

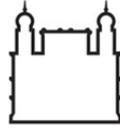


**Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto Nacional de Saúde da Mulher,  
da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira**

**EFETIVIDADE DA MARCAÇÃO COMBINADA DE p16 E Ki67 NA  
REFERÊNCIA DE MULHERES COM CITOLOGIA ASC-US OU LSIL PARA  
COLPOSCOPIA**

**JUCIMÁRIA DANTAS GALVÃO**

**Rio de Janeiro  
Junho de 2023**



**Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto Nacional de Saúde da Mulher,  
da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira**

**EFETIVIDADE DA MARCAÇÃO COMBINADA DE p16 E Ki67 NA  
REFERÊNCIA DE MULHERES COM CITOLOGIA ASC-US OU LSIL PARA  
COLPOSCOPIA**

**JUCIMÁRIA DANTAS GALVÃO**

Tese apresentada à Pós-graduação em  
Saúde da Criança e da Mulher, como  
parte dos requisitos para a obtenção  
do título de Doutora em Ciências.

Orientador: Fábio Russomano

**Rio de Janeiro  
Junho de 2023**

CIP - Catalogação na Publicação

Galvão, Jucimária Dantas.

EFETIVIDADE DA MARCAÇÃO COMBINADA DE p16 E Ki67 NA REFERÊNCIA DE MULHERES COM CITOLOGIA ASC-US OU LSIL PARA COLPOSCOPIA / Jucimária Dantas Galvão. - Rio de Janeiro, 2023.  
148 f.

Tese (Doutorado Acadêmico em Pesquisa Aplicada à Saúde da Criança e da Mulher) - Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira, Rio de Janeiro - RJ, 2023.

Orientador: Fábio Bastos Russomano.

Bibliografia: f. 92-107

1. Neoplasias do Colo do Útero. 2. Infecções por Papillomavirus. 3. Biomarcadores Tumorais. 4. Inibidor p16 de Quinase Dependente de Ciclina. 5. Antígeno Ki-67. I. Título.

À minha família e amores Rilmar, José e João.

À minha avó Maria da Penha (*in memoriam*).

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que contribuíram para a realização deste estudo, em especial:

À minha mãe, pai, irmãos, sobrinhos, tios e primos meu orgulho em dividir com todos mais essa conquista.

Às minhas queridas amigas, por insistirem em cada momento de descontração, reflexão e suporte nos bastidores da vida.

Ao Professor Fábio, orientador extremamente dedicado, paciente, exigente e incentivador para o autodesenvolvimento, que aceitou o desafio e permitiu esta experiência ímpar e dividir comigo parte do seu conhecimento. Agradeço por acreditar no trabalho e avanços que estamos, finalmente, alcançando.

Ao Professor Marco Zonta, meu agradecimento especial pelos bons conselhos, acolhida e apoio incondicional no desenvolvimento dos projetos de PPSUS no Tocantins, compartilhando e contribuindo com a sua expertise.

Ao Professor Zilton, Dr. Leonardo e minha caríssima colega Amanda, minha gratidão pelos muitos encontros, dias de trabalho e colaboração na execução deste projeto.

À minha colega Pricila, Dra. Jeoni, nossos bolsistas Rodrigo e Ingrid, equipes do Serviço da ASPEL e AMAS, minha gratidão pelo acolhimento às pacientes, pelo altruísmo, empatia e apoio incondicional no desenvolvimento desta pesquisa.

À equipe do Laboratório de Imunohistoquímica da FMUSP, em especial à Ângela e Dra. Regina agradeço o apoio, carinho e suportes imprescindíveis na execução dos testes de imunocitoquímica e conclusão desses resultados. Muito obrigada por dividirem comigo essa experiência.

Aos professores do colegiado do Programa de Pós-graduação em Saúde da Criança e da Mulher do Instituto Fernandes Figueira pela acolhida, empatia e oportunidade de compartilhar histórias e parte desta caminhada conosco. À equipe de servidores do IFF,

da coordenação e secretaria acadêmica, em especial à Cecília, pelo carinho e ajudas tão importantes, que significaram tanto ao longo dessa caminhada.

Aos colegas de turma, pelos momentos de convivência, de aprendizado e trocas tão interessantes. Minha gratidão especial às colegas Amanda, Hellen, Carla, Daniele, Célia e Fernanda, com quem tive o privilégio de conviver um pouco mais, ao longo do curso.

Às queridas amigas cariocas Patrícia, Maria Luiza, Daniele, Hellen, Ana Paula, Michele e Mariana que foram especiais, essenciais, parceiras tão importantes quando tanto precisava, aliviando a minha solidude durante a fase de dedicação às disciplinas, idas e vindas ao Rio. Obrigada pelo apoio incondicional e tudo que fizeram por mim.

Aos meus colegas de trabalho e chefias da Secretaria de Estado da Saúde de Tocantins, em especial ao Rodrigo Cândido e toda equipe da Oncologia, que me permitiram todo apoio, desde o processo seletivo até o cumprimento das etapas de formação e execução deste projeto.

Aos meus colegas e amigos do LACEN/TO, por toda a colaboração durante a execução deste trabalho, apoio e substituições no processo de formação, nas ausências necessárias para a execução do projeto em Tocantins e no Rio de Janeiro. Às meninas do NEP/LACEN, que colaboraram tanto na organização dos eventos e ações que promovemos e todo aprendizado e experiências que acumulamos.

Aos apoiadores da Secretaria Municipal de Saúde de Palmas, de Porto Nacional e do Rio de Janeiro, em especial à Secretaria de Estado da Saúde de Tocantins que permitiram a execução deste projeto.

Aos meus colegas da UFT, pelo apoio incondicional para o desenvolvimento das atividades de formação e da execução desse projeto e todo o incentivo, com os valorosos conselhos para a conclusão da Tese.

Ao Ministério da Saúde, Fundação de Amparo à Pesquisa do Tocantins (FAPT), CNPq, Secretaria de Estado da Saúde/ETSUS pelo apoio e financiamento de parte desta pesquisa, obrigada.

*“O sucesso é a soma de pequenos esforços repetidos dia após dia”.*

Robert Collier

## RESUMO

**Objetivo:** Analisar o desempenho do teste de Dupla Marcação (DM) por p16 e Ki67 em amostras de células cervicais para detecção de lesões precursoras do câncer do colo do útero, comparando-o à repetição imediata da citologia em mulheres com resultado de citologia de rastreamento ASC-US ou LSIL.

**Metodologia:** Trata-se de um estudo transversal que recrutou 121 mulheres nas unidades de Atenção Primária de Saúde dos municípios de Palmas e Porto Nacional, em Tocantins, e da cidade do Rio de Janeiro, com citologia de rastreamento com resultado ASC-US ou LSIL. As mulheres foram referidas aos Serviços de Referência do Colo participantes em Tocantins e no Rio de Janeiro. As participantes realizaram o exame de colposcopia e coleta de espécime para Citologia em Meio Líquido (CML) e para DM para p16 e Ki67. Os resultados dos testes foram comparados ao padrão-ouro misto definido pela colposcopia, histologia (quando obtido espécime histológico) na avaliação inicial, ou citologia, colposcopia e histologia (quando obtido espécime histológico) no seguimento de pelo menos 12 meses, definindo as que tinham lesão precursora (NIC II ou NIC III) ou não.

**Resultados:** Das 121 mulheres recrutadas, 76 mulheres foram consideradas para esta análise por terem pelo menos um exame de triagem realizado (CML ou DM por p16-Ki67) e conclusão diagnóstica. Dessas, 42 apresentavam exame prévio de ASC-US e 34 de LSIL. A maioria (86,8%) estava na faixa etária recomendada para o rastreamento (25 a 64 anos). Oito mulheres (10,5%) apresentaram NIC II ou III como conclusão diagnóstica. Verificou-se que o teste da DM de p16 e Ki67 identificou um número maior de mulheres com um desses diagnósticos, encaminhando 50% das mulheres com ASC-US ou LSIL na citologia de rastreamento para colposcopia, mas deixando de identificar 50% dessas mulheres. Esse teste mostrou-se 2,5 vezes mais sensível do que o exame citopatológico de repetição imediata.

**Conclusão:** O teste de DM por p16 e Ki67 se mostrou mais capaz de identificar mulheres com lesões precursoras com resultado citopatológico prévio ASC-US ou LSIL e sem aumento relevante de encaminhamentos para colposcopia em comparação à citologia de repetição imediata.

**Palavras Chaves:** Neoplasias do Colo do Útero; Infecções por Papillomavirus; Biomarcadores Tumorais; Inibidor p16 de Quinase Dependente de Ciclina; Antígeno Ki-67.

## ABSTRACT

**Objective:** To assess p16/Ki-67 double staining (DS) in cervical cells performance for detecting precursor lesions of cervical cancer, in comparison to immediate repetition of the liquid-based cervical cytology (LBCC) in women with screening cytology results of atypical squamous cells of undetermined significance (ASC-US) or low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL).

**Methodology:** This study recruited 121 women in primary health care units in Palmas and Porto Nacional, Tocantins, and in Rio de Janeiro, Brazil, with screening cytology showing ASC-US or LSIL. Women were addressed to the Cervical Referral Services (SRC) in each state and examined with colposcopy, LBCC and DS-p16/Ki-67. Histological results were available for women in which a cervical biopsy was obtained during initial evaluation or during a follow-up up to 12 months, discerning cases with precursor lesions (CIN2 or CIN3) or not.

**Results:** From the 121 recruited women, 76 screened positive in at least one exam (LBCC or DS-p16/Ki-67) and had a diagnostic conclusion. From these, 42 and 34 patients had previous ASC-US and LSIL exams, respectively. Most patients (86,8%) were within the recommended age group for screening in Brazil (25 to 64 years-old). CIN2-3 were found in 8 women (10,5%). DS-p16/Ki-67 identified a greater number of women with CIN2-3, addressing 50% of the women to colposcopy, but failing to detect these lesions in 50% of cases. DS-p16/Ki-67 was 2,5x more sensitive than the immediate repetition of the LBCC.

**Conclusion:** DS-p16/Ki-67 is more efficient to identify women with precursor lesions with screening cytological ASC-US or LSIL results, and without relevant increase in referring patients to colposcopy, in comparison to immediate repetition of the LBCC.

### Keywords

Uterine Cervical Neoplasms; Papillomavirus Infections; Biomarkers Tumor; Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor p16; Ki-67 Antigen.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Representação espacial das taxas de mortalidade por CCU, por 100 mil mulheres, pelas unidades da federação do Brasil, estimadas para o ano de 2020, e proporção dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2020 na Região Norte. Fonte: INCA, 2020(50,51). Adaptado pela autora. ....22
- Figura 2.** Representação da progressão mediada pela infecção por HPV ao CCU. Fonte: Woodman, 2007(57). Adaptado pela autora.....24
- Figura 3.** (A) Representação esquemática do genoma circular do DNA do HPV16. (B) Estrutura esquemática do fragmento mínimo do genoma (vermelho) integrado ao cromossomo do hospedeiro (azul). Fonte: Munger et al. 2004(54). ....28
- Figura 4.** Modelo de representação da progressão da carcinogênese promovido por HPV, destacando a proliferação e replicação dos marcadores, incluindo p16. Fonte: Wentzensen e Doeberitz, 2007(43). Adaptado pela autora.....32
- Figura 5.** Fluxograma de recrutamento e seguimento das mulheres participantes.....46
- Figura 6.** Imagens obtidas de amostras de mulheres incluídas, coradas e marcadas com p16 e Ki67, escaneadas e em aumento 50x e 100x. ....54
- Figura 7.** Fluxograma do recrutamento, seleção e inclusão nessa análise (outubro de 2019 a janeiro de 2022). ....60

**LISTA DE QUADROS**

**Quadro 1.** Principais marcos do controle do câncer do colo do útero no Brasil. ....36

**Quadro 2.** Exposição de características e resultados obtidos em estudos identificados e com dados extraíveis relacionados ao desempenho diagnóstico da Dupla Marcação de p16 e Ki67 na identificação de NIC II+ em mulheres com citologia de ASC-US ou LSIL. 83

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1.</b> Características das mulheres incluídas nessa análise em comparação com as excluídas e perdidas, além da unidade onde se deu a inclusão (outubro de 2019 a novembro de 2022). .....	59
<b>Tabela 2.</b> Resultados dos exames iniciais e conclusões diagnósticas nessa análise (outubro de 2019 a novembro de 2022). .....	64
<b>Tabela 3.</b> Resultados dos Testes de Citologia em Meio Líquido e Dupla Marcação de p16 e Ki67 (outubro de 2019 a novembro de 2022). .....	65
<b>Tabela 4.</b> Tabela de Contingência da Citologia em Meio Líquido com resultado sugerindo lesão de alto grau <i>versus</i> demais resultados frente à conclusão diagnóstica, recategorizados* (outubro de 2019 a novembro de 2022). .....	66
<b>Tabela 5.</b> Tabela de Contingência da Citologia em Meio Líquido com qualquer resultado alterado <i>versus</i> negativo frente à conclusão diagnóstica, recategorizada* (outubro de 2019 a novembro de 2022). .....	67
<b>Tabela 6.</b> Tabela de Contingência dos Testes de Dupla Marcação (p16 e Ki67) frente à conclusão diagnóstica (outubro de 2019 a novembro de 2022). .....	67
<b>Tabela 7.</b> Tabela de Contingência dos Testes de Dupla Marcação (p16 e Ki67) considerando a marcação positiva para pelo menos um desses marcadores frente à conclusão diagnóstica, recategorizada* (outubro de 2019 a novembro de 2022). .....	68
<b>Tabela 8.</b> Comparativo do desempenho diagnóstico dos testes de Citologia em Meio Líquido e Dupla Marcação de p16 e Ki67 em diferentes critérios de positividade para detecção de lesão precursora (outubro de 2019 a novembro de 2022). .....	68

- Tabela 9.** Comparativo do desempenho diagnóstico dos testes de Citologia em Meio Líquido e Dupla Marcação de p16 e Ki67 em diferentes critérios de positividade para detecção de lesão precursora em termos de Razão de Sensibilidade e de Especificidade (outubro de 2019 a novembro de 2022). .....69
- Tabela 10.** Comparativo do desempenho diagnóstico dos testes de Citologia em Meio Líquido e Dupla Marcação de p16 e Ki67 em diferentes critérios de positividade para detecção de lesão precursora em termos de encaminhamento para colposcopia, lesões precursoras detectadas e perdidas caso fossem utilizados como critério para colposcopia imediata (outubro de 2019 a novembro de 2022).....69
- Tabela 11.** Comparativo do desempenho diagnóstico dos testes de Citologia em Meio Líquido e Dupla Marcação de p16 e Ki67 em diferentes critérios de positividade para detecção de lesão precursora em função da modificação da probabilidade pré teste para pós teste utilizando a prevalência de NIC II+ de 10% e as Razões de Verossimilhança obtidas .....75

**LISTA DE SIGLAS**

ASC-US	Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado
ASC-H	Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado, não podendo excluir Lesão Intraepitelial de Alto Grau
CCU	Câncer do Colo do Útero
CML	Citologia em Meio Líquido
CONITEC	Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS
DM	Dupla Marcação
HPV	<i>Human Papillomavirus</i> (vírus do Papiloma Humano)
HSIL	Lesão Intraepitelial de Alto Grau
IC95%	Intervalo de Confiança de 95%
IFF	Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira
INCA	Instituto Nacional de Câncer José Gomes de Alencar
JEC	Junção Escamo-colunar
LCR	<i>Long Control Region</i> (Região Longa de Controle)
LSIL	Lesão Intraepitelial de Baixo Grau
NIC I	Neoplasia Intraepitelial Cervical Grau 1
NIC II	Neoplasia Intraepitelial Cervical Grau 2
NIC III	Neoplasia Intraepitelial Cervical Grau 3
OR	<i>Odds Ratio</i> (Razão de Chances)
PAISM	Programa de Atenção Integral à Saúde da Mulher
PAS	Programação das Ações de Saúde
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> (Reação em Cadeia de Polimerase)
PNAO	Política Nacional de Atenção Oncológica
PNCCCU	Programa Nacional de Controle do CCU
SISCAN	Sistema de Informação de Câncer
SRC	Serviço de Referência do Colo
SUS	Sistema Único de Saúde
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.
UBS	Unidade Básica de Saúde

**SUMÁRIO**

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>17</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO</b>	<b>21</b>
2.1 CÂNCER DO COLO DO ÚTERO: ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS	21
2.2 HISTÓRIA NATURAL DA DOENÇA	23
2.3 DIAGNÓSTICO CITOPATOLÓGICO	25
2.4 O PAPILOMAVIRUS HUMANO (HPV) E SEU ENVOLVIMENTO NA CARCINOGENESE CERVICAL	26
2.5 BIOMARCADORES p16 E Ki67	30
2.6 RASTREAMENTO E CONTROLE DO CÂNCER DO COLO DO ÚTERO NO BRASIL	34
2.7 DIRETRIZES PARA O CONTROLE DO CÂNCER DO COLO DO ÚTERO	37
<b>3. JUSTIFICATIVA</b>	<b>40</b>
<b>4. HIPÓTESE</b>	<b>43</b>
<b>5. OBJETIVOS</b>	<b>44</b>
5.1 OBJETIVO GERAL	44
5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	44
<b>6. METODOLOGIA</b>	<b>45</b>
6.1 DESENHO DO ESTUDO	45
6.2 POPULAÇÃO, LOCAL E PERÍODO	47
6.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO, EXCLUSÃO E PERDAS	47
6.4 AMOSTRAS BIOLÓGICAS	48
6.5 DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO DE CAMPO	48
6.5.1 EQUIPE COORDENADORA	49
6.5.2 EQUIPES DE CLÍNICA	50
6.5.3 EQUIPES DE PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS	51

6.6 CONCLUSÃO DIAGNÓSTICA (PADRÃO OURO)	55
6.7 TAMANHO AMOSTRAL	56
6.8 MEDIDAS DE DESFECHOS	57
6.9 QUESTÕES ÉTICAS	58
<b>7. RESULTADOS</b>	<b>60</b>
<b>8. DISCUSSÃO</b>	<b>70</b>
8.1 COMPARAÇÃO DO DESEMPENHO DIAGNÓSTICO DOS TESTES DE DM POR p16 E Ki67 E DA CML NA DETECÇÃO DE LESÕES PRECURSORAS EM MULHERES COM CITOLOGIA ASC-US OU LSIL	70
8.2 EFETIVIDADE DA DM POR p16 E Ki67 E DA CML NA DETECÇÃO DE LESÕES PRECURSORAS E ENCAMINHAMENTO PARA COLPOSCOPIA DE MULHERES COM CITOLOGIA ASC-US OU LSIL	76
8.3 COMPARAÇÃO DO DESEMPENHO DA DUPLA MARCAÇÃO POR p16 E Ki67 COM ESTUDOS JÁ PUBLICADOS	78
8.4 LIMITAÇÕES DO ESTUDO	86
<b>9. CONCLUSÃO</b>	<b>91</b>
<b>10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>92</b>
<b>APÊNDICES</b>	<b>108</b>
APÊNDICE I	109
APÊNDICE II	110
APÊNDICE III	112
APÊNDICE IV	115
APÊNDICE V	116
APÊNDICE VI	118
<b>ANEXOS</b>	<b>121</b>
ANEXO I	122
ANEXO II	129
ANEXO III	136

ANEXO IV

141

ANEXO V

146

## 1. INTRODUÇÃO

O câncer do colo do útero (CCU) é um importante problema de saúde pública, por apresentar elevadas taxas de incidência e mortalidade, especialmente em países em desenvolvimento<sup>1</sup>. Apesar de haver um Programa Nacional de Controle do CCU (PNCCCU) instituído no Brasil, a efetividade na redução da incidência da doença e mortalidade tem sido pouco expressiva, com importantes discrepâncias regionais<sup>2-4</sup>. Estimativas mais recentes apontam o registro de 17.010 casos novos para o triênio 2023 a 2025, correspondendo a 4,7% dos casos de câncer a serem registrados em mulheres, com Taxa de Incidência Ajustada de 13,25 casos para cada 100.000 mulheres, no Brasil. A Região Norte apresenta a maior incidência, sendo superior à média nacional estimada em 16,77 para cada 100.000 mulheres<sup>4</sup>.

Esta problemática poderia ser minimizada com práticas efetivas de rastreamento, identificando e tratando as lesões precursoras da doença<sup>3,5</sup>. Essas lesões são frequentemente identificadas em mulheres em fase reprodutiva, a partir dos 25 anos, sendo o risco aumentado gradualmente até atingir o pico entre a faixa etária de 40 a 60 anos<sup>3,5</sup>. No modelo de rastreamento em prática no Brasil, a faixa etária de 25 a 64 anos é priorizada na tentativa da cobertura de mulheres sob maior risco do desenvolvimento da doença. Outras ações simultâneas são importantes como a periodicidade, o diagnóstico de qualidade e seguimento após testes de rastreamento positivos para identificação do câncer inicial, assintomático, e de suas lesões precursoras<sup>3,6,7</sup>.

O exame citopatológico convencional ou exame de Papanicolaou é o método recomendado para o rastreamento no Brasil. Para sua análise são aplicados critérios citomorfológicos pré-estabelecidos, que permitem a identificação e classificação de alterações celulares<sup>3,8,9</sup>. Todavia, esse exame depende da realização de uma boa coleta, com

expressiva representatividade do epitélio (incluindo células da Zona de Transformação – ZT ou glandulares), breve processo pré analítico e analítico. Esse último é subjetivo e dependente da experiência e condições de trabalho do escrutinador. Essas limitações implicam em grande variação da sensibilidade para a identificação de lesões precursoras (30 a 87%)<sup>10</sup>, sendo necessário e recomendado o monitoramento da sua qualidade<sup>9,11,12</sup>.

Outros testes de rastreamento e de triagem após testes de rastreamento positivos têm sido descritos, na intenção de superar as limitações do exame citopatológico. São exemplos alguns biomarcadores e a identificação do DNA-HPV dado o papel dos tipos oncogênicos do HPV (*Papillomavirus Humano*) no desenvolvimento da doença<sup>13-19</sup>.

Para o CCU, vários biomarcadores são citados na literatura buscando identificar mulheres com maior risco de serem portadoras da doença ou de suas lesões precursoras. Dentre esses, destacam-se a Proteína Supressora de Tumor referida por p16 e o marcador de proliferação celular Ki67. A identificação simultânea desses marcadores aponta para um ciclo celular desregulado, ocasionado por ação de oncoproteínas superexpressas por tipos de HPV considerados de alto risco oncogênico (hrHPV): E6 e E7<sup>19-22</sup>. Estudos revelam diferentes desempenhos desses testes, especialmente quando usados na triagem de mulheres para colposcopia após resultados de células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US, do inglês *Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance*) e Lesão Intraepitelial de Baixo Grau (LSIL, do inglês *Low-grade squamous intraepithelial lesion*) e evidenciam um incremento em especificidade na inclusão desta etapa de triagem, evitando procedimentos diagnósticos desnecessários.

Em um estudo realizado no Brasil<sup>23</sup>, o desempenho da identificação dos biomarcadores (p16 e Ki67) em amostras celulares contribuiu para a identificação de casos de Neoplasia Intraepitelial Cervical de Alto Grau (NIC II ou III), especialmente nos casos de diagnósticos prévios de LSIL em mulheres com menos de 30 anos. Os resultados

revelaram a similaridade entre os métodos comparados, com melhor especificidade para biomarcadores em relação ao teste de DNA-HPV em mulheres com resultados prévios de ASC-US na faixa etária acima dos 30 anos.

Com relação à identificação do tipo de HPV presente, a literatura aponta que 72% dos casos de CCU são ocasionados pelos tipos de HPV 16 e 18, sendo o primeiro mais frequente em câncer de células escamosas e o segundo em casos de adenocarcinoma<sup>24,25</sup>. Mulheres com citologia ASC-US ou LSIL e teste DNA-HPV positivo para tipos hrHPV têm maior probabilidade de terem NIC II ou NIC III ou câncer (NIC II+), do que aquelas que apresentam esses resultados citológicos e teste de DNA-HPV negativo<sup>26-28</sup>.

Apesar de ampliar a capacidade de identificar os casos de maior probabilidade de evoluir para o câncer por meio da genotipagem, o teste de detecção do DNA-HPV apresenta algumas limitações, especialmente a de não revelar quais mulheres tem infecções transitórias, principalmente nas mais jovens e naquelas com LSIL, comprometendo a especificidade do teste, levando mais mulheres para colposcopia e podendo incorrer em sobrediagnóstico e sobretratamento<sup>3,15,23,26,29,30</sup>. Desse modo, têm sido recomendadas diferentes estratégias de rastreamento com testes de HPV em associação, após o exame citopatológico alterado, seguido do exame citopatológico ou isoladamente, na busca de maior sensibilidade e especificidade objetivando otimizar recursos e ampliar a efetividade dos programas<sup>26,31,32</sup>.

Portanto, assim como os testes já recomendados e utilizados no rastreio, os que utilizam biomarcadores podem ser incorporados e utilizados como uma etapa adicional para definir pelo encaminhamento imediato para colposcopia em casos de ASC-US ou LSIL.

No Brasil, diante de um resultado ASC-US ou LSIL é recomendada a repetição da citologia em tempos variáveis, entre 6 e 36 meses, na dependência da idade da mulher<sup>3</sup>. Todavia, esse seguimento apresenta limitações, dentre elas as altas taxas de absenteísmo

para o segundo exame, resultando em perdas de mulheres possivelmente com câncer ou portadoras de lesões precursoras que, dessa forma, podem ter seu diagnóstico e tratamento perigosamente adiado<sup>33,34</sup>. Nesse sentido este estudo almeja a avaliação do desempenho diagnóstico e da efetividade da dupla marcação de p16 e Ki67 e da repetição imediata da citologia na identificação de mulheres com lesões precursoras, dentre aquelas que apresentaram exame citopatológico inicial de ASC-US ou LSIL, no encaminhamento à colposcopia.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 CÂNCER DO COLO DO ÚTERO: ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

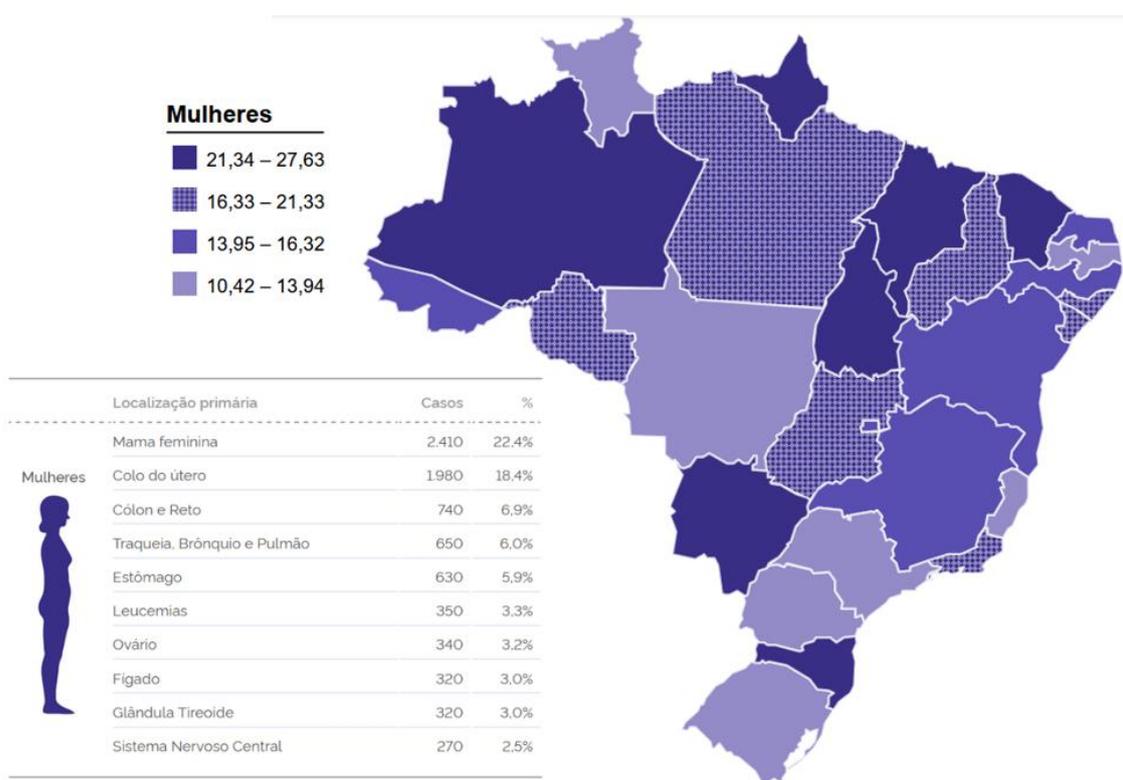
O CCU é um importante problema de saúde pública em diversos países por apresentar elevadas taxas de incidência e morbimortalidade, especialmente em nações em desenvolvimento, como por exemplo países da América Latina, Ásia e África. De acordo com dados globais, o CCU apresenta estimativa de 604.000 novos casos, sendo o quarto tipo de câncer mais incidente, com um risco estimado de 13,30 casos para cada 100.000 mulheres. Responsável por aproximadamente 342 mil óbitos por ano, é um dos principais motivos de óbito entre as mulheres em países com menor Índice de Desenvolvimento Humano (IDH), especialmente naqueles em que as diretrizes regulatórias de controle e vacinação não alcançaram os parâmetros recomendados<sup>31</sup>.

Esse cenário motivou o Diretor Geral da OMS a fazer uma “Chamada para Ação”, em 2018, com o lançamento de uma Estratégia Global para acelerar a redução do CCU como um problema de saúde pública<sup>35</sup> e, em 2021, na publicação das novas diretrizes com estratégias de rastreamento recomendadas para redução dos impactos dessa doença em todo o Mundo<sup>31</sup>. De acordo com a OMS, caso as novas diretrizes divulgadas em 2021 não sejam adotadas com brevidade e de forma universal, o número de mulheres acometidas com o CCU aumentará para 700.000 por ano entre 2020 a 2030, e o número total de óbitos passará para 400.000 por ano<sup>1,31,35</sup>.

No Brasil, apesar de haver um PNCCCU, com a linha de cuidado e níveis de assistência devidamente instituídos<sup>2,3,36</sup>, o adequado percurso das mulheres, em geral, não é completamente assegurado e o impacto na redução da doença tem sido pouco expressivo, com importantes discrepâncias regionais. De acordo com o INCA, em 2020 foram registrados 6.627 óbitos, com taxa de mortalidade de 6,12 mortes para cada 100.000

mulheres, e para a Região Norte este é o tipo de câncer que mais ceifa vidas, com 15,7% do total de óbitos por câncer<sup>37,38</sup>.

No cenário nacional projetado para o triênio 2023 a 2025, conforme a Figura 1, desconsiderando os tumores de pele não melanoma, o CCU é o segundo tipo de câncer mais incidente especialmente em estados que compõem a Região Norte. O Tocantins é o estado que apresenta a segunda maior Taxa de Incidência Bruta para o CCU na Região Norte, estimada em 22 casos para cada 100.000 mulheres<sup>4,38</sup>.



**Figura 1.** Representação espacial das taxas de incidência bruta por CCU, por 100 mil mulheres, por unidade da federação do Brasil, estimadas para o triênio 2023 a 2025 e distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2023, exceto pele não melanoma, para a Região Norte. Fonte: INCA, 2022<sup>4,38</sup>. Adaptado pela autora.

Durante a pandemia de Covid-19 houve uma importante redução das ações de rastreamento do câncer do colo do útero no Brasil. Essa redução se deu inicialmente pelas orientações de isolamento social e inseguranças quanto ao cenário epidemiológico da doença, mas também pelo necessário recrutamento da força de trabalho para o enfrentamento e assistência aos casos de doentes pelo vírus SARS-CoV-2<sup>39-41</sup>. Houve

redução importante no número de exames realizados no período de 2020 e 2021, assim como de outros atendimentos no nível secundário de atenção do SUS. Na tentativa de mitigar essa realidade, estratégias adicionais às Diretrizes Brasileiras foram recomendadas pelo INCA como forma de respaldar o serviço na priorização de atendimentos, direcionando esforços possíveis para o diagnóstico oportuno às mulheres com exames já alterados ou àquelas que apresentassem algum sinal ou sintomas possivelmente relacionados ao câncer, incentivando a busca ativa de casos e evitando exposição desnecessária às mulheres e profissionais de saúde<sup>39,41</sup>.

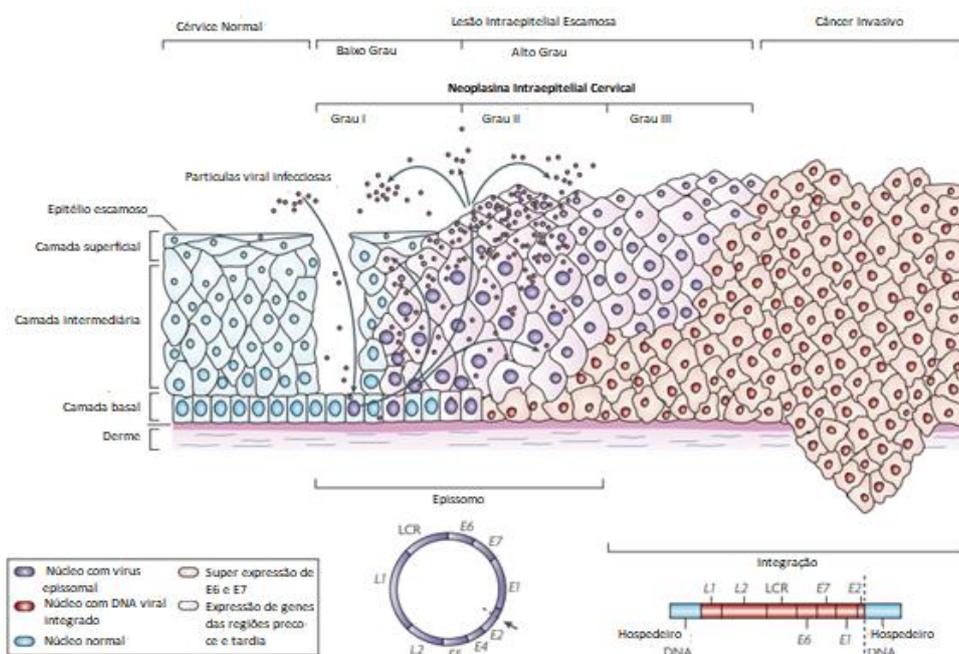
Após esse período extremamente crítico em todo o mundo, observa-se em dados de 2021 e 2022 disponíveis no Sistema de Informação do Câncer (SISCAN), um discreto aumento na produção do quantitativo de testes de citologia realizados no âmbito nacional, ainda com discrepâncias quanto a cobertura, a população alvo do rastreamento e a efetividade do programa<sup>38,39,42</sup>.

## 2.2 HISTÓRIA NATURAL DA DOENÇA

O CCU é precedido por um processo infeccioso, progressivo e lento, que se dá após o início da vida sexual da mulher, após a exposição aos tipos de hrHPV<sup>21,43</sup>. Estudos correlacionando a infecção por HPV ao desenvolvimento do CCU, iniciados na década de 1970, observaram a evolução de células obtidas de carcinoma de células escamosas e permitiram o isolamento dos tipos de HPV 6 e 11 na década de 1980<sup>30,44</sup>. Desde então, vários estudos foram dedicados a comprovar esta associação e a identificação de novos tipos do HPV presentes em lesões observadas na cérvix uterina<sup>17,29,45</sup>.

O desenvolvimento da lesão envolve a infecção de células basais normais (núcleos azuis na Figura 2)<sup>46</sup>, através de microfissuras na região da Junção Escamocolunar (JEC) ou em outras áreas do epitélio cervical. Após a infecção, os genes iniciais E1, E2,

E4, E5, E6 e E7 são expressos e o DNA viral se replica à partir do DNA episossomal<sup>24,44,47</sup>. Nas camadas superficiais do epitélio escamoso (células intermediárias e superficiais) o genoma viral é replicado intensamente e os genes tardios L1 e L2 e E4 são expressos para formar *virions* de progênie no núcleo, colaborar na replicação viral, alterando a estrutura celular e liberando as partículas virais. Essas alterações são evidenciadas como alterações celulares ditas de baixo grau. As alterações que implicam na progressão da lesão para o câncer são associadas à integração do genoma do HPV nos cromossomos hospedeiros (núcleos em vermelho na Figura 2), e envolvem uma complexa sequência de regulação da expressão gênica e celular<sup>46,47</sup>.



**Figura 2.** Representação da progressão mediada pela infecção por HPV ao CCU. Fonte: Woodman, 2007<sup>46</sup>. Adaptado pela autora.

A maioria das infecções por HPV são suprimidas por imunidade mediada por células, em uma dinâmica que envolve o recrutamento de células em um período de seis a dois anos após a exposição<sup>17,48,49</sup>. A evolução da doença é progressiva e lenta, e o risco para

progressão para o câncer está relacionado ao tipo de HPV e à presença de outros fatores associados como o tabagismo e fatores imunológicos. Outros fatores têm sido relacionados ao desenvolvimento de lesões relacionadas ao HPV, como nível socioeconômico e escolar, comportamento sexual e multiparidade<sup>44,47,48</sup>, que nos parecem *proxis* de dificuldade de acesso ao rastreamento e exposição aos HPV de alto risco.

### 2.3 DIAGNÓSTICO CITOPATOLÓGICO

A infecção pelo HPV promove alterações celulares que podem ser identificadas por meio da análise microscópica de células esfoliadas coradas, método utilizado no rastreio das lesões precursoras do CCU – exame citopatológico convencional ou de Papanicolaou. As alterações são identificadas como atipias celulares de origem cervical escamosa, glandular ou de ambas, e classificadas conforme o nível de comprometimento celular. Desde sua proposição, foi utilizada mais de uma classificação dos achados citológicos. A mais utilizada atualmente foi instituída em 1988 com a elaboração do Sistema Bethesda<sup>8,50</sup>, com o objetivo de padronizar os achados citológicos de diagnóstico e sua descrição para o clínico<sup>50,51</sup>.

Em 2001, houve uma segunda revisão do Sistema Bethesda, modificando algumas abreviações e classificações de alterações, principalmente na definição da origem das atipias (glandular, metaplásica ou escamosa) possibilitando o direcionamento das condutas clínicas diante destes resultados. A terceira versão do Sistema Bethesda foi lançada em 2015, com a recente tradução para a versão em português, e incluiu uma discussão aprofundada sobre a biologia e patogênese do HPV<sup>50,51</sup>.

No Brasil, a identificação e classificação dessas alterações celulares são consideradas para os passos seguintes a que mulheres portadoras deverão ser submetidas, incluindo o encaminhamento para as unidades de referência, repetição de citologia,

realização da colposcopia e procedimentos diagnósticos e terapêuticos, como biópsias e procedimentos excisionais<sup>3</sup>.

A padronização para os laudos segue a Nomenclatura Brasileira para Laudos Citopatológicos<sup>3,8</sup>. A aplicação desta nomenclatura é obrigatória na rede pública em todo o país, assim como a expedição de laudos conforme o formulário padronizado para o SISCAN. Esse sistema, instituído em 2013 no Sistema Único de Saúde, é adotado no Programa Nacional para o registro das informações das mulheres rastreadas e do seguimento após um exame alterado<sup>3</sup>.

#### 2.4 O PAPILOMAVIRUS HUMANO (HPV) E SEU ENVOLVIMENTO NA CARCINOGENESE CERVICAL

A causa necessária embora não suficiente para o desenvolvimento do CCU é a infecção persistente pelo HPV, presente em aproximadamente 99,7% dos casos<sup>52</sup>. É um vírus de DNA, pertencente à família *Papillomaviridae*, com genoma central, único, composto por duas espirais de ácido desoxirribonucleico (DNA) circular de dupla hélice, com cerca de 8.000 pares de bases, capaz de codificar 300.000 daltons de proteína. Tem 55nm de diâmetro, não envelopado, simetria icosaédrica sem lipídios em sua estrutura<sup>24,44,49</sup>. O genoma episossomal está dividido em três regiões principais (Figura 3):

1) Região precoce ou *Early* (E), que codifica as proteínas não estruturais E1, E2, E4, E5, E6 e E7 e representa 45% do genoma viral, com oito genes;

\*E1: tem papel na replicação e na regulação da replicação;

\*E2: é reguladora da transcrição e replicação viral e faz controle da região de expressão precoce E, necessária para a replicação viral eficiente junto com E1;

\*E4: é expressa principalmente no epitélio em diferenciação, associada ao citoesqueleto de ceratina de células epiteliais de cultura. Tem papel na liberação do vírus;

\*E5: sua função não é bem definida. Possivelmente estimula o início da proliferação celular *in vivo*, mas pode ter um papel na iniciação da carcinogênese;

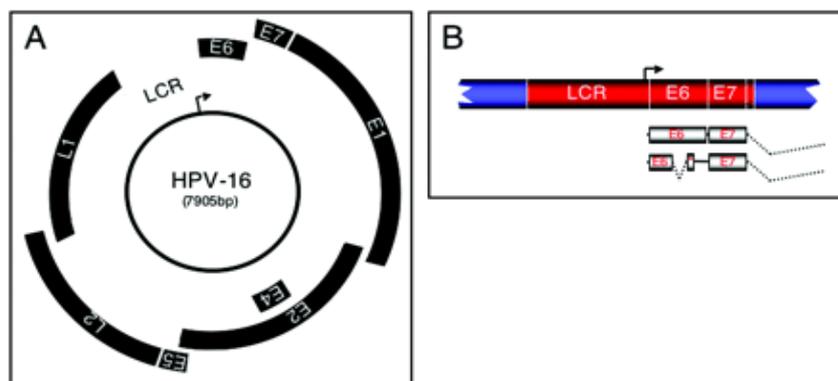
\*E6 e E7: atuam na modulação de atividade de proteínas celulares que regulam o ciclo celular e estão envolvidas na oncogenicidade: E6 – inativa a p53 através da degradação rápida da ubiquitina; E7 – induz a síntese de DNA em células em repouso. Liga-se à forma hipofosforilada da proteína do retinoblastoma (pRb), resultando em sua inativação funcional e permitindo a progressão funcional para a fase S do ciclo celular. As atividades de E6 e E7 são menos eficientes nos tipos de HPV de baixo risco oncogênico.

2) Região tardia ou *Late* (L), responsável pela síntese das proteínas L1 e L2 do capsídeo:

\*L1: é a proteína do capsídeo de maior tamanho (55kDa), representando 80% da proteína viral total. É gênero específica e é um sinalizador indireto para a carga viral;

\*L2: é a proteína que desempenha papel importante para a encapsulação do DNA do vírus e capsídeos virais. É tipo-específica.

3) Região regulatória ou *Long Control Region* (LCR): contém elementos que regulam a replicação viral e a expressão gênica. É a única região que contém o ORF (*Open Reading Frames*), que são expressas por meio de RNAm, transcritos por uma fita de DNA. Podem variar de tamanho.



**Figura 3.** (A) Representação esquemática do genoma circular do DNA do HPV16. (B) Estrutura esquemática do fragmento mínimo do genoma (vermelho) integrado ao cromossomo do hospedeiro (azul). Fonte: Munger *et al.* 2004<sup>44</sup>.

Mais de 200 tipos de HPV já foram descritos e novos tipos são enumerados à medida que são identificados<sup>44</sup>. Dos 40 tipos reconhecidos e descritos com associação à infecção anogenital, 14 são apontados como carcinogênicos em humanos<sup>53</sup> e, desses, 8 representam 95% dos casos confirmados (tipos 16, 18, 45, 31, 33, 52, 58 e 35)<sup>54</sup>. Esses últimos têm tropismo pelas células localizadas na JEC<sup>44</sup>. Apesar do mecanismo de ligação celular ao HPV não estar bem definido, o receptor de membrana integrina  $\alpha 4\beta 6$  tem sido descrito com esse papel<sup>44</sup>. De acordo com a literatura, os processos que regulam a captação do vírus, a perda do capsídeo e integração nuclear do genoma viral e a latência permanecem obscuros<sup>44,53</sup>.

O DNA viral é mantido com um número baixo de cópias (100 a 200 cópias) nos núcleos das células basais infectadas por um longo período (fase latente). À medida que o *status* viral persiste, a modulação imunológica pode limitar a infecção a essas células basais. Quando ocorre a diferenciação celular e as células filhas são movidas em direção à superfície do epitélio, a fase lítica é iniciada, o DNA viral é replicado intensamente, os genes tardios são expressos e o vírus da progênie é produzido e eliminado do núcleo. Nesse momento, a proteína E4 se associa aos filamentos intermediários de queratina, afetando a estabilidade mecânica da rede formada por essa proteína, o que facilita a liberação de partículas virais<sup>44,52,53,55</sup>.

A reprogramação da atividade intracelular para a reprodução de novas cópias do vírus promove a liberação de novas partículas virais para o meio extracelular, o que ocasiona a infecção de células adjacentes. Aos poucos, a população de células infectadas vai se ampliando em proporção, alcançando outras camadas que compõem o epitélio. Em um novo estágio, há a replicação celular (especialmente pela atuação das proteínas E6 e E7)

e desativação das vias que promovem apoptose e a regulação do ciclo celular, o que leva a proliferação descontrolada das células e ao desenvolvimento do tumor<sup>53</sup>.

A expressão da proteína E2 também é requisitada e está associada aos casos de progressão à malignidade<sup>44,47,56</sup>. De forma minuciosa, nesta dinâmica, as proteínas E6 e E7 atuam nas vias de transdução de sinais moleculares e inativação das vias de regulação do ciclo celular. A E7 degrada a proteína supressora de tumor retinoblastoma (pRb), que expõe o fator de transcrição E2F ocasionando a superexpressão de p16, além de desestabilizar as “*pocket proteins*” ou proteínas pequenas, especialmente a p107 e p130, que atuam regulando fatores de transcrição e regulação do ciclo celular. Essa interação de E7 com as p107 e p130 é crítica para a manutenção do meio celular propício à desestabilização e transformação celular<sup>17,29,44,57</sup>.

A proteína E7 apresenta a capacidade de comprometer atividades inibidoras de crescimento que são controladas por inibidores de quinase dependentes de ciclina, incluindo p21 e p27, que atuam como reguladores críticos da parada do ciclo celular durante a diferenciação dos queratinócitos<sup>44,46,58</sup>. Outras proteínas que interagem com E7, que incluem fatores de transcrição, reguladores do ciclo celular e enzimas metabólicas, tiveram seu isolamento e identificação descritos na literatura, porém, a importância dessas interações ainda não é completamente conhecida. O domínio terminal carboxil de E7 contribui para a associação com enzimas modificadoras da cromatina, especialmente a histona desacetilases e histona acetil transferases. Também há o relato que o E7 interage com os coativadores de transcrição p300, CBP e pCAF, contribuindo na transformação de atividades de proteínas de alto risco para o HPV E7<sup>59-61</sup>.

Em outra via, o p53 (gene supressor tumoral) é ativado quando há o reconhecimento de proteínas reguladoras que identificam dano ao DNA e a regulação das fases G1/S e G2/M do ciclo celular<sup>44</sup>. Nas células, as proteínas E6 atuam se ligando à p53

e E6AP, promovendo a degradação deste supressor tumoral e a inativação desta via de apoptose celular. Outras proteínas pró-apoptose também têm atividade comprometida por influência de E6, o que compromete as vias de transdução de sinais, e desencadeia a expressão da subunidade catalítica da telomerase humana (hTERT - *catalytic subunit of human telomerase*), que induz a permanência da fase S do ciclo celular, intensificando a replicação do DNA viral<sup>44,46,53,57,62</sup>.

Cada ciclo de replicação do DNA indica a redução da porção terminal dos telômeros, e esse encurtamento restringe a capacidade proliferativa das células somáticas normais. A expressão do hTERT evidencia que há a ativação do prolongamento da vida útil e imortalização celular. A superexpressão desta proteína está associada à carcinogênese *in vivo*, também reproduzida *in vitro*, e à atividade transcricional e aberrações cromossômicas, que são proporcionais ao potencial oncogênico do HPV<sup>47,49,57,62,63</sup>.

## 2.5 BIOMARCADORES p16 E Ki67

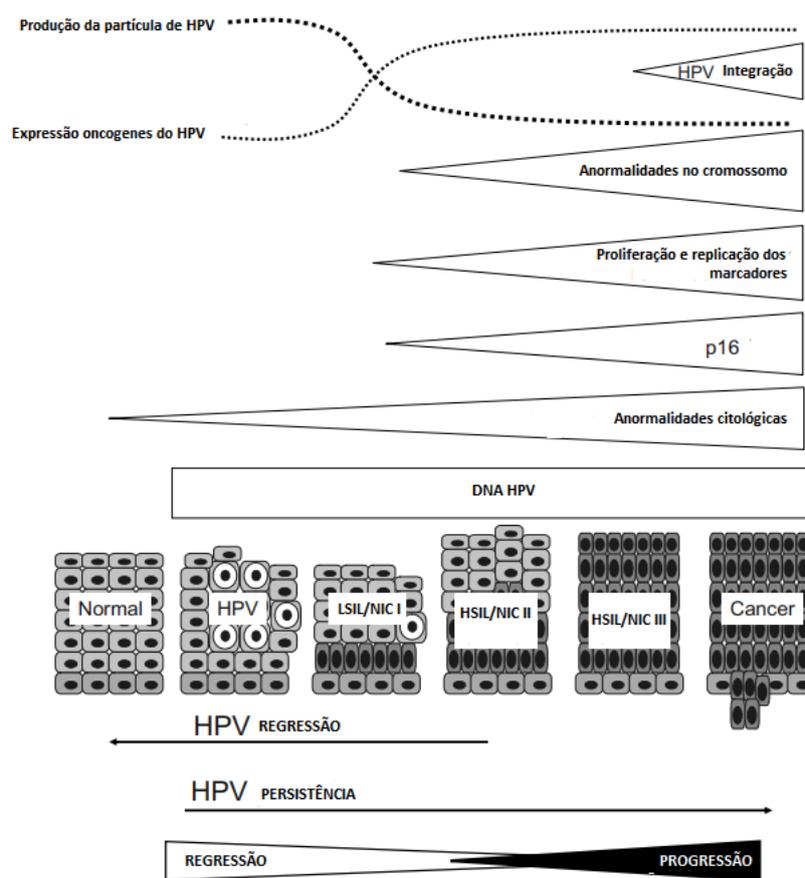
A definição de biomarcador foi dada inicialmente em 1998 pelo *National Institutes of Health Biomarkers Definitions Working Group* como sendo “*uma característica que pode ser medida de forma objetiva e avaliada como indicador de processos biológicos normais, patogênicos ou respostas farmacológicas a uma intervenção terapêutica*”<sup>64</sup>. Com o avanço da compreensão acerca dos mecanismos de resposta celular ao HPV, algumas proteínas superexpressas podem indicar a ativação de processos carcinogênicos, sendo aplicados como biomarcadores.

A aplicabilidade desses marcadores no rastreamento do CCU tem sido estudada<sup>13,19,20,30,65,66</sup>. A metanálise conduzida por Peeters *et al.*, avaliou estudos disponíveis na literatura para definir a precisão dos testes de dupla marcação de p16 e Ki67 em mulheres com resultados prévios de ASC-US ou LSIL, concluindo que a positividade

desse teste aumenta a sensibilidade e especificidade para a identificação de mulheres com NIC II ou NIC III<sup>19</sup>.

A proteína p16 é uma inibidora dependente da CDK (*cyclin-dependent kinases*) que atua na regulação da divisão celular. Ao interagir com CDK4 e CDK6, a p16 inibe a formação de um complexo de ciclina (uma proteína estimulante da proliferação celular), inativando a CDK<sup>53</sup>, e da proteína pRb, levando à parada do ciclo celular na fase G1<sup>67,68</sup>. Já a oncoproteína E7 induz a liberação de E2F e se liga à pRb, contribuindo para o início da progressão tumoral<sup>69</sup>. A ação da proteína p16 é bloqueada, que incorre na acumulação no núcleo e citoplasma dos ceratinócitos. Desta forma, a superexpressão da p16 serve como um marcador da inativação da pRb, e é proporcional à evolução da neoplasia, apontando para sua utilidade no diagnóstico, especialmente de casos indeterminados ou de lesões ainda em desenvolvimento e o ponto focal da observação da marcação<sup>13,70-72</sup>.

A presença de p16 em exames de mulheres com citologia ASC-US ou LSIL pode identificar aquelas com maior risco de apresentar lesões precursoras (NIC II+) ou o CCU<sup>13,20,23,30,66</sup>. A expressão da proteína p16 pode ser identificada à partir de LSIL ou NIC I, no avanço das anormalidades citológicas, e está diretamente correlacionada com a presença de hrHPV<sup>30,73</sup> e, à medida que a infecção persiste, modula a expressão oncogênica, a instabilidade cromossômica e a integração do gene do vírus ao genoma celular, o que sinaliza a progressão ao câncer<sup>73,74</sup>, conforme demonstrado na Figura 4.



**Figura 4.** Modelo de representação da progressão da carcinogênese promovido por HPV, destacando a proliferação e replicação dos marcadores, incluindo p16. Fonte: Wentzensen e Doeberitz, 2007<sup>74</sup>. Adaptado pela autora.

A coloração de p16 foi analisada na metanálise de Peeters *et al.*<sup>19</sup>, concluiu por semelhante sensibilidade na identificação de casos clinicamente relevantes, porém conclui pela perda de especificidade em 13% para os casos iniciais de ASC-US e de 15% para mulheres com LSIL, na comparação com resultados de testes com a dupla marcação de p16 e Ki67.

Por sua vez, a proteína nuclear Ki67, é expressa e tem variação de sua presença à depender do estágio da divisão celular. Na interfase encontra-se presente no núcleo, associado ao nucléolo, dissociando e migrando para a periferia microssomal na fase da Prófase. Nas etapas de Metáfase e Anáfase a proteína Ki67 é identificada na periferia microssomal encobrindo a cromatina. Na Telófase a Ki67 é novamente visualizada nos

núcleos recém formados na fase G1<sup>75</sup>. A literatura indica que a identificação da superexpressão da Ki67 pode ser aplicada para o diagnóstico de casos de CCU, por indicar presença de processo de proliferação celular<sup>76</sup>. O uso combinado com outros marcadores, a exemplo de p16, representa desregulação do ciclo celular e juntos são considerados sinal específico do mecanismo neoplásico ativo<sup>30</sup>. Em caso de infecção por tipos de hrHPV, evidencia-se que a ação das proteínas necessárias para a proliferação celular está alterada, permitindo que o HPV estimule a entrada da fase S, bloqueando os mecanismos de apoptose com a degradação de p53 e dos demais mecanismos de regulação da progressão celular<sup>52</sup>.

O Ki67 é um marcador de proteína não histônica de proliferação celular e é expresso em todas as fases do ciclo celular, exceto em G0<sup>52,66</sup>, demonstrando seu crescimento na forma de tumores e sugerindo malignidade<sup>77</sup>. A literatura aponta que a positividade do Ki67 na imunohistoquímica representa maior proliferação das lesões intraepiteliais de alto grau<sup>78-80</sup>. Essa proliferação desregrada verificada nas células malignas marcadas pelo Ki67 pode servir como diagnóstico para os processos oncogênicos facilitando e permitindo análises relativamente simples e economicamente viáveis<sup>78,79</sup>.

Diversos estudos vêm sendo apresentados com o intuito de comprovar e comparar a eficiência da Dupla Marcação imunocitoquímica para p16 e Ki67 com outros modelos de detecção<sup>16,19,23,81-83</sup>. Estes estudos apresentam elevada uniformidade relativa ao teste utilizado e à classificação de uma amostra como positiva (quando pelo menos uma célula apresenta, simultaneamente, coloração vermelha no núcleo – Ki67 – e coloração castanha no citoplasma – p16)<sup>84</sup>. A marcação conjunta de p16 e Ki67 confere maior especificidade, e é amplamente referenciada na literatura na avaliação da indicação de processos carcinogênicos promovidos por hrHPV<sup>30,31,78,85-87</sup>, sendo o Ki67 importante na distinção de processos de Neoplasia Intraepitelial Cervical daquelas reações inflamatórias

locais e transitórias<sup>74</sup>. Entretanto, ainda são requeridos estudos que subsidiem a padronização de protocolos alternativos aos métodos de DNA-HPV, com algoritmos eficazes para a efetividade na redução da doença.

## 2.6 RASTREAMENTO E CONTROLE DO CÂNCER DO COLO DO ÚTERO NO BRASIL

O Brasil, assim como outros países, possui diretrizes nacionais bem estabelecidas para o controle e diminuição do CCU, com definição de faixa etária e da população-alvo, periodicidade de realização do exame e conduta para tratamento e seguimento das mulheres com exames alterados. Essas diretrizes têm como objetivo principal reduzir a incidência e a morbimortalidade e melhorar a qualidade de vida de mulheres acometidas por câncer do colo de útero, fornecendo base científica consistente e atualizada para as equipes multiprofissionais de saúde em aspectos relacionados ao diagnóstico precoce, prevenção e o tratamento da doença<sup>3</sup>.

O Brasil implementou o PNCCCU em 1998. Entretanto, as primeiras medidas adotadas no campo da política pública de prevenção do CCU no Brasil, datam de 1984, definidas entre as ações do Programa de Atenção Integral à Saúde da Mulher (PAISM), estimulando a coleta de material para o exame citopatológico como procedimento de rotina na consulta ginecológica<sup>2,88,89</sup>. Anos mais tarde (1986), o Ministério da Saúde iniciou o projeto que visava a expansão de medidas de controle e prevenção do CCU, que garantiriam a ampliação da rede de amostragem e coleta dos materiais e da capacidade de laboratórios de citopatologia em todo o território nacional, estabelecendo a faixa etária e a periodicidade para o exame de prevenção do câncer do colo de útero<sup>3</sup>.

Contudo, foi apenas no ano de 1998, após avaliação de um projeto de expansão do Viva Mulher, que o Ministério da Saúde instituiu o PNCCCU, coordenado pelo Instituto

Nacional de Câncer (INCA). Entretanto, o PNCCCU só foi implementado oficialmente e publicado no Diário Oficial da União pela Portaria/SAS/MS nº 408, de 30 de julho de 1999, na qual estabelecia o objetivo de gerenciar as ações de rastreamento do câncer do colo de útero<sup>3,88,90</sup>. Posteriormente o PNCCCU foi aperfeiçoado e, em 2006, foi implantada uma nova versão do Sistema de Informação do Colo (SISCOLO - 4.0), pela Portaria/SAS/MS nº 287, de 24 de abril de 2006, almejando a detecção precoce do câncer do colo de útero, por meio da inclusão de indicadores específicos na pactuação de metas com estados e municípios<sup>3,91</sup>.

Atualmente o Ministério da Saúde recomenda o rastreamento com o exame citopatológico de mulheres na faixa etária de 25 a 64 anos, a cada três anos após dois exames negativos realizados anualmente<sup>3</sup>. Vale ressaltar que apesar de inúmeras melhorias no sistema de rastreamento e controle, o Brasil ainda não desenvolve práticas comuns em países desenvolvidos como Canadá, Austrália e países integrantes da União Europeia, onde os serviços de saúde fazem um recrutamento ativo da população-alvo para o rastreamento e seguimento após rastreamento. No Brasil, o rastreamento ainda é oportunístico, com procura ocasional e espontânea dos serviços de saúde por parte das mulheres. Essa forma de rastreamento, além de ser menos eficiente no impacto sobre a morbimortalidade, é mais onerosa para o sistema de saúde<sup>3,88</sup>.

O rastreamento realizado por exame citopatológico do colo do útero é considerado a principal estratégia para a detecção precoce do CCU adotada pelo Ministério da Saúde, sendo reconhecido mundialmente como seguro e eficiente quando aplicado de maneira adequada. Seu principal objetivo é detectar de maneira precoce o CCU e suas lesões precursoras permitindo seu tratamento antes da sua evolução. Estima-se que com uma cobertura da população-alvo de pelo menos 80% e com tratamento adequado das lesões

precursoras é possível obter um queda de até 90% da incidência total de câncer de colo do útero<sup>3,31</sup>.

As principais ações, integrantes de políticas públicas de prevenção do CCU no Brasil, são apresentadas no Quadro 1.

**Quadro 1.** Principais marcos do controle do câncer do colo do útero no Brasil

<b>Brasil</b>	
<b>Ano</b>	<b>Ação</b>
1984	Lançamento do Programa de Assistência Integral à Saúde da Mulher, com destaque para a prevenção dos cânceres do colo do útero e da mama;
1986	Criação do Programa de Oncologia do Instituto Nacional de Câncer/Ministério da Saúde (Pro-Onco) com foco nos quatro tipos de câncer mais incidentes, entre eles o do colo do útero;
1995	Elaboração do projeto piloto do Programa Nacional de Controle do Câncer do Colo do Útero (PNCCCU);
1997	Implantação do projeto-piloto Viva Mulher em seis localidades (Curitiba, Brasília, Recife, Rio de Janeiro, Belém e estado de Sergipe);
1998	Instituição do Programa Nacional de Combate ao Câncer de Colo do Útero (PNCCU), com lançamento da primeira fase de intensificação do Viva Mulher;
1999	Criação do Sistema de Informação do Câncer do Colo do Útero – SISCOLO;
2002	Realização da segunda fase de intensificação do Programa Viva Mulher;
2003	Publicação da 1ª edição da Nomenclatura Brasileira para Laudos Citopatológicos Cervicais;
2005	Elaboração do Plano de Ação para o Controle dos Cânceres de Colo e de Mama 2005-2007;
2006	Inclusão no Pacto pela Saúde de indicadores e metas a serem atingidos nos estados e municípios visando à melhoria do desempenho das ações de controle do CCU; publicação dos Laudos Citopatológicos e Condutas Clínicas Preconizadas;

**Quadro 1.** Principais marcos do controle do câncer do colo do útero no Brasil (continuação)

<b>Brasil</b>	
<b>Ano</b>	<b>Ação</b>
2011	Lançamento do plano nacional de fortalecimento da rede de prevenção, diagnóstico e tratamento do câncer, com priorização do controle do câncer do colo do útero; Lançamento do Plano de ações estratégicas para o enfrentamento das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) no Brasil 2011-2022 (2011); publicação das Diretrizes Brasileiras para o Rastreamento do Câncer do Colo do Útero pelo INCA;
2013	Lançamento das Diretrizes para o Controle do Câncer na Rede de Atenção à Saúde das Pessoas com Doenças Crônicas no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS);
2014	Publicação da Portaria QUALICITO, que instituiu o Programa de Monitoramento Externo da Qualidade em Citopatologia para Laboratório Tipo II; Publicação da Portaria que instituiu o Serviço de Referência para Diagnóstico e Tratamento de Lesões Precursoras do Câncer do Colo do Útero (SRC);
2016	Publicação da 2ª edição revista, ampliada e atualizada das Diretrizes Brasileiras para o Rastreamento do Câncer do Colo do Útero Publicação da 2ª edição revista e ampliada do Manual de Gestão da Qualidade para Laboratório de Citopatologia;
2021	Atualização dos parâmetros técnicos para a organização da rede assistencial no Rastreamento do Câncer do Colo do Útero por meio da publicação do Manual do Sistema de Informação do Câncer (módulo I e II); Plano de Ações Estratégicas para o Enfrentamento das Doenças Crônicas e Agravos não Transmissíveis no Brasil 2021-2030; Publicação da Portaria N°84 que institui a Câmara Técnica Assessora para o enfrentamento do Câncer de Colo do Útero no âmbito da Atenção Primária à Saúde com o objetivo de promover discussões, avaliar e propor medidas, por meio do intercâmbio de conhecimentos e experiências, visando ao aperfeiçoamento de ações estratégicas e ao auxílio técnico científico para a tomada de decisões sobre questões direta ou indiretamente relacionadas ao Câncer de Colo do Útero;

Fonte: Elaborado pela autora, com base nos documentos consultados<sup>2,3,6,33,92</sup>.

## 2.7 DIRETRIZES PARA O CONTROLE DO CÂNCER DO COLO DO ÚTERO

Tratam-se de orientações direcionadas aos profissionais de saúde e à população em geral com o objetivo de reunir as melhores condutas, pautadas em evidências, para o manejo clínico e o controle do CCU, possibilitando a organização dos serviços prevendo uma linha de cuidado contemplando as situações mais comuns, no âmbito do território nacional<sup>3</sup>.

As Diretrizes Brasileiras definem critérios de cobertura, periodicidade, população-alvo, controle e diagnóstico precoce<sup>3</sup>. Atingir alta cobertura da população alvo é um dos indicadores no âmbito da Atenção Primária<sup>93</sup> e reiterado na nova versão das Diretrizes da Organização Mundial da Saúde (OMS), publicadas no ano de 2021<sup>31</sup>.

Na nova versão das Diretrizes da OMS, está prevista a implementação de novas estratégias para prevenir 62 milhões de mortes nos próximos 100 anos<sup>31</sup>. A OMS inclui recomendações para os governos no sentido de garantir investimento em saúde pública para melhorar o diagnóstico do câncer cervical fortalecendo processos e incluindo outras opções de exames que possam alcançar mais mulheres e salvar mais vidas. A estratégia elencada almeja acelerar a eliminação da doença, incluindo, em suma, as seguintes ações:

*“Metas relacionadas a redução de 90%, 80% e 70%, para que os países devem cumprir até 2030 para estarem no caminho da erradicação do câncer do colo do útero;”*

*“Estar com no mínimo 90% das meninas totalmente vacinadas contra o HPV aos 15 anos;”*

*“No mínimo 70% das mulheres devem passar pelo teste de triagem de alto desempenho antes do 35º aniversário e novamente antes do 45º aniversário, entretanto, mulheres que possuem o vírus HIV esse acompanhamento deve começar a partir de idades mais precoces;”*

*“90% das mulheres diagnosticadas com doença cervical recebem tratamento (90% das mulheres com lesões pré-cancerosas recebem tratamento; 90% das mulheres com câncer invasivo recebem cuidados adequados)”<sup>31</sup>.*

Assim, a OMS afirma que a estratégia para erradicação do câncer do colo do útero se dará de maneira conjunta entre os países para desenvolver e implementar

programas abrangentes alinhados com a estratégia global<sup>31</sup>. O estabelecimento de novas estratégias com uso de outros testes é mencionado, incluindo o uso de biomarcadores, a exemplo da dupla marcação de p16 e Ki67, assim que novas evidências sejam consolidadas para recomendação aos casos em que podem ser aplicáveis e custo-efetivos.

### 3. JUSTIFICATIVA

O uso de outros testes ou estratégias de combinação de testes tem buscado o aprimoramento do rastreamento para maior efetividade na identificação de mulheres com maior probabilidade de serem portadoras de CCU ou suas lesões precursoras. Esse é um desafio relevante pois o exame citopatológico de rastreamento mostra resultado ASC-US ou LSIL em parcela significativa das mulheres que fazem seu rastreamento no SUS: nos últimos cinco anos, conforme dados disponíveis na base de dados do DATASUS, 2,2% do total de exames realizados e 69,5% dos resultados alterados apresentavam um desses resultados<sup>42</sup>.

Nas Diretrizes Brasileiras para o Rastreamento do Câncer do Colo do Útero<sup>3</sup>, a recomendação após os resultados de ASC-US ou LSIL é pela repetição da citologia em 6 ou 36 meses, a depender da faixa etária, e caso persista um desses resultados ou outro mais relevante, encaminhamento à colposcopia. Todavia, o que ocorre é que muitas mulheres não realizam o segundo exame, levando à perda de uma parcela de mulheres com lesões precursoras ou câncer não diagnosticados no exame inicial. No Tocantins, até 55,9% das mulheres com um desses resultados não realizaram o segundo exame entre 6 meses e 3 anos após o primeiro exame alterado no período de 2008 a 2013, mesmo dentre aquelas em que a recomendação é pela repetição em até 12 meses<sup>94</sup>. Essa perda de mulheres no seguimento de uma citologia alterada pode acontecer em outras regiões do Brasil, em menor ou maior grau, especialmente em regiões em que as mulheres têm dificuldade de acesso à Atenção Primária de Saúde, reforçando a necessidade de investigação de novas estratégias para o rastreamento que identifiquem aquelas com maior probabilidade de serem portadoras de CCU ou suas lesões precursoras e que necessitam do encaminhamento imediato à colposcopia.

A incorporação da citologia em meio líquido para o rastreamento de CCU, como alternativa de método adotado no SUS<sup>95</sup>, pode representar uma oportunidade para novas estratégias que utilizem essa amostra para outros testes, permitindo a identificação de casos para encaminhamento imediato à colposcopia e, assim, contribuir para melhor especificidade do rastreamento iniciado com o exame citopatológico.

Sobre a recomendação do teste de DNA-HPV após um resultado alterado, o rastreio apresenta melhor desempenho, especialmente quando o teste molecular é aplicado em mulheres com 30 anos, o que contribui para aumentar a sua especificidade e evitar o encaminhamento de um maior número de mulheres para colposcopia, assim como as perdas indesejadas<sup>31</sup>. Todavia, no Brasil, os testes de DNA-HPV ainda não estão disponíveis no SUS. Nesse contexto, a utilização de marcadores moleculares, como o p16 e o Ki67 pode ser uma alternativa por envolver tecnologia que requer investimento de menor custo e menos adequações estruturais nos laboratórios em atividade. Esses testes já foram incorporados pelo SUS<sup>96</sup>, dessa forma é possível solicitar nova avaliação para incorporação da metodologia com a aplicação da técnica para amostras de espécimes celulares.

Apesar do registro na literatura de estudos que tratam sobre o uso de biomarcadores e sua aplicabilidade a mulheres com citologia ASC-US ou LSIL<sup>19,23,97</sup>, estudos prospectivos com a inclusão de maior número de participantes, em diferentes populações e regiões, incluindo o contexto do rastreamento no SUS, devem ser realizados para avaliação do desempenho em diferentes cenários<sup>31,70</sup>.

Vários estudos demonstram a acurácia dos testes de Dupla Marcação com p16 e Ki67, validando-o como um teste de triagem para casos de lesões promovidas pela infecção persistente por HPV<sup>16,19,23,30,73,74,86</sup>. As Diretrizes da OMS, divulgadas em 2021, mencionam essa possibilidade<sup>31</sup>. Todavia, esse documento deixou de incluir esse teste nas estratégias propostas por considerar a necessidade de resultados mais consistentes. Esse

contexto reforça a necessidade de desenvolvimento de estudos que subsidiem a incorporação desse teste na recomendação para o rastreamento e encaminhamento à colposcopia<sup>31</sup>.

A comparação da dupla marcação com outros tipos e estratégias de uso de testes, como o de DNA-HPV, reforçam que, em outros cenários, com pequenas variações para mulheres com ASC-US ou LSIL, há maior probabilidade de identificar NIC III, quando o teste de dupla marcação é positivo<sup>19</sup>.

Assim, os resultados deste trabalho podem contribuir para a implementação de uma estratégia de triagem e identificação de mulheres com citologia ASC-US ou LSIL com recomendação de encaminhamento imediato para a colposcopia daquelas com maior probabilidade de serem portadoras de CCU ou suas lesões precursoras, colaborando para a redução das perdas de seguimento e de oportunidade de tratamento, contribuindo para a efetividade do rastreamento em nosso país.

#### **4. HIPÓTESE**

O teste imunocitoquímico de Dupla Marcação por p16 e Ki67 é capaz de identificar mais mulheres com lesões precursoras ou câncer com resultado citopatológico prévio ASC-US/LSIL sem aumento significativo de encaminhamentos para colposcopia em relação à repetição imediata do exame citopatológico.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 OBJETIVO GERAL

Analisar o desempenho dos testes de Dupla Marcação por p16 e Ki67 em amostras de células cervicais, comparando-o à repetição imediata do exame citopatológico em mulheres com resultado de citologia de rastreamento ASC-US ou LSIL<sup>1</sup>.

### 5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Descrever o desempenho da repetição da citologia e Dupla Marcação por p16 e Ki67 em mulheres com resultado prévio de ASC-US e LSIL para o diagnóstico do câncer cervical e suas lesões precursoras;
2. Comparar o desempenho diagnóstico das estratégias de triagem de mulheres com resultado prévio de ASC-US e LSIL pela repetição imediata da citologia, considerando positiva para resultados de ASC-US<sup>2</sup>, ou para resultado ASC-H<sup>3</sup>, pela Dupla Marcação por p16 e Ki67 e pelo resultado positivo para a marcação de p16 ou Ki67;
3. Comparar o percentual de mulheres com resultado prévio de ASC-US e LSIL que seriam encaminhadas para colposcopia e o percentual de câncer ou suas lesões precursoras detectadas e perdidas na repetição imediata da citologia e na Dupla Marcação por p16 e Ki67.

---

<sup>1</sup> Apesar de fazer parte do projeto desse estudo, os testes de HPV não puderam ser concluídos, conforme descrito nas Limitações do Estudo e, por esse motivo, deixaram de ser mencionados nos objetivos.

<sup>2</sup> Células Atípicas de Significado Indeterminado ou mais relevante.

<sup>3</sup> Células Atípicas de Significado Indeterminado, não podendo excluir lesão de alto grau ou mais relevante.

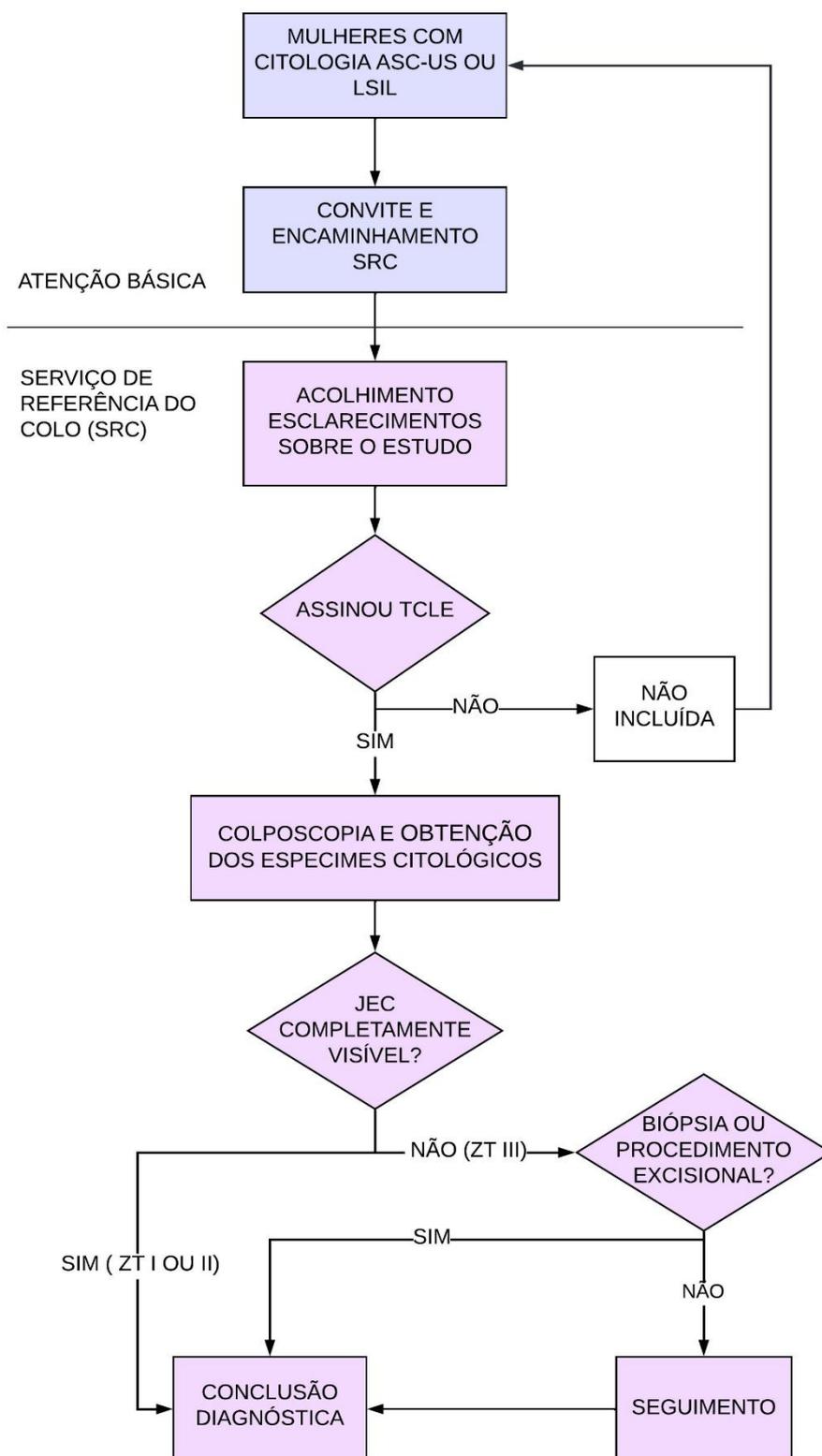
## 6. METODOLOGIA

### 6.1 DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo transversal, com recrutamento de mulheres com resultados de citologia de rastreamento ASC-US ou LSIL, atendidas em unidades de saúde de duas regiões brasileiras com características diversas: os municípios do Rio de Janeiro e de Palmas e Porto Nacional, no Tocantins, mediante convite à participação conforme Apêndices (I e II). Todas as mulheres recrutadas e incluídas foram encaminhadas ao atendimento especializado nos SRC participantes onde foram acolhidas, entrevistadas (Apêndice III) e submetidas à realização da coleta de espécime citológico em meio líquido e colposcopia, conforme Figura 5. As amostras coletadas foram encaminhadas para o processamento dos testes de citologia em meio líquido (CML), imunocitoquímica (Dupla Marcação de p16 e Ki67) e teste de DNA-HPV<sup>4</sup>.

---

<sup>4</sup> Apesar de não incluído nos objetivos do estudo, durante a execução do projeto todas as alíquotas para a realização do teste de DNA-HPV foram preparadas e realizadas as etapas que foram possíveis, em conformidade com os protocolos padronizados. Contextualizamos nas Limitações do estudo as dificuldades para a não obtenção dos resultados.



**Figura 5.** Fluxograma de recrutamento e seguimento das mulheres participantes.

## 6.2 POPULAÇÃO, LOCAL E PERÍODO

**(a) Em Tocantins:** mulheres com resultado ASC-US ou LSIL atendidas nas unidades primárias de saúde de Palmas e Porto Nacional, em Tocantins, no período de agosto de 2019 a novembro de 2022 foram consideradas elegíveis e convidadas a participar desse estudo. Caso aceitassem, eram encaminhadas a um dos SRC participantes, localizados nas cidades de Palmas (AMAS – Ambulatório de Atenção à Saúde Dr. Eduardo Medrado) ou Porto Nacional (ASPEL – Centro de Saúde Dr. Eduardo Manzano), conforme regionalização existente;

**(b) No Rio de Janeiro:** mulheres com resultado ASC-US ou LSIL atendidas nas unidades primárias de saúde da Área Programática (AP) 2.1, Zona Sul do município do Rio de Janeiro, no período de outubro de 2019 a novembro de 2022 foram consideradas elegíveis e convidadas a participar e, caso aceitassem, encaminhadas ao Ambulatório de Patologia Cervical do Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira, da Fundação Oswaldo Cruz (IFF/Fiocruz).

## 6.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO, EXCLUSÃO E PERDAS

Foram incluídas mulheres com citologia de rastreamento com resultado ASC-US ou LSIL que aceitaram participar do estudo e recebidas nos SRC de Tocantins ou do Rio de Janeiro no período mencionado. Foram excluídas aquelas que estivessem gestantes e as que tinham histórico de lesão cervical anterior.

Foram consideradas perdas as mulheres cuja conclusão diagnóstica não foi possível no período do estudo: aquelas em que a colposcopia ou resultado histopatológico, ou ambos, foram inconclusivos e aquelas que dependeram do seguimento após a colposcopia e não o concluíram (Zona de Transformação tipo III e sem lesão visível compatível com NIC II+).

#### 6.4 AMOSTRAS BIOLÓGICAS

Todas as participantes atendidas nos SRC vinculados a este projeto foram submetidas à coleta de amostra citológica em meio líquido, utilizando kit para coleta *Cell Preserv*®, seguindo recomendações do fabricante (Kolplast - São Paulo, Brasil - Apêndice IV). As amostras foram acondicionadas em caixas térmicas, sob temperatura ambiente (não superior a 30°C) nos SRC e acondicionadas sob refrigeração (2° a 8°C) no Laboratório Central de Saúde Pública do Tocantins (LACEN/TO) ou Laboratório de Alta Complexidade do IFF/Fiocruz (LACIFF) até o encaminhamento ao laboratório colaborador, para o processamento e posterior análise citopatológica e imunocitoquímica.

Para os testes moleculares (DNA-HPV<sup>5</sup>), o frasco contendo o material biológico obtido das mulheres incluídas (primário), devidamente identificado, era homogeneizado e retirada uma alíquota de 3,0mL com auxílio de uma pipeta de Pasteur. Essa alíquota era transferida para um tubo tipo *ependorf* ou tubo *falcon* e acondicionada em freezer a -70°C para encaminhamento ao LACIFF (ou permanência nesse laboratório para as amostras obtidas no Rio de Janeiro).

#### 6.5 DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO DE CAMPO

Além da equipe de pesquisadores que fizeram a coordenação e execução do projeto, foram organizadas mais duas equipes: uma denominada de clínica, encarregada do cuidado às mulheres participantes em Tocantins e no Rio de Janeiro, além das equipes para o processamento das amostras, conforme descrito nominalmente no Apêndice V.

---

<sup>5</sup> As amostras para a realização dos exames de DNA-HPV foram devidamente alíquotadas, na perspectiva de processamento desses testes e da obtenção desses resultados. Nas Limitações do Estudo estão descritas as razões para a não conclusão desses testes.

### 6.5.1 EQUIPE COORDENADORA

A Equipe Coordenadora foi responsável pela execução e coordenação de todas as atividades do projeto, incluindo a interlocução com gestores locais e regionais, busca de fomento, manutenção de bancos de dados e apresentação de relatórios.

O Projeto foi contemplado no Edital n° 01/2018 FAPT/SES/MS/CNPq - Projeto de Pesquisa Aplicada ao SUS (PPSUS), em Tocantins, conforme Anexo I. Os relatórios, prestação de contas parcial e final, assim como a participação nos seminários para apresentação dos resultados referentes a execução do Projeto PPSUS, também ficaram à cargo desta equipe coordenadora.

Para a realização do recrutamento de mulheres com resultados de exames citopatológicos de rastreamento com diagnóstico de ASC-US ou LSIL em Tocantins, foi realizada reunião com equipes da Diretoria de Atenção Especializada e Diretoria de Atenção Básica da Secretaria Municipal de Saúde (SEMUS) de Palmas e encaminhamento dos documentos requisitados comprovando a aprovação junto ao CEP local (Anexo II). Ao longo da execução do projeto, além da abordagem realizada pela SEMUS, com o encaminhamento do documento divulgando a execução da pesquisa, a pesquisadora e orientador fizeram visitas presenciais em unidades de saúde, apresentando e esclarecendo dúvidas sobre os processos previstos no projeto e informando sobre o seu andamento.

No Rio de Janeiro, o projeto foi divulgado aos gestores das Clínicas da Família da AP 2.1 em reunião presencial na Coordenadoria Geral da Área Programática – Área Técnica da Saúde da Mulher, da Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro em outubro de 2019. A identificação dessas mulheres foi feita pelos profissionais envolvidos no rastreamento e pelos gestores, fornecendo uma relação de mulheres com resultados de ASC-US ou LSIL que deveriam ser buscadas futuramente para um segundo exame.

Nas duas oportunidades foram expostos os vídeos explicativos para os

profissionais<sup>6</sup>, posteriormente divulgados por aplicativo de troca de mensagens em telefone celular (WhatsApp) para os profissionais envolvidos no rastreamento (incluindo agentes de saúde), que simplifica os objetivos do projeto e a forma de abordagem para o recrutamento no Rio de Janeiro e Tocantins, respectivamente. Nas unidades de saúde, foram deixadas cópias da carta convite (Apêndices II ou III) para comparecimento aos SRC de Palmas/Porto Nacional ou ao IFF/Fiocruz caso houvesse interesse em participar da pesquisa.

A consistência das informações obtidas e registradas nos formulários (Apêndice IV) foi verificada por meio de checagem com o registro físico ou diretamente com as participantes, por meio de contato telefônico, ou consulta ao médico colaborador da equipe de clínica.

Além das informações descritas no formulário, os resultados dos testes laboratoriais realizados durante estudo (Citologia em Meio Líquido e Imunocitoquímica<sup>7</sup>) e os resultados do padrão ouro (histopatológico e colposcopia) foram transcritos pela pesquisadora no banco de dados criado exclusivamente para o registro de informações desta pesquisa no programa Microsoft Access® (versão 2202) e analisados em aplicativo estatístico (EpiInfo™ versão 7.2.5.0). O Poder foi calculado para cada distribuição de resultados frente ao padrão-ouro foi calculado utilizando o software “R” (versão 3.4.3).

### 6.5.2 EQUIPES DE CLÍNICA

Para o atendimento das mulheres que foram recebidas nos SRC, foram escolhidas equipes compostas por profissionais capacitados, com larga experiência e atuação nos serviços de atenção secundária, compreendendo duas ginecologistas do SRC

---

<sup>6</sup> Disponíveis nos links: <https://www.youtube.com/watch?v=KORAAZ3a0f8&list=LL&index=76> e <https://www.youtube.com/watch?v=kNcFDwDUY4&list=LL&index=73>.

<sup>7</sup> Apesar de previsto, os resultados de PCR para HPV não foram concluídos até a redação dessa tese.

do AMAS/Palmas e ASPEL/Porto Nacional e um ginecologista do IFF/FIOCRUZ do Rio de Janeiro, que aceitaram o convite para participar do projeto, realização dos exames de colposcopia, coleta de material citológico em meio líquido e seguimento em conformidade com as Diretrizes Brasileiras para o Rastreamento do Câncer do Colo do Útero<sup>3</sup>.

No dia do acolhimento, as mulheres que compareceram aos SRC e que concordaram em participar foram incluídas. As que declinaram participar tiveram reiterado o significado dos diagnósticos citológicos, foram orientadas quanto aos procedimentos adequados após a citologia alterada e contrarreferidas para seguimento na unidade de Atenção Primária conforme recomendado pelas Diretrizes Brasileiras<sup>3</sup>.

As mulheres que aceitaram participar foram submetidas a coleta de novo espécime citológico cervical em meio líquido e colposcopia. Os espécimes obtidos foram acondicionados e armazenados como descrito acima. Procedimentos adicionais, como biópsias e tratamentos excisionais foram realizados conforme recomendado nas Diretrizes Brasileiras para o Rastreamento do Câncer do Colo do Útero<sup>3</sup>. A paciente foi orientada a retornar para novas consultas conforme o fluxo do seguimento (Figura 5).

### 6.5.3 EQUIPES DE PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

O recolhimento, transporte e processamento das amostras ficaram a cargo da pesquisadora, que também colaborou com a execução dos testes. Todos os integrantes das equipes têm formação acadêmica e experiência nos processos propostos, garantindo a adequação na preparação das lâminas e uniformidade das análises, conforme descrito no Quadro 2.

As amostras citológicas coletadas em Tocantins eram encaminhadas ao LACEN-TO e as amostras colhidas no Rio de Janeiro eram encaminhadas ao LACIFF. O

frasco primário era encaminhado ao laboratório colaborador em São Paulo-SP (vide adiante) para realização dos seguintes exames:

**(a) Citologia em Meio Líquido (CML):** as amostras para a CML foram processadas no equipamento Processador de Lâminas KLP 2000®, (Kolplast - São Paulo, Brasil), que promove o depósito de uma camada de células<sup>8</sup> em lâminas silanizadas (com carga elétrica capaz de reter material celular), e eram imediatamente fixadas em álcool absoluto. Na sequência, as amostras eram submetidas à coloração pelo método de Papanicolaou, utilizando corantes Hematoxilina de Harris (núcleo), Orange G e EA 36 (para efeitos no citoplasma). Nesse momento, uma lâmina adicional era preparada para a realização do exame imunocitoquímica (Dupla Marcação de p16 e Ki67) e preservada sob fixação em álcool absoluto. Após a coloração pelo método de Papanicolaou, as lâminas de CML foram montadas com bálsamo do Canadá e fixadas com lamínulas, e colocadas em *overnight* para secagem.

A análise do exame citopatológico foi realizada seguindo os critérios e parâmetros de controle de qualidade estabelecidos rotineiramente, por examinador independente, sem conhecimento das conclusões diagnósticas de cada caso. Os colaboradores tem ampla experiência no diagnóstico citopatológico convencional e em meio líquido. A classificação dos resultados dos exames citopatológicos foi baseada na Nomenclatura Brasileira para Laudos Citopatológicos Cervicais<sup>8</sup>, e os resultados enviados à pesquisadora.

**(b) Imunocitoquímica/Dupla Marcação de p16 e Ki67:** as lâminas preparadas e fixadas em álcool foram encaminhadas para o Laboratório de Imunohistoquímica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), e processadas segundo protocolo já

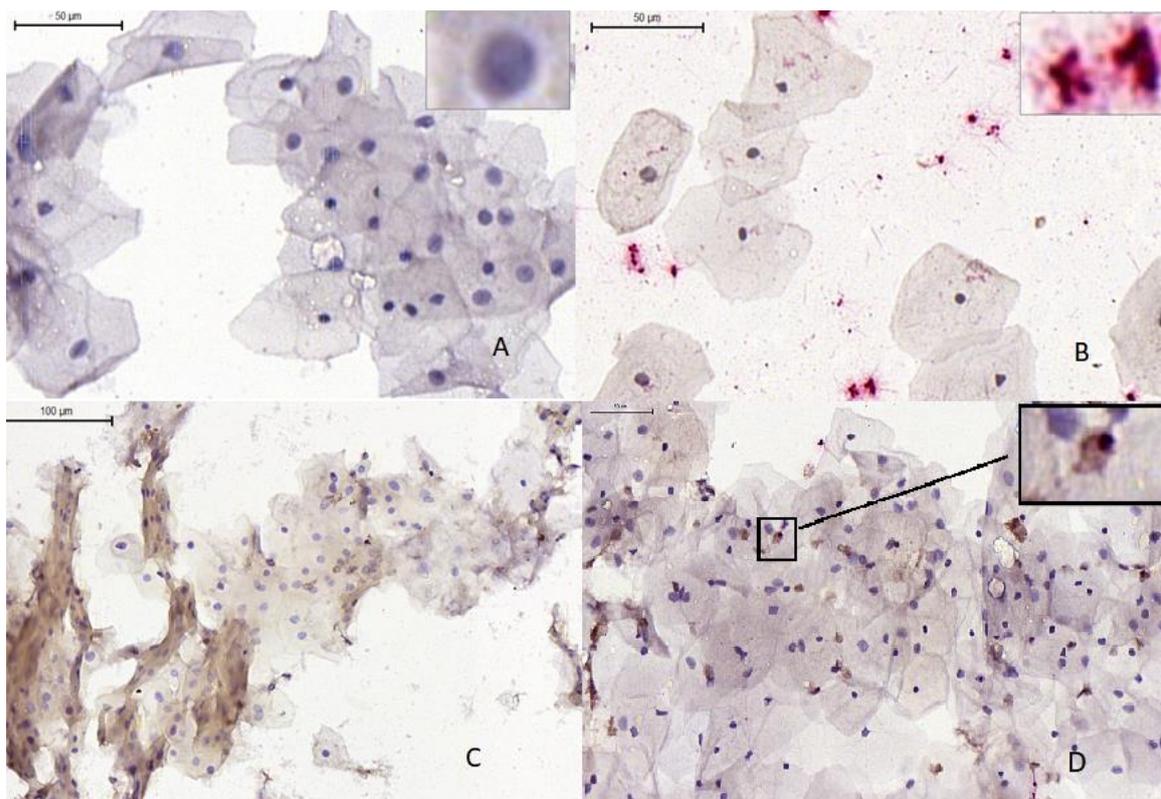
---

<sup>8</sup> Esse processo resulta numa lâmina de vidro com um círculo central denominado “*print*”, com aproximadamente 5.000 células, conforme padronização do método pelo fabricante, com redução de artefatos como: hemácias, leucócitos e muco.

padronizado para a Dupla Marcação no laboratório e repetido com a utilização de amostras conhecidas e utilizadas como controle negativo (provenientes de amostras citológicas negativas para lesão intraepitelial cervical) e amostras com lesão intraepitelial cervical de baixo e alto grau, para caracterizar a marcação combinada. No protocolo técnico foi utilizado o reagente pré diluído e pronto para uso Biocare Medical® p16 + Ki67 coquetel [multiplex], p16 monoclonal de camundongo [clone BC42] e Ki67 monoclonal de coelho [clone SP6], isotipos IgG1/Kappa e IgG, para a marcação nuclear e citoplasmática, de cor marrom (*DAB*) do p16, e o Ki67, marcação nuclear, de coloração vermelha (*fast red*).

As análises morfológicas foram conduzidas por citologista experiente que desconhecia a conclusão diagnóstica e o laudo da CML, e os resultados foram expressos como:

- **positivos** (para p16 e Ki67 simultaneamente, com classificação da intensidade da cor observada como marcação fraca, moderada ou forte);
- **negativos** (para os casos sem nenhuma marcação).



**Figura 6.** Imagens obtidas de amostras de mulheres incluídas, coradas e marcadas com p16 e Ki67, escaneadas e em aumento 50x e 100x.

Na imagem **A** observa-se uma imagem negativa da reação, ou seja, nota-se a contracoloração em hematoxilina das células; em **B** observa-se marcação positiva ao Ki67 (vermelha) e contracoloração em hematoxilina; na imagem **C** visualiza-se a marcação positiva ao p16 (marrom); na imagem **D** observa-se a Dupla Marcação de p16 (citoplasmática, marrom) e Ki67 (nuclear, vermelho).

100 µm = aumento de 200X, 50 µm = aumento de 400X. Nas imagens foram **B**, **C** e **D** foram acrescentados destaques em maior aumento para melhor visualizar as células marcadas.

Para a proporcionar a realização dos testes de DNA-HPV, as alíquotas eram armazenadas em freezer a  $-70^{\circ}\text{C}$  e juntadas, conforme cronograma de disponibilidade do LACIFF e de agenda dos colaboradores, para a execução das etapas de processamento das amostras. Foi firmado protocolo para que o DNA total fosse isolado a partir das amostras aliqotadas, utilizando o *QiaAMP DNA Mini Kit*® (Qiagen™, USA). Ao final dos processos de extração, o DNA liberado foi quantificado em espectrofotômetro Nanodrop ND-1000 (ThermoFisher Scientific, USA) e, posteriormente, amplificado por reação em cadeia de polimerase em tempo real (*Polymerase Chain Reaction* - qPCR) utilizando os *primers*: **GP5+** 5'-TTT GTT ACT GTG GTA GAT ACT AC-3' **GP6+** 5'-GAA AAA TAA ACT GTA AAT CAT ATT C-3', conforme protocolo estabelecido por *Jacobs* e

colaboradores<sup>98</sup> e padronizado pela equipe durante a execução destas análises. Os produtos amplificados foram purificados em uma nova etapa, e acordamos que para essa nova etapa as amostras seriam encaminhadas à plataforma de sequenciamento genético da Fiocruz/Biomanguinhos<sup>9</sup>.

## 6.6 CONCLUSÃO DIAGNÓSTICA (PADRÃO OURO)

O padrão ouro para definição do desempenho dos testes foi construído como um padrão misto, composto pelo diagnóstico mais relevante obtido em biópsia ou procedimento excisional ou, quando negativo, quando esses espécimes, caso obtidos, foram negativos para NIC II+ ou quando à colposcopia não foram observados achados anormais maiores com Zona de Transformação completamente visível (ZT tipo I ou II). Em alguns desses casos não foram realizadas biópsias por não serem recomendadas sistematicamente<sup>3</sup> e não seria ético realiza-las apenas para obtermos o diagnóstico histológico. Ainda, nos casos em que não foi possível concluir pela ausência de NIC II+ na primeira avaliação colposcópica por não ser observada toda a ZT (ZT tipo III) ou não ter sido realizado um procedimento excisional tipo III<sup>10</sup>, foi realizado um seguimento com repetição da citologia e nova colposcopia em duas oportunidades com pelo menos seis meses de intervalo. Nos casos em que a nova colposcopia passou a mostrar ZT tipos I ou II durante o seguimento, esse novo exame foi considerado conclusivo e o seguimento finalizado. Portanto, o seguimento dessas mulheres teve por objetivo, tão somente, assegurar a inexistência de NIC II+ no acolhimento no SRC ou concluir o diagnóstico da época em que isso não foi possível e não teve a intenção de verificar a progressão ou regressão de diagnósticos citológicos.

---

<sup>9</sup> Não houve retorno dos referidos resultados até a redação dessa tese e, portanto, não foram incluídos nessa análise.

<sup>10</sup> Indicado em situações em que há suspeita ou confirmação de lesão precursora e a JEC não é completamente visível no interior do canal endocervical. Tem por objetivo retirar a ZT endocervical, atingindo a profundidade de 2 a 2,5cm. Pode ser realizado por técnica convencional (conização à Sturmdorf) ou por outras técnicas, inclusive a eletrocirúrgica.

Dessa forma, seriam<sup>11</sup> consideradas as seguintes conclusões diagnósticas:

1. Doentes: as mulheres portadoras de câncer ou lesão precursora confirmada por exame histopatológico compatível com NIC II ou III, obtido em biópsia dirigida do colo uterino ou em procedimento excisional, realizados na primeira abordagem ou no seguimento.

2. Não doentes, as mulheres que:

- Apresentaram um exame histopatológico compatível com NIC I ou negativo obtido em biópsia dirigida do colo uterino com ZT tipos I ou II ou procedimento excisional, realizados na primeira abordagem ou no seguimento;

- Apresentaram colposcopia sem achados anormais ou com achados anormais menores com ZT tipos I ou II, não biopsiadas, realizada na primeira abordagem;

- Apresentaram colposcopia sem achados anormais ou com achados anormais menores com ZT tipo III, realizados na primeira abordagem e sem evidência de lesão precursora ou câncer no seguimento citológico e colposcópico.

## 6.7 TAMANHO AMOSTRAL

Para o cálculo do tamanho da amostra foi utilizada uma tabela de *Excel* em que consideramos a possibilidade de encontrar