | Rastreio Populacional | 30-54 | Gravidez Cancro cervical | HC2 CareHPV | 2.388 |
| Naucler et al., 2009 Suécia | Estudo Transversal | 32- 38 | | PCR GP5+/ 6+ | 6.257 |
| Moy et al, 2009 China | Rastreio | 30-54 | Gravidez Sexualmente ativas Sem lesões prévias Histerectomizadas | HC2 | 9.057 |
| Baseman et al., 2008 EUA | Rastreio | 18-50 ≥30** | Lesões prévias Histerectomizadas Imunossupressão crónica Gravidez | HC2 | 931 |
| Pimple et al., 2010 Índia | Estudo transversal | 30-60 | Lesões prévias | HC2 | 638 |
| Monsonogo et al., 2011 França | Estudo de Coorte | 30-65 | Histerectomia Gravidez Citologia anormal nos últimos 6 meses | HC2 (APTIMA®) | 3.320 |
| Rijkaart et al., 2012 Holanda | Ensaio Experimental randomizado | 29- 56* | | GP5+/ 6+ | 19.999 |
| Mahmud et al., 2012 Congo | Estudo transversal | ≥30 | Gravidez Histerectomia | HC2 HC2 + 4 | 1528 |

* A idade de 29 anos só foi incluída porque o rastreio foi realizado no ano em que completariam 30 anos, mas os valores referidos são para mulheres acima dos 30 anos.

** Neste estudo mulheres com idade inferior a 30 anos também foram incluídas, mas reportados aqui somente os resultados referentes as mulheres com idade ≥30 anos.

Implementação de um sistema de rastreio do cancro do colo do útero com base na detecção do vírus HPV.

Foi considerado como limiar de detecção para a captura híbrida 2 em todos os estudos que utilizaram esta técnica, mesmo aqueles que utilizaram variações desta técnica como o careHPV e CH2+4 (que trata-se da adição de mais 4 sondas de HVP de alto risco os tipos 26, 66 73, e 82, em adição aos 13 tipos de hrHVP marcados pela HC2, experimentalmente designada como HC2+4), o valor de 1.0 rlu (unidade de luz relativa), o que equivale a 1 pg/ml do DNA do HPV por ml de amostra. No estudo de Monsonego et al, 2011, que utilizou o APTIMA® os resultados seriam positivos com um ponto de corte maior que 1.0 (S/CO - signal to cut-off).

Os valores de sensibilidade e especificidade em relação às duas técnicas foram coletadas e calculadas as médias respectivas (Tabelas V e VI).

Tabela V: Valores de sensibilidade e especificidade dos testes realizados com a técnica de captura

| Autor | Teste | Sensibilidade NIC 3/+ (95%IC) | Especificidade NIC 3/+ (95%IC) |
|-------------------------------|-----------------------|--|---|
| Qiao et al., 2008 | HC2 | 95.7% | 84.0% |
| | CareHPV | 87.0% | 86.1% |
| Moy et al., 2009 | HC2 | 96.3%* | 85.5%* |
| Baseman et al., 2008 | HC2 | 88.2% | 79.9% |
| Pimple et al., 2010 | HC2 | 79.4% | 91.0% |
| Monsonego et al., 2011 | HC2 | 93.8% | 87.6% |
| | HC2 | 89% | 86.0% |
| Mahmud et al., 2012* | HC2 + 4 | 89% | 86.2% |
| | Média estimada | 89.4% | 85.8% |

*valores estimados corrigidos para verificação de viés.

Implementação de um sistema de rastreio do cancro do colo do útero com base na detecção do vírus HPV.

Tabela VI: Valores de sensibilidade e especificidade dos testes realizados com a técnica de PCR.

| Autor | Teste | Sensibilidade NIC 3/ + (95%IC) | Especificidade NIC 3/+ (95%IC) |
|-------------------------------|-----------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Naucler et al., 2009 | GP5+/ 6+ | 96% | 94% |
| Monsonogo et al., 2011 | APTIMA® | 94.5% | 92.1% |
| Rijkaart et al., 2012 | GP5+/ 6+ | 93.5% | 95.4% |
| | Média estimada | 94.6% | 93.7% |

Foi feita a média aritmética entre os estudos, dos valores de sensibilidade e especificidade, para cada tipo de técnica, obtendo-se então para Captura Híbrida sensibilidade de 89.4% e especificidade de 85.8%; para PCR sensibilidade de 94.6% e especificidade de 93.7%.

A tabela VII apresenta os valores de sensibilidade especificidade das citologias realizadas nos estudos incluídos para efeito de comparação com as técnicas de biologia molecular.

Implementação de um sistema de rastreio do cancro do colo do útero com base na detecção do vírus HPV.

Tabela VII: Valores de sensibilidade especificidade das citologias com seus diferentes limiares de detecção de acordo com os resultados reportados pelos estudos incluídos.

| Autor/Teste | Sensibilidade% | Especificidade% |
|---|----------------|-----------------|
| Monsonogo et al., 2011 | | |
| Citologia: | | |
| >ASCUS | 70.7 | 92.2 |
| Mahmud et al., 2012 | | |
| Citologia: | | |
| > ASCUS | 74.4 | 94.3 |
| >LSIL | 63.2 | 96.9 |
| >HSIL | 41.1 | 99.1 |
| Moy et al., 2009 | | |
| Citologia: | | |
| ≥ASCUS | 80.2 | 93.3 |
| ≥HSIL | 99.4 | 84.8 |
| Naucler et al., 2009 | | |
| Citologia; ≥ASCUS | 74.0 | 98.2 |
| Pimple et al., 2010 | | |
| Citologia: | | |
| ASCUS | 85.0 | 94.5 |
| LSIL | 70.0 | 96.1 |
| Baseman et al., 2008 | | |
| Cito. (≥ASCUS) +HPV teste | 91.0 | 71.6 |
| Cito. (≥HSIL) +HPV teste | 91.0 | 79.7 |
| Qiao et al., 2008 | | |
| Citologia: | | |
| ASC-H+ | 87.0 | 95.4 |
| ASCUS= Atipia de células escamosas de significado indeterminado | | |
| LSIL= Lesão Intraepitelial Escamosa de baixo grau | | |
| HSIL= Lesão Intraepitelial Escamosa de alto grau | | |
| ASC- H+=Atipia de células escamosas em que não se pode excluir HSIL | | |

A tabela VIII apresenta de acordo com os resultados obtidos pelos autores dos estudos suas conclusões e recomendações quanto ao uso de técnicas baseadas na detecção do HPV em rastreios.

Tabela VIII: Recomendação dos autores dos estudos selecionados quanto aos rastreios cervicais.

| Autor | Recomendação | Justificativa |
|-----------------------|--|--|
| Qiao et al, 2008 | A utilização do Care HPV como método de rastreio pode ser uma boa alternativa | Em termos de custos efetivos e pela rapidez do resultado pode ser uma estratégia a ser usada em países com poucos recursos |
| Naucler et al, 2009 | Fazer o rastreio com pesquisa do HPV e triagem seguida de citologia. Se a citologia estiver normal e o teste de HPV der positivo deve-se repetir o teste do HPV | Esta estratégia aumenta a sensibilidade e mantém um alto VPP, minimizando o número de recomendações à colposcopia |
| Moy et al, 2009 | A pesquisa do DNA HPV como único método de rastreio | Para isso o teste deveria ser feito de forma adequada para diminuir o intervalo entre os rastreios, e uma alternativa seria aumentar o ponto de corte de forma que a sensibilidade e a especificidade pudessem ser equiparadas as da citologia |
| Baseman et al, 2008 | Fazer o rastreio com pesquisa do HPV e triagem seguida de citologia em mulheres a partir dos 30 anos | Os resultados do estudo sugerem que realizar a citologia em conjunto com o teste de HPV em mulheres ≥ 30 anos é mais sensível para detectar lesões de alto grau |
| Pimple et al, 2010 | O uso da citologia ou do teste do HPV para fazer a triagem de resultados positivos para VIA ou VILI vai depender do custo efetivo de se realizar as duas técnicas | |
| Monsonogo et al, 2011 | Recomenda o uso do AHPV conjuntamente com a citologia em rastreios, ou para triagem de citologia classificada como ASCUS. | O AHPV se mostrou maior especificidade do que CH2 para detectar NIC2+/3+. |
| Rijkaart et al, 2012 | Recomenda a implementação da detecção do HPV através de pesquisa do DNA do vírus, em mulheres a partir dos 29 anos. | Permite a detecção de lesões clinicamente relevantes (NIC2/+), o que proporcionará proteção preventiva contra lesões NIC3/+. |
| Mahmud et al, 2012 | O rastreio primário feito através de pesquisa do HPV . | Com o advento de uma versão mais barata da CH2, é mais apropriado fazer a detecção do HPV que fazer a citologia convencional em países com poucos recursos. |

4.2.2 Avaliação da Qualidade Metodológica

Em relação à qualidade dos estudos, todos foram considerados de boa qualidade visto terem sido submetidos à avaliação metodológica utilizando a *checklist* QUADAS, em que todos obtiveram pontuações acima de 50% (Anexo D). O quadro abaixo esquematiza a avaliação da qualidade dos estudos incluídos.

| | Risk of Bias | | | |
|-----------------------|-------------------|------------|--------------------|-----------------|
| | Patient Selection | Index Test | Reference Standard | Flow and Timing |
| Baseman et al, 2008 | ● | ● | ● | ● |
| Mahmud et al, 2012 | ● | ● | ● | ● |
| Monsonogo et al, 2011 | ● | ● | ● | ● |
| Moy et al, 2009 | ● | ● | ? | ● |
| Naucier et al, 2009 | ? | ● | ● | ● |
| Pimple et al, 2010 | ● | ● | ? | ? |
| Qiao et al, 2008 | ● | ? | ? | ? |
| Rijkaart et al, 2012 | ● | ● | ● | ? |

● Alto ? Não esclarecido ● Baixo

Figura III: Resumo da avaliação da qualidade dos estudos.

4.2.3 Curva ROC

A figura IV abaixo ilustra os estudos com seus respectivos valores utilizados para construção da curva ROC. Vale ressaltar que os estudos que não apresentam valores, são referentes àqueles que não foram obtidos os números correspondentes aos VP (verdadeiro positivos), FP (falso positivos), FN (falso negativos) e VN (verdadeiro negativo), por não estarem disponíveis nos artigos, nem fornecidos pelos autores mesmo quando contactados.

Implementação de um sistema de rastreio do cancro do colo do útero com base na detecção do vírus HPV.

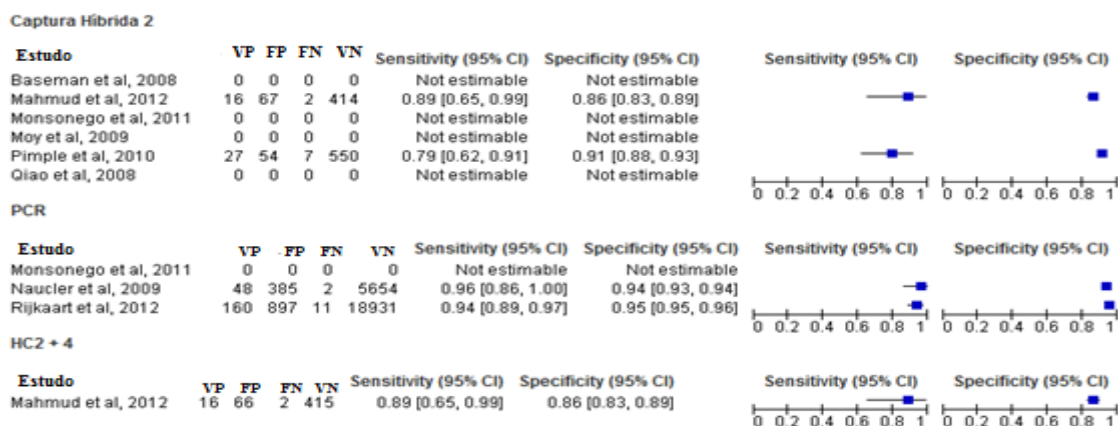


Figura IV: Valores de VP, FP, FN e VN de acordo com os estudos e respectivos valores de sensibilidade e especificidade. CI= intervalo de confiança.

Um gráfico da sensibilidade versus a especificidade é mostrada figura V. Na curva ROC abaixo, os valores traçados para Captura híbrida 2, Captura Híbrida 2 + 4, e PCR correspondem aos estudos de Mahmud et al, 2012 e Pimple et al, 2010; HC2 +4: Mahmud et al 2012; PCR: Rijkaart et al, 2012 e Naucler et al, 2009.

A curva ROC foi traçada comparando-se as duas técnicas (Captura Híbrida e PCR) o que vem permitir avaliar a relação sensibilidade e especificidade do teste em questão.

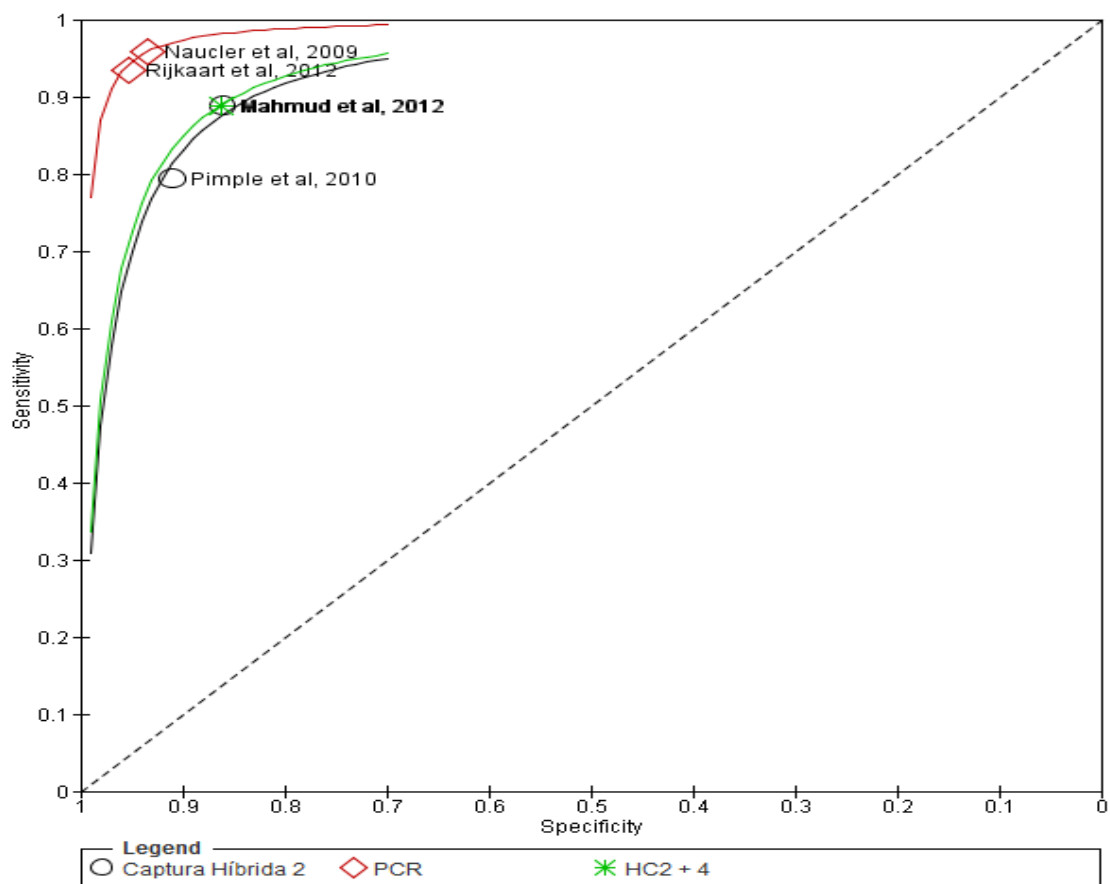


Figura V: Curva ROC

V Discussão

Diante de um número cada vez mais crescente de casos de cancro do colo uterino em todo o mundo a importância de inserir novos métodos para incrementar os diagnósticos nos rastreios tem vindo a suscitar a necessidade de implementação e implantação de programas organizados e padronizados, para que a conduta clínica seja adequada às mulheres identificadas como possíveis portadoras de lesões precursoras ou invasivas.

A introdução de tecnologias com maior sensibilidade, como o teste do HPV, tem provado em numerosos estudos ser uma ferramenta muito sensível para detectar lesões precursoras do cancro cervical, e que vem sendo utilizada com sucesso em vários cenários clínicos.

5.1 Avaliação das recomendações de rastreio

Nas tabelas II e III acima em que foram demonstradas as recomendações quanto ao rastreio cervical de acordo com algumas instituições, nota-se que há uma grande diferença quanto às metodologias adotadas pelos diferentes países. É possível observar que cada país tem seu próprio meio de conduzir suas estratégias baseadas em evidências científicas adaptando-as às suas próprias realidades.

A inclusão de testes de biologia molecular ainda não está implementada em muitos países, e quando está geralmente é aplicado nas mulheres acima dos 30 anos. Com exceção de alguns países que possuem programas de rastreios organizados como o Reino Unido (e que já iniciam os rastreios com teste de HPV a partir dos 25 anos) e Holanda (a partir dos 30 anos). A inclusão dos testes de HPV já foi aprovada nos EUA desde 2002 pelo FDA para a triagem de citologias consideradas como ASCUS em mulheres ≥ 30 anos, e as últimas recomendações são para que sejam empregues as duas técnicas em conjunto nesta faixa etária.

Implementação de um sistema de rastreio do cancro do colo do útero com base na detecção do vírus HPV.

Nos demais países a inclusão de técnicas moleculares ainda não está implementada nos rastreios primários por várias razões, como os custos dos procedimentos, a inoperância de um programa de rastreio organizado como o caso do Brasil, ou por acharem ainda prematuro o emprego destas técnicas e estarem à espera de resultados de ensaios clínicos mais conclusivos como a Canadian Task Force, no Canadá. No entanto muitos já usam o teste de HPV para fazer triagem de citologias positivas como Portugal.

Dentro das variáveis para se fazer a recomendação dos rastreios, são levadas em consideração questionamentos em relação à idade para se iniciar e parar os rastreios, as técnicas empregadas para detecção de lesões, intervalo entre os rastreios e inclusão de técnicas de biologia molecular.

Há evidências de que o rastreio cervical submetido em mulheres abaixo dos 25 anos seja menos eficaz que em mulheres com idade superior (Sasieni et al., 2009).

No Canadá as recomendações para iniciar os rastreios são bastante enfáticas quanto a sua real necessidade em pacientes abaixo dos 24 anos. No estudo publicado por Sasieni et al. (2009) cit in. Canadian Task Force on Preventive Health Care, (2013), mostrou ainda que os rastreios nas idades de 20-21 anos (OR, odds ratio: 1.5; 95% IC, intervalo de confiança IC: 1.0-2.4) e de 22 a 24 anos (OR= 1.1; IC: 0.8-1.5) não tinham nenhum impacto considerável na incidência de cancro cervical na faixa dos 25-29 anos. Concluindo assim que a eficácia dos rastreios diminui conforme diminui-se a idade.

Segundo Bulkman et al. (2007), a implementação dos testes de HPV nos rastreios primários possibilita que lesões com grau 3/+ sejam detectadas mais cedo o que permite que o intervalo entre os rastreios seja alargado. Prolongar os intervalos tem demonstrado ser uma medida segura e em termos de custo ser bastante efetivo em mulheres com baixo risco para desenvolvimento de cancro cervical (Lemieux, 2010).

Quanto ao intervalo entre os rastreios a maioria que utiliza a citologia recomenda que seja feito a cada 3 anos e nos que utilizam o teste de HPV recomendam um intervalo de 5 anos.

Implementação de um sistema de rastreio do cancro do colo do útero com base na detecção do vírus HPV.

Em um estudo de coorte realizado na Dinamarca os autores concluíram que um intervalo de cinco anos para os testes de detecção do HPV ofereciam uma protecção similar à citologia quando realizada a cada três anos (Cuzick et al., 2008). A aplicação de testes de detecção do HPV por possuir maior sensibilidade implica em um maior VPN (proporção de verdadeiros negativos), o que sugere que os rastreios possam ser realizados em um intervalo maior (Cox & Cuzick, 2006).

Na Holanda e na Finlândia onde os rastreios são realizados a cada cinco anos são os países da Europa com as menores taxas de incidência e mortalidade pelo cancro do colo do útero (Health Council of the Netherlands, 2011).

É preferível que mulheres na faixa dos 30 a 65 anos sejam submetidas aos rastreios a cada 5 anos, se for utilizada a citologia e teste de HPV em conjunto, ou cada 3 anos para citologia realizada sozinha. (Saslow et al., 2012).

De acordo com Saslow et al. (2012), na maioria dos estudos revisados por estes autores, a adição do teste de detecção do HPV à citologia possibilitou a detecção de lesões NIC3 o que resultou em um decréscimo de lesões NIC3/+ nos rastreios posteriores.

Conforme relatado pela Canadian Task Force on Preventive Health Care (2013), os testes de detecção do HPV possuem um custo maior que os testes de citologia. Embora sejam mais sensíveis que a citologia implicam uma maior indicação à colposcopia, o que faz que a Canadian Task Force não recomende o uso do teste de HPV.

A implementação de técnicas de biologia molecular para mulheres abaixo dos 30 anos parece não ser uma boa alternativa devido à alta prevalência da infecção pelo HPV, o que promoveria um maior número de casos referidos à colposcopia.

É importante lembrar que para a implementação de testes moleculares é fundamental que haja um sistema de informação de base populacional organizado para que se faça o controlo e o seguimento das participantes.

Talonen et al. (2008), afirmam que a utilização de testes de detecção do HPV seguida de triagem citológica implica em uma maior detecção de lesões intraepiteliais do que a citologia. Porém essa pode ser uma alternativa para evitar que muitas mulheres saudáveis ou que possuam uma infecção transitória sejam conduzidas desnecessariamente à colposcopia, e que sejam encaminhadas somente aquelas com teste HPV positivo e o exame citopatológico com alguma anormalidade. Essa estratégia mostrou-se mais sensível do que a citologia convencional, mas com a mesma especificidade, em um ensaio clínico randomizado realizado na Finlândia, inserido no programa de rastreio organizado com base populacional (Leinonen et al., 2009).

Fazer a conjugação dos testes na faixa etária dos 30 anos, parece ser um bom esquema de diagnóstico visto que as infecções com o avanço da idade tendem a diminuir, o que proporciona um equilíbrio entre a sensibilidade e a necessidade de se fazer novos testes e tratamentos muitas vezes desnecessários (Wright et al., 2004).

5.2 Avaliação dos estudos

Ao serem analisados e avaliados os valores de sensibilidade e especificidade dos testes para detecção do HPV em lesões com grau 3/+, observamos que os valores médios para cada técnica empregada (Captura Híbrida 2: sensibilidade 89.4% e especificidade de 85.8%; PCR: sensibilidade 94.6% e especificidade de 93.7%) estão dentro dos valores esperados.

Este facto vem confirmar o que os estudos clínicos dos últimos anos têm concluído ao comparar a sensibilidade e especificidade destes testes à citologia como único método de rastreio na detecção de lesões pré-malignas e malignas. Estes resultados também corroboram com os resultados obtidos por um ensaio randomizado realizado por Mayrand et al. (2007), em que compararam as duas metodologias (Teste HPV e citologia), e a sensibilidade para o teste de HPV e citologia para detectar lesões de grau 2 ou 3 foi de 94.6% (84.2 a 100, 95% [IC]) e 55.4% (33.6 a 77.2, 95% [IC]),

Implementação de um sistema de rastreio do cancro do colo do útero com base na detecção do vírus HPV.

respectivamente; e as especificidades foram de 94.1% (93.4 a 94.89% [IC]) para o teste de HPV, e de 96.8% (96.3 a 97.3, 95% [IC]) para a citologia.

Na análise dos estudos há uma grande concordância entre os autores no que concerne ao facto de os testes baseados no princípio da biologia molecular, apresentarem maior sensibilidade que a citologia como metodologia na detecção de lesões intraepiteliais.

Como a persistência de uma infecção por HPV de alto risco é necessária para o desenvolvimento de cancro cervical, a pesquisa de vírus de alto risco tem sido considerada importante não só para triagem de mulheres com anormalidades citomorfológicas mas também no rastreio primário conjugado com citologia ou de uma forma isolada com posterior confirmação citológica.

Anteriormente, foi publicado um estudo que avaliou possibilidades alternativas na triagem de mulheres com citologia classificada de acordo com o sistema de Bethesda, como ASCUS, indicando que a realização do teste de DNA HPV poderá ser em termos de custos mais efetivo em comparação com uma repetição da citologia (Pimple et al., 2009).

A utilização do teste para detecção do HPV em rastreios primários seguido pela citologia, para fazer a triagem dos resultados positivos é considerada por Naucler et al., (2009), uma estratégia fiável para incorporar o teste de detecção do HPV, pois, aumenta a sensibilidade e mantém o valor preditivo positivo (VPP) alto, ou seja, maior proporção de resultados verdadeiros positivos, minimizando assim a necessidade de realização de testes complementares. Neste mesmo estudo ao comparar a citologia sozinha com a citologia combinada com teste de HPV notou-se que a sensibilidade para detectar lesões NIC3/+ teve um aumento de 35%.

Na análise da curva ROC traçada (figura V), apesar do gráfico não ser representativo de todos os estudos incluídos, podemos observar que o ponto de detecção ideal para que se tenha um equilíbrio ótimo entre a sensibilidade e especificidade serão os valores mais próximos de 1.0, o que é conseguido nos valores relativos à técnica de PCR, técnica que se mostrou mais sensível e específica que a captura híbrida 2 e captura Híbrida 2 +4.

No estudo de Moy et al. (2010), que utilizou a captura híbrida 2, ao avaliar diferentes pontos de corte para detecção do vírus, entre 1.0 e 10.0 RLU, observou-se que conforme aumenta-se o ponto de corte, como consequência, há um aumento também da especificidade e do VPP à custa da diminuição da sensibilidade e do VPN (Valor Preditivo Negativo). Ao elevar os valores do limiar de detecção pode-se perceber que mais próximo das características da doença se está, o que demonstra uma maior especificidade.

Ainda no estudo de Moy et al. (2010), os resultados mostram que a execução do teste de detecção do HPV, o CareHPV, mesmo como única técnica de rastreio, pode ser apropriada para países que tenham poucos recursos, caso se considere o fato de que a maioria das mulheres nestes países sejam submetidas a um máximo de dois rastreios durante suas vidas e que diante desta situação seria preferível que o teste a ser realizado seja o mais sensível possível ainda que tenha uma mais baixa especificidade quando comparada à citologia.

Um estudo longitudinal realizado na Índia (Sankarannarayanan et al., 2009) demonstrou que os resultados dos testes de detecção do HPV positivos (1.0 RLU/co) referidos à colposcopia seguida de biópsia estavam associados a uma diminuição do número de casos de cancro relatados bem como a morbidade e mortalidade.

Uma das grandes vantagens de usar o teste DNA HPV acompanhado da citologia cervical em rastreios é que esta combinação é capaz de identificar não só mulheres com infecção em curso, mas também aquelas que estão em risco de desenvolver a doença futuramente (Wright et al, 2004).

Bulkmans et al. (2007), afirmam que existe uma grande discussão sobre a inserção dos testes de detecção do HPV em rastreios, pois, vários estudos têm demonstrado que a sensibilidade está em torno de 23-43% a mais que a citologia em detectar lesões de alto grau, porém a especificidade tem mostrado com esta técnica estar mais baixa em torno de 5-8%. A implementação de testes para detecção do HPV poderia ainda levar a um maior número de casos referidos à colposcopia e a tratamentos de lesões que regrediriam espontaneamente.

Implementação de um sistema de rastreio do cancro do colo do útero com base na detecção do vírus HPV.

Naucler et al. (2009), afirmam que os rastreios primários utilizando técnica de detecção do HPV, e triagem com citologia teve considerável aumento da sensibilidade e levou apenas um modesto aumento no número de testes de triagem e encaminhamentos.

Algumas evidências indicam que os testes para detecção do HPV de alto risco têm mostrado serem mais efetivos que a citologia cervical para realizar o rastreio primário em mulheres a partir dos 30 anos, e permitem que o intervalo entre os rastreios seja maior (Arbyn et al., 2012).

Fazer a conjugação dos testes na faixa etária dos 30 anos, parece ser um bom esquema de diagnóstico visto que as infecções com o avanço da idade tendem a diminuir, o que proporciona um equilíbrio entre a sensibilidade e a necessidade de se fazer novos testes e tratamentos muitas vezes desnecessários (Wright et al, 2004).

Embora esta conjugação tenha seus benefícios, há ainda uma preocupação em relação a um potencial impacto negativo caso esta estratégia seja mal aplicada. Sendo uma infecção bastante comum, implica que um grande número de mulheres tenha resultados positivos para HPV de alto risco, porém poucas destas infecções irão progredir para uma lesão efetivamente precursora de cancro cervical (Wright et al, 2004).

Enquanto a prevalência da infecção diminui consideravelmente a partir dos 30 anos, o pico de incidência do cancro do colo uterino propriamente dito ronda em torno dos 30-45 anos de idade, implicando que infecções persistentes nesta faixa etária sejam mais preocupantes, tornando um rastreio positivo para a presença de HPV bastante relevante clinicamente (Lemieux, 2010).

Apesar de o teste do HPV aplicado sozinho ser mais sensível que a citologia, tem uma especificidade menor, e isso significa que há um número maior de resultados falsos positivos. Um resultado falso positivo porém não significa ausência de infecção pelo HPV mas sim que não há a presença de uma displasia ou de cancro. O propósito do rastreio cervical é detectar lesões pré-invasivas e certificar a não necessidade de tratamento considerando que a maioria das infecções se resolve espontaneamente (Lemieux, 2010).

Para Arbyn et al. (2013), a Captura Híbrida 2 é recomendada para diferenciar mulheres que tiveram citologia classificada como ASCUS e que precisam de mais investigação diagnóstica. Porém em casos de citologia classificada como LSIL, fazer o teste CH2 geralmente não é recomendado, o melhor seria utilizar uma técnica que tenha maior sensibilidade e especificidade do que a captura híbrida.

A adição do teste DNA-HPV é uma promessa para o aperfeiçoamento dos rastreios e para isso é fundamental que os médicos entendam os benefícios, as limitações e as desvantagens deste meio de diagnóstico. É possível reduzir o número de resultados falsos positivos ao aderir os manuais de procedimentos de acordo com a faixa etária da paciente e o período recomendado de intervalo entre os rastreios. (Lemieux, 2010).

Tsiodras et al. (2010), defendem que a introdução de técnicas moleculares deve preceder a um planeamento bastante cauteloso, e que os resultados sejam enfatizados no contexto da prevalência da doença, para que possam ser comunicados de forma adequada.

A introdução de testes para detecção de infecções pelo HPV tem levado ao questionamento de pesquisadores quanto aos efeitos psicosociais causados ou que podem vir causar na população feminina. Sentimentos de vergonha, estigma e sofrimento, e impactos na vida sexual, diante de um resultado positivo, têm sido relatados (Murphy e Mark, 2012). Considerando estes “efeitos adversos” é preciso dar conhecimento a esta população sobre todo o processo da patologia enfatizando o quanto é comum a exposição à infecção e a importância de se detectar a presença de infecções e lesões que futuramente possam causar um transtorno maior, esperando-se assim reduzir a ansiedade e todos os sentimentos negativos causados (Murphy e Mark, 2012).

Medeiros e Ramada et al. (2010) pontuam a importância de difundir a divulgação e o conhecimento sobre os riscos de infecção e meios de prevenção e proteção, como a vacinação, entre as jovens a fim de diminuir os índices de infecção provocadas por esses vírus e naturalmente os casos de cancro cervical.

Em um estudo de Gök et al. (2010), ao considerar que metade das mulheres que são acometidas com o cancro cervical por não aderirem aos programas de rastreio, sugerem

Implementação de um sistema de rastreio do cancro do colo do útero com base na detecção do vírus HPV.

a aplicação de autocolheita de material cérvico-vaginal para detecção de HPV de alto risco como alternativa para aumentar a adesão dessas mulheres aos programas, elevando assim a cobertura e detecção de lesões.

Silva et al. (2011), após analisarem a distribuição do vírus HPV em jovens adolescentes e universitárias no norte de Portugal, concluíram que a adoção da autocolheita como metodologia para detecção da presença do vírus HPV poderá ser uma boa estratégia a ser incorporada nos rastreios primários, visto ser um método menos invasivo e em termos de custo bastante atrativo.

Um dos grandes desafios dos rastreios cervicais por meio da detecção do HPV será sua integração aos programas de vacinação, segundo Cuzick et al. (2008), já que a longo prazo as lesões que estiverem relacionadas com os HPV 16 e 18 serão reduzidas, o que denotará um maior número de citologias consideradas fora da normalidade e que mais infecções causadas pelo HPV serão provocadas por subtipos de menor risco. Cuzick et al. (2008) defendem ainda que embora a aplicação dos rastreios primários possa vir a contornar esse problema, será necessário que se tenha um maior conhecimento sobre a progressão de outros tipos de HPV alto risco.

As novas tecnologias vêm pra desafiar técnicas antigas e promover mudanças nas condutas clínicas. E para isso a implementação de programas adequados e apropriados à realidade da população alvo será primordial para haja uma mudança dos padrões até então remontados desde os primórdios da técnica de Papanicolau, e assim promover maior preparo e capacidade de compreensão pelos profissionais de saúde quanto aos cuidados da saúde da mulher frente aos rastreios cervicais.

5.3 Proposta de implementação de um sistema de rastreio para o cancro do colo do útero.

Considerando os resultados obtidos neste trabalho, os testes de biologia molecular apresentados podem vir a contribuir significativamente, auxiliando o diagnóstico de lesões cervicais, visto o HPV estar relacionado a maior parte dessas lesões. Nessa perspectiva é importante enfatizar a pesquisa para infecção pelo HPV conjuntamente com a citologia a partir dos 30 anos de idade.

Para isso os serviços de saúde devem possuir meios adequados, articulando-se todos os órgãos de saúde e profissionais que possam estar envolvidos, com o objetivo de proporcionar uma assistência integral clínica-ginecológica para o aprimoramento do controlo de infecções causadas pelo HPV bem como suas possíveis implicações, como o cancro cervical. Faz-se necessário desenvolver e difundir procedimentos e estabelecer padrões de atendimentos e intervenção caso seja necessário.

Baseando-se nas últimas recomendações da Sociedade Americana do Cancro (American Cancer Society) *cit. in* Saslow et al. (2012), visto ser uma instituição que fomenta a pesquisa e revisões para obtenção de novas evidências científicas para assim fazer suas recomendações, propõe-se que:

- ✓ - O início da rastreio cervical se dê a partir dos vinte e um anos de idade, ainda que o cancro do colo do útero seja raro nesta faixa etária. Isso permite, caso sejam encontradas alterações, que se faça intervenções efetivas para a eliminação da infecção bem como acompanhar o seguimento da lesão (persistência ou resolução da infecção).
- ✓ - Mulheres com idade compreendida entre os 21 e 29 anos devem ser submetidas ao teste de citologia cervical a cada 3 anos. Não devendo ser realizado o teste para detecção do HPV a não ser que seja necessário após uma citologia anormal.

- ✓ -Mulheres com idade entre 30 e 65 anos devem fazer a citologia cervical e Teste de HPV a cada 5 anos. Ou ainda fazer somente a citologia a cada 3 anos.
- ✓ -Para mulheres acima de 65 anos e que tenham feito rastreio regularmente com resultados considerados normais não necessitam serem submetidas a rastreios;
- ✓ - Mulheres que tiverem sido submetidas à retirada do útero ou do colo do útero sem historial de pré-cancro ou cancro cervical não necessitam fazer o rastreio cervical.
- ✓ - As mulheres que foram vacinadas contra o HPV devem continuar a fazer os rastreios de acordo com sua faixa etária;
- ✓ -Mulheres com alto risco de terem cancro cervical precisam ser submetidas ao rastreio com maior frequência.

De acordo com a Sociedade Americana do Cancro os rastreios anuais já não são mais recomendados visto o desenvolvimento para lesão cancerígena levar em torno de 10 a 20 anos para acontecer, não sendo assim preciso submeter as pacientes a procedimentos desnecessários. Estas recomendações se aplicam a mulheres que possuam cérvix, não sendo de interesse a história sexual prévia. As mesmas não se aplicam a mulheres que tenham sido diagnosticadas com lesões cervicais de alto grau, lesões pré-cancerígenas ou cancro cervical, mulheres imunocomprometidas (HIV positivas). É preciso deixar claro que cabe ao médico avaliar as reais necessidades de cada paciente de acordo com sua clínica.

De salientar também a importância de atualizar e treinar os profissionais da saúde envolvidos para padronizar de forma correta e efetiva os programas de rastreios que venham ser aplicados.

Para complementar o procedimento de processamento dos resultados dos rastreios enfatizando a faixa etária (a partir dos 30 anos) em que há uma maior recomendação

Implementação de um sistema de rastreio do cancro do colo do útero com base na detecção do vírus HPV.

para a inserção das técnicas de biologia molecular, o fluxograma abaixo permite ilustrar melhor a conduta clínica frente aos resultados dos rastreios primários proposto por Wright et al., (2004).

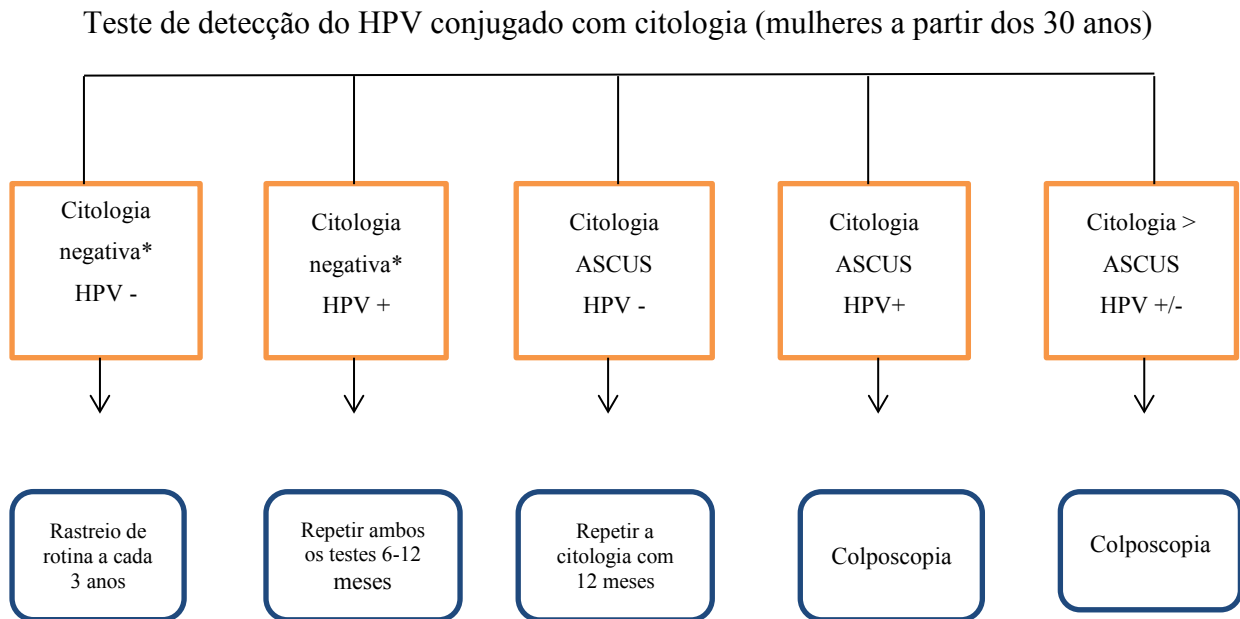


Figura VI: Estratégia de rastreio primário contra o cancro cervical: Combinação de citologia cervical e teste de DNA HPV adaptado de Wright et al., 2004.

VI Conclusão

Neste trabalho foram avaliadas duas tecnologias disponíveis no mercado para diagnosticar lesões intraepiteliais através da detecção da presença do vírus HPV em amostras cervicais, a Captura Híbrida e PCR. Numerosos estudos têm demonstrado que a detecção vírus de alto risco em rastreios cervicais é um método consideravelmente mais sensível que a citologia para detectar lesões cervicais.

Os resultados de acordo com os autores dos estudos analisados, demonstraram que a sensibilidade destas técnicas são superiores à citologia convencional, mas que por outro lado a especificidade tende a apresentar valores mais baixos que a citologia quando realizada sozinha. Entretanto a utilização da biologia molecular conjuntamente com a citologia convencional é defendida por estes estudos ser uma boa alternativa diagnóstica.

O rastreio primário para diagnosticar lesões de alto grau, através da pesquisa do HPV parece ter muito potencial ao ser associada à citologia convencional, pois, permite fazer uma triagem dos resultados positivos e assim dar prosseguimento à investigação de forma mais eficaz em busca de determinar a extensão da lesão. A associação da pesquisa do HPV com a citologia aumenta a detecção de lesões com grau 3/+ mas também aumenta o diagnóstico de lesões com grau 2/+, o que pode contribuir para um excesso de testes, já que o próximo passo é a confirmação da lesão por colposcopia e biópsia, vindo a ser uma desvantagem se comparada com a citologia sozinha.

Uma das maiores vantagens da associação destas técnicas será o aumento no intervalo entre os rastreios, o que permitirá uma menor exposição das pacientes ao stress e ansiedade durante a realização dos testes, e diminuição dos custos operacionais.

Com a execução dos objetivos propostos por este trabalho pudemos obter dados que ratificassem uma proposta de implementação de rastreios do colo uterino, visando aperfeiçoar as recomendações quanto a técnica de diagnóstico a ser considerada conforme a faixa etária e história clínica prévia da paciente. Os programas de rastreio devem ser implementados de forma eficiente e operado de acordo com os

Implementação de um sistema de rastreio do cancro do colo do útero com base na detecção do vírus HPV.

valores e prioridades sociais. Estas recomendações retratam o julgamento da melhor prática baseada em evidências científicas para a prevenção da morbidade e mortalidade de mulheres portadoras de lesões intraepiteliais. O advento da introdução de novas técnicas de biologia molecular vêm para maximizar as medidas de prevenção e protecção contra o cancro do colo do útero.

Mais ainda, a vacinação em massa das adolescentes, a existência de novas estratégias como é o caso da autocolheita poderá potenciar a utilização e aplicação destes testes de biologia molecular no rastreio do cancro do colo do útero.

Considerando que o teste do HPV possa a vir ter um grande impacto social e psicossocial, visto a infecção ser transmitida sexualmente, podendo trazer graves consequências, há uma necessidade urgente promover medidas educativas no que concerne a saúde da mulher e conscientização da população feminina, para que assim possam usufruir com maior integridade os benefícios que os avanços científicos têm contribuído para o controle do cancro cervical.

VII Referências Bibliográficas

Akers, Aletha, et al. (2007). Factors Underlying Disparities in Cervical Cancer Incidence, Screening, and Treatment in the United States. *Current Problems in Cancer*, 31, pp. 157-81.

Amaral, João. (2007). Avaliação de artigos científicos: Bases da Epidemiologia Clínica. [Em linha]: <<http://www.geocities.ws/abs5famed/avalcient.pdf>> Consultado em: 27/02/2013.

Arbyn M., et al. (2010) European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Cancer Screening. Second edition summary document. *Ann Oncol.*, 21(3), pp.448-58.

Arbyn, Marc., et al. (2013). The APTIMA HPV assay versus the Hibrid Capture 2 test in triage of women with ASCU-US or LSIL cervical cytology: A meta-analysis of the diagnostic accuracy. *International Journal of Cancer*, 132, pp. 101-108.

Baseman, J., et al. (2008). Evaluation of primary cervical cancer screening with an oncogenic human papillomavirus DNA test and cervical cytologic findings among women who attended family planning clinics in the United States. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 199, pp. 26 e1- e8.

Bulkmans, N., et al. (2007). Human papillomavirus DNA testing for the detection of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 and cancer: 5-year follow-up of a randomised controlled implementation trial. *Lancet*, 370, pp. 1764-72.

Burd, Eileen. (2007). Human Papillomavirus Detection and Utility of Testing. *Clinical Microbiology Newsletter*, 29 (21), pp. 159-167.

Burger, E. A., et al. (2011). HPV mRNA tests for the detection of cervical intraepithelial neoplasia: A systematic review. *Gynecologic Oncology*, 120, pp. 430-438.

Canadian Task Force on Preventive Health Care - Guidelines. (2013). Recommendations on screening for cervical cancer. *CMAJ*, 185(1), pp. 35- 45.

Implementação de um sistema de rastreio do cancro do colo do útero com base na detecção do vírus HPV.

Conway, Mj, Meyers, C. Replication and Assembly of Human Papillomaviruses. *Journal of Dental Research*, 88(4), pp. 307-317.

Castle, P. E., et al. (2003). Comparison between Prototype Hybrid Capture 3 and Hybrid Capture 2 Human Papillomavirus DNA Assays for Detection of High-Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia and Cancer. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(9), pp. 4022- 4030.

Cox. T., Cuzick J. (2006). HPV DNA testing in cervical cancer screening: from evidence to policies. *Gynecol Oncol.*, 103(1), pp. 8-11.

Cuzick, Jack, et al. (2008). Overview of Human Papillomavirus-Based and Other Novel Options for Cervical Cancer Screening in Developed and Developing Countries. *Vaccine*, 26, pp. K29–K41.

Digene Corporation. (2004). Hybrid Capture® 2 High-Risk HPV DNA Test. [Em linha]:<<http://www.thehpvtest.com/~media/5C4BD0982BED4E3788F65B36AF829AAD.ashx>> Consultado em: 05/12/2012.

Genuis, J. Stephens; Genuis, Shelagh K. (2004). Managing the sexuality transmitted disease pandemic: A time for reevaluation. *American Journal of obstetrics and gynecology*, 191, pp. 1103-1012.

Globocan. (2008). International Agency for Research on Cancer (IARC). [Em linha]: <<http://globocan.iarc.fr/factsheet.asp>> Consultado em: 22/11/2012.

Gök, Murat, et al. (2010). HPV testing on self-collected cervicovaginal lavage specimens as screening method for women who do not attend cervical screening: cohort study. *BMJ*. 340, p. c1040

Kulasingam SL., et al. (2011). Agency for Healthcare Research and Quality (US), 86.

Lalkhen, Abdul, McCluskey, Anthony. (2008). Clinical tests: sensitivity and specificity. *Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain*. 8 (6), pp. 221-223.

Implementação de um sistema de rastreio do cancro do colo do útero com base na detecção do vírus HPV.

Langlotz, C. P. (2003). Fundamental measures of diagnostic examination performance: usefulness for clinical decision making and research. *Radiology*, 228, pp. 3-9.

Lemieux, Mary Lauren. 2010. Primary Screening for Cervical Cancer: Incorporating New Guidelines and Technologies into Clinical Practice. *Journal for Nurse Practitioners*, 6, pp. 417-424.

Health Council of the Netherlands. (2011). Population screening for cervical cancer.

[Em linha]:

http://www.gezondheidsraad.nl/sites/default/files/201107E_PopulationSCC_0.pdf

Consultado em: 16/07/2013.

Mahmud, S., et al. (2012). Comparison of human papillomavirus testing and cytology for cervical cancer screening in a primary health care setting in the Democratic Republic of the Congo. *Gynecologic Oncology*, 124(2), pp. 286-91.

Manual de procedimentos do rastreio do cancro do colo do útero. (2009). ARS Norte.

[Em linha]:

<<http://portal.arsnorte.minsaude.pt/portal/page/portal/ARSNorte/Conte%C3%BAdos/Planeamento%20Estrategico/Rastreios/RCCU%20%20Manual%20de%20Procedimentos%20UCSP.pdf>> Consultado em: 25/10/2012.

Matos A, Moutinho J, Pinto D, Medeiros R. (2005). The influence of smoking and other cofactors on the time to onset to cervical cancer in a southern European population. *Eur J Cancer Prev*, 14(5), pp. 485-91.

Mayrand, Marie-Helene. (2007). Human Papillomavirus DNA versus Papanicolaou Screening Tests for Cervical Cancer. *The New England Journal of Medicine*, vol. 357(16), pp. 1579-88.

Medeiros, R. (2005). Characterization of HPV genotype profile in squamous cervical lesions in Portugal, a southern European population at high risk of cervical cancer. *Eur J Cancer Prev*, 14(5), pp. 467-71.

Implementação de um sistema de rastreio do cancro do colo do útero com base na detecção do vírus HPV.

Medeiros, R; Ramada, D. (2010). Knowledge differences between male and female university students about human papillomavirus (HPV) and cervical cancer: Implications for health strategies and vaccination. *Vaccine*, 29 (2), pp. 153 - 60.

Meijer C, et al. (2009). Validation of high-risk HPV tests for primary cervical screening. *Journal of Clinical Virology*, 46, pp.S1- S4.

Instituto Nacional de Câncer (Brasil). (2011). Diretrizes Brasileiras para o Rastreamento do Câncer de Colo do Útero. [Em linha]: <http://www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/Diretrizes_rastreamento_cancer_colo_uterio.pdf> Consultado em : 22/06/2013.

Modinou, Olga, et al. (2011). Management of Precancerous Lesions of the Uterine Cervix according to Demographic Data. *International Scholarly Research Network ISRN Obstetrics and Gynecology*, 2011, pp. 1- 6.

Monsonogo, Joseph., et al. (2011). Evaluation of oncogenic human papillomavirus RNA and DNA tests with liquid-based cytology in primary cervical cancer screening: the FASE study. *International Journal of Cancer*, 129, pp. 691–701.

Moy, L. M., et al. (2010). Human papillomavirus testing and cervical cytology in primary screening for cervical cancer among women in rural China: comparison of sensitivity, specificity, and frequency of referral. *Int J Cancer*, 127(3), pp. 646- 656.

Moyer, Virginia A. (2012). Screening for Cervical Cancer: U.S. Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *Ann Intern Med*, 156, pp. 880 - 891.

Munoz M., et al. (2012). The diagnostic performance of classical molecular tests used for detecting human papillomavirus. *Journal of Virological Methods*, 185, pp. 32-38.

Murphy, Jeanne; Mark, Hayley. (2012) Cervical Cancer Screening in the Era of Human Papillomavirus Testing and Vaccination. *Journal of Midwifery & Women's Health*, 57, No. 6, pp. 569 - 576.

Implementação de um sistema de rastreio do cancro do colo do útero com base na detecção do vírus HPV.

National Health Service. NHS cervical screening programme. London (UK). (2013). [Em linha]: <<http://www.cancerscreening.nhs.uk/cervical/hpv-primary-screening-protocol-flowchart.pdf>> Consultado em: 15/07/2013.

Naucler, P. Ryd, et al. (2009). Efficacy of HPV DNA Testing With Cytology Triage and/or Repeat HPV DNA Testing in Primary Cervical Cancer Screening. *J Natl Cancer Inst*, 101(2), pp. 88- 99.

Nishino, H. T.; Tambouret, R. H.; Wilbur D. C. (2011). Testing for Human Papillomavirus in cervical Cancer Screening. *Cancer Cytopathology*, 119(4), pp. 219-227.

Oliveira, Maria, et al. (2011). QUADAS e STARD: avaliação da qualidade de estudos de acurácia de testes diagnósticos. *Rev Saúde Pública*, 45(2), pp. 416-22.

Pimple, S., et al (2010). Cytology versus HPV testing for the detection of high-grade cervical lesions in women found positive on visual inspection in Mumbai, India. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, 108(3), pp. 236- 239.

Qiao, You-lin, et al. (2008). A new HPV-DNA test for cervical-cancer screening in developing regions: a cross-sectional study of clinical accuracy in rural China. *Lancet Oncol*, 9, pp. 929 - 36.

Rebolj, M. Bonde, J. Njor, S. H. Lyng, E. (2011). Human papillomavirus testing in primary cervical screening and the cut-off level for Hybrid capture 2 testes: systematic review. *BMJ*, 342, p. d2757.

Rijkaart, Dorien C., et al. (2012). Human papillomavirus testing for the detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia and cancer: final results of the POBASCAM randomised controlled trial. *Lancet Oncol*, 13, pp. 78- 88.

Sandri, Maria T. et al. (2006). Comparison of the Digene HC2 Assay and the Roche AMPLICOR Human Papillomavirus Test for Detection of High-Risk HPV Genotypes in Cervical Samples. *Journal of Clinical Microbiology*; 44(6); pp. 2141- 2146.

Implementação de um sistema de rastreio do cancro do colo do útero com base na detecção do vírus HPV.

Sankaranarayanan R, et al. (2009). HPV screening for cervical cancer in rural India. *N Engl J Med*, 360; pp. 1385- 94.

Sasieni P, Castanon A, Cuzick J. (2009) Effectiveness of cervical screening with age: population based case–control study of prospectively recorded data. *BMJ*, 339, p. b2968.

Saslow, Debbie, et al. (2012). American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology Screening Guidelines for the Prevention and Early Detection of Cervical Cancer. *Am J Clin Pathol*; 137, pp. 516-542.

Schiffman, et al. (2011). Human papillomavirus testing in the prevention of cervical cancer. *J Natl Cancer Inst*, 103, pp. 368-383.

Silva J, et al. (2011). Oncogenic HPV Types Infection in Adolescents and University Women from North Portugal: From Self-Sampling to Cancer Prevention. *J. Oncol.* 2011.

Simundic, Ana-Maria. (2012) .Diagnostic Accuracy Part 1: Basic Concepts: Sensitivity and Specificity, ROC Analysis, STARD Statement. Point of Care: *The Journal of Near-Patient Testing & Technology*, 11(1), pp.6- 8.

Teixeira, Luiz António, et al. (2012). A expansão do rastreio do câncer do colo do útero e a formação de citotécnicos no Brasil. *Physis Revista de Saúde Coletiva*, 22 (2), pp. 713-731.

Tsiodras, S., et al. (2010). Hybrid capture vs. PCR screening of cervical human papilloma virus infections. Cytological and histological associations in 1270 women. *BMC Cancer*, 10, p. 53.

Venturoli, S., et al. (2002). Human papillomavirus DNA testing by PCR-ELISA and hybrid capture II from a single cytological specimen: concordance and correlation with cytological results. *Journal of Clinical Virology*, 25(2), pp.177- 185.

Implementação de um sistema de rastreio do cancro do colo do útero com base na detecção do vírus HPV.

Wain, Gerard. (2010). The human papillomavirus (HPV) vaccine, HPV related diseases and cervical cancer in the post-reproductive years. *Maturitas*, 65(3), pp. 205- 209.

Weinstein Susan; Obuchowski, Nancy A.; Lieber, Michael L. (2005). Clinical Evaluation of Diagnostic Tests. *American Journal of Roentgenology*. 184. [Em linha]: <<http://www.ajronline.org/doi/pdf/10.2214/ajr.184.1.01840014>> Consultado em: 02/03/2013.

Whiting, P., et al. (2003). The development of QUADAS: a tool for the quality assessment of studies of diagnostic accuracy included in systematic reviews. *Bmc Medical Research Methodology*, 3, p.25.

Wright, T. C., et al. (2004). Interim guidance for the use of human papillomavirus DNA testing as an adjunct to cervical cytology for screening. *Obstet Gynecol*, 103, pp. 304-309.

8 Anexos

Anexo A: Testes de Biologia Molecular

Captura híbrida 2 (Qiagen®)

Utiliza sondas específicas contendo o RNA de tipos de HPV de alto risco ou baixo risco conhecidos, sendo portanto um mix de sondas que são usadas para se ligarem (hibridizarem) ao HPV - DNA previamente desnaturado a altas temperaturas em meio alcalino, que possivelmente esteja contido na amostra ou em quantidade suficiente para detecção (Castle et al 2003). A amostra contendo o DNA alvo hibridiza com um HPV-RNA específico da sonda e os híbridos resultantes são capturados na superfície da microplaca. São adicionados aos híbridos imobilizados anticorpos conjugados com fosfatase alcalina, enzima a qual irá clivar o substrato emitindo luz, que será medida em um luminómetro, e a intensidade de luz emitida indicará a presença ou ausência do DNA alvo na amostra.

Este teste é capaz de detectar o HPV-DNA de alto risco (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 68), sendo que dozes destes são considerados de alto risco para o desenvolvimento de carcinoma e um potencialmente carcinogénico e cinco tipos de HPV de baixo risco (6, 11, 42, 43 e 44) (Venturoli et al 2002). Está recomendada para rastreio em mulheres com idade igual ou superior a 30 anos que possuem neoplasia intraepitelial grau II ou maior.

A captura híbrida utiliza como limiar de detecção que a luz emitida seja de ≥ 1 unidades de luz relativa (RLU) por valor de corte (co), o que representa a presença de sequências de DNA na amostra analisada, valor este clinicamente validado pelo FDA (Food and Drug Administration), é considerado de alta sensibilidade para a detecção do papiloma vírus em lesões de alto grau (Rebolj et al, 2011).

O kit da Captura Híbrida Digene (HC2) é o único atualmente aprovado pelo FDA para a detecção do DNA do HPV em amostras cervicais. Apesar de que esta técnica seja

bastante difundida pelo meio médico, há ainda algumas limitações quanto à impossibilidade de identificar o tipo de HPV e a possibilidade de haver reações cruzadas entre as sondas utilizadas (Munoz et al, 2012).

CareHPV

O CareHPV é um teste que foi desenhado com o objetivo de ser rápido, simples e de baixo custo, atendendo países em que os sistemas públicos de saúde dispõem de poucos recursos financeiros. A tecnologia base é a mesma da captura híbrida, ou seja, consiste na amplificação sinal do alvo, o DNA do HPV, pela hibridização com sondas para 14 tipos de HPV. Há algumas diferenças que caracterizam este ensaio da HC2. A solução contida no meio de transporte da colheita do material, trata-se de uma solução surfactante não-tóxica que foi formulada para que a amostra seja completamente solubilizada não necessitando de meios mecânicos para tal; as microplacas de captura são revestidas com esferas magnéticas cobertas com anticorpos monoclonais com alta afinidade para os DNA-RNA híbridos; a temperatura de algumas etapas é aumentada para diminuir o tempo do ensaio (Qiao et al, 2008).

Quanto ao princípio do método, o DNA do HPV da amostra é desnaturado e hibridizado no comprimento total do RNA complementar (sondas), e então capturados pelos anticorpos monoclonais que revestem as esferas magnéticas. A captura dos híbridos é detectada por um anticorpo monoclonal anti-híbrido que está conjugado à fosfatase alcalina de intestino de bezerro, que reage com um substrato quimiluminescente produzindo luz. A luz emitida é expressa em RLU (Qiao et al, 2008).

PCR

A reação em cadeia polimerase (PCR), é uma técnica que consiste na amplificação do DNA alvo usando *primers* específicos, na qual existem vários métodos para detecção de sequências amplificadas, que se baseiam em ensaios de hibridização reversa e imunoenzimáticos. A técnica consiste na desnaturação do DNA da amostra, *annealing* dos *primers* no DNA alvo com consequente extensão da sequência de DNA complementar, gerando a amplificação exponencial do DNA alvo, neste caso o DNA dos HPVs pesquisados (Nishino et al, 2011)

**Anexo B. Testes moleculares para detecção do HPV de alto risco.
Adaptado Nishino et al, 2009.**

| Teste | Tecnologia utilizada | hrHPV alvo |
|---|-----------------------------|---|
| <i>Signal amplification:</i> | | |
| Hybrid Capture HPV (Digene®) | Captura híbrida | 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58,59 e 68 |
| Cervista HPV HR (Hologic®) | <i>Invader chemistry</i> | 16, 18, 31, 33,35, 39, 45, 51, 52, 56, 58,59, 66 e 68 |
| Cervista HPV 16/18 (Hologic®) | <i>Invader chemistry</i> | 16 e 18 |
| CareHPV (Qiagen®) | Captura híbrida | 16, 18, 31, 33,35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 68 |
| <i>Target amplification:</i> | | |
| Linear Array HPV Genotyping (Roche®) | PCR | 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58,59, 66, 68, 73, 82, 83 |
| PapilloCheck (Greiner Bio-One®) | PCR | 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 66, 68, 73, 82, 83 e 84 |
| INNO-LIPA HPV Genotyping Extra (Innogenetics®) | PCR | 16, 18, 31, 33, 35,39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73, 82 |
| Amplicor HPV (Roche®) | PCR | 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 68 |
| RealTime HPV Assay (Abbott®) | Real time PCR | 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68 |
| Geno ID Real-Time HPV Assay | Real time PCR, kit | 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68 |

Anexo C: Síntese dos Estudos incluídos

- Qiao et al, 2008 China

Neste estudo foram incluídas mulheres com idade compreendida entre os 30 e 54 anos, provenientes do meio rural. Após aplicação dos critérios de inclusão, 2388 mulheres foram seleccionadas para o seguimento do protocolo. Amostras cervicais foram coletadas e armazenadas em meio líquido próprio para realização da citologia líquida, CH2 e CareHPV. Todas as mulheres foram submetidas ao exame de inspecção visual com ácido acético (VIA- visual inspection with acetic acid), seguida de colposcopia digital com biópsia direcionada caso fosse necessário, provavelmente em casos de colposcopia positiva. As pacientes que tiveram resultados positivos para CH2 e CareHPV, foram convocadas a repetir a colposcopia e coleta de material para biópsia.

Os resultados mostram que o uso CareHPV para detectar lesões intraepiteliais de alto grau é melhor que a VIA. Segundo os autores a rapidez de se realizar um teste de pesquisa DNA HPV através do método do CareHPV, poderá permitir fazer a avaliação do tratamento durante o rastreio, já que devido ao tempo de execução do teste o resultado poderá ser obtido dentro de 3 horas. Sendo assim de grande valia do ponto de vista financeiro para ser aplicado em países com poucos recursos.

- Naucler et al, 2009 Suécia

Mulheres de 5 cidades da Suécia, na faixa etária dos 32 a 38 anos foram convidadas a participar de um estudo randomizado. Um total de 6257 mulheres foram submetidas a pesquisa do DNA HPV através de biologia molecular por PCR e citologia convencional. Às mulheres que tiveram o teste DNA HPV positivo e citologia negativa, foi recomendada a repetição do teste DNA HPV e da citologia após 1 ano. As pacientes que após a repetição dos testes continuassem a ser positivas para o teste DNA HPV, ou seja, os casos considerados persistentes, eram referidas à colposcopia. Independentemente do resultado da colposcopia todas as pacientes foram submetidas à biópsia das lesões

visualizadas, e das que não foram evidenciadas lesões, amostras das posições 6 e 12 horas da junção escamo-colunar foram retiradas para análise histopatológica. E assim analisadas e reavaliadas por patologistas que desconheciam os resultados dos demais exames.

A estratégia de se utilizar testes baseados na detecção do HPV DNA como rastreio primário seguido de triagem por meio de citologia em infecções persistentes, mostrou-se neste estudo considerável maior sensibilidade para detecção de lesões NIC3/+ do que a citologia utilizada como único método. Porém esta estratégia se mostrou menos específica em relação à citologia, o que segundo os autores implica numa maior necessidade de repetição e adoção de outros testes para a confirmação diagnóstica.

- Moy et al, 2009 China

As 9.057 mulheres selecionadas para este estudo foram testadas para pesquisa do DNA HPV, através de Captura Híbrida 2, citologia em meio líquido e inspeção visual a olho nu, com solução de ácido acético 5% (VIA) e inspeção visual com solução de lugol-iodo (VILI - visual inspection with Lugol's iodine). Em todas as mulheres foi realizada a colposcopia e biópsia independente do resultado da VIA e VILI, bastando para isso terem citologia e CH2 positivas. Os avaliadores não estavam cientes quanto aos demais resultados. Os resultados mostraram que conforme aumentava-se o ponto de corte de detecção da CH2, aumentava-se a especificidade e VPP à custa da diminuição da sensibilidade e do VPN. Os autores concluem que a testagem do DNA HPV como único método de rastreio pode ser apropriado para países que dispõem de poucos recursos.

- Baseman et al, 2008 EUA

As 931 mulheres submetidas à citologia e teste do DNA HPV, sendo referidas à colposcopia somente aquelas que tiveram citologia classificada com \geq ASCUS, de acordo com o sistema de Bethesda, e teste molecular positivo. Nos casos referidos à colposcopia as pacientes foram convocadas realizarem o procedimento em média 60 dias após os primeiros testes. Foi concluído que a estratégia de se realizar a citologia

Implementação de um sistema de rastreio do cancro do colo do útero com base na detecção do vírus HPV.

conjuntamente com a pesquisa do DNA HPV através de Captura Híbrida para referir casos positivos (citologia \geq HSIL) à colposcopia se mostrou mais específica, com maior VPP, do que se considerasse o ponto de corte da citologia \geq ASCUS, referindo um menor número de casos à colposcopia. Porém de qualquer forma a utilização dos testes conjugados implica maiores recursos financeiros.

- Pimple et al, 2010 India

Todas as participantes foram submetidas aos testes de citologia, pesquisa de DNA HPV, VIA, VILI e colposcopia. Sendo que o teste de HPV DNA foi aplicado sozinho em 638 mulheres na faixa etária dos 30 a 60 anos. A biópsia da cérvix foi obtida das pacientes que apresentassem colposcopia consideradas anormais e feita avaliação histopatológica.

O estudo conclui que o teste de Captura Híbrida 2 se mostrou mais sensível que a citologia para detectar lesões intraepiteliais grau 3, mas a especificidade se mostrou mais baixa. Concluem também que o uso da citologia ou do teste do DNA HPV como melhor método de rastreio em mulheres com VIA e/ou VILI positivos irá depender do custo efetivo para se fazer a avaliação.

- Monsonego et al, 2011 França

Neste estudo 3320 amostras correspondentes a mulheres incluídas na faixa etária maior que 30 anos, foram analisadas por meio da citologia líquida e biologia molecular (CH2 PCR-APTIMA®). As amostras coletadas foram conservadas em meio líquido PreservCyt. Todas as amostras que tiveram resultados positivos tanto para a citologia (\geq ASCUS) e biologia molecular foram referidas à colposcopia, e então as lesões visualizadas submetidas à biópsia.

O APTIMA® HPV (AHPV) e a CH2 foram altamente sensíveis, 94.5% e 93.8% respectivamente, tanto para detecção de NIC 2 e NIC3. O AHPV se mostrou mais sensível que a citologia líquida, sensibilidade semelhante mas especificidade maior em

relação a CH2 e similar à citologia líquida. Os autores explicam que a maior especificidade da AHPV em relação a CH2 pode se dar em parte pela maior propensão da CH2 sofrer reação cruzada com alguns tipos de HPV de baixo risco. Verificou-se que a combinação do LBC com os outros testes de HPV a sensibilidade aumentou ligeiramente mas diminuiu substancialmente a especificidade do teste, o que sugere que tais combinações não agregam valor como estratégia o rastreio.

- Rijkaart et al, 2012 Holanda

Neste estudo populacional as 19999 mulheres pertencentes ao grupo de intervenção (com idades entre os 29 e 56 anos) tiveram amostras cervicais para avaliação através de citologia e do DNA HPV através de técnica de PCR (GP5+/6+).

Este estudo revela que as mulheres que tiveram o teste do DNA HPV negativo no primeiro rastreio, nos rastreios posteriores tiveram menos casos de lesões intraepiteliais grau 3/+ diagnosticados, do que as mulheres que tiveram citologia normal no primeiro rastreio. O que segundo os autores é importante pois permite analisar se a infecção é persistente ou está a regredir. O estudo também sugere ao fazer comparação nas faixas etárias, que o rastreio com a pesquisa do DNA HPV se inicie aos 30 anos de idade já que a detecção cumulativa em dois rastreios de NIC3/+ não difere em mulheres com idade entre os 29-33 anos ou mais que 33 anos. E que a detecção precoce de lesões de alto grau é a melhor razão para adicionar o teste de DNA HPV ao rastreio juntamente com a citologia, pois, aumenta a proteção contra essas lesões mais graves que progressivamente conduzem ao cancro cervical.

Anexo D. Avaliação da Qualidade Metodológica. Checklist adaptada QUADAS (Oliveira et al, 2011).

| | Qiao et al. | Naucler et al. | Moy et al. | Baseman et al. | Pimple et al. | Monsonogo et al. | Rijkaart et al. | Mahmud et al. |
|--|-------------|----------------|------------|----------------|---------------|------------------|-----------------|---------------|
| 1.O espectro de pacientes foi representativo dos pacientes que receberão o teste na rotina? | S | S | S | S | S | S | S | S |
| 2. Os critérios de seleção foram claramente descritos? | S | S | S | S | S | S | S | S |
| 3. O período entre a aplicação do padrão-ouro e o teste em avaliação foi curto o suficiente para que se tenha segurança de que não houve mudanças no estado de saúde do indivíduo testado? | NE | S | S | S | NE | NE | NE | NE |
| 4. O padrão de referência escolhido é capaz de detectar a doença corretamente? | S | S | S | S | S | S | S | S |
| 5. A amostra total ou uma subamostra randomizada realizou o diagnóstico pelo padrão ouro? | S | S | NE | S | NE | S | S | S |
| 6. Os pacientes receberam o mesmo teste como padrão-ouro, independente do resultado obtido pelo teste em avaliação? | S | S | S | S | S | S | S | S |
| 7. O teste avaliado não faz parte do teste padrão ouro? | S | S | S | S | S | S | S | S |
| 8. A execução do teste em avaliação foi descrita com suficientes detalhes, permitindo a sua replicação? | S | S | S | N | S | S | N | S |
| 9. A execução do teste padrão-ouro foi descrita com suficientes detalhes, permitindo a sua replicação? | S | S | S | S | S | S | N | S |
| 10. Os resultados do teste em avaliação foram interpretados sem o conhecimento dos resultados do teste padrão-ouro? | S | S | S | S | NE | S | S | S |

Continuação tabela

| | | | | | | | | |
|---|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|-----------|
| 11. Os resultados do teste padrão-ouro foram interpretados sem o conhecimento dos resultados do teste em avaliação? | S | S | S | S | NE | S | S | S |
| 12. Os resultados indefinidos ou intermediários dos testes foram relatados? | N | S | S | N | N | NE | S | S |
| 13. As perdas do estudo foram explicadas? | S | S | S | N | N | S | S | S |
| Pontuação | 11 | 13 | 12 | 10 | 7 | 11 | 10 | 11 |

S= Sim, NE= Não esclarecido, N= Não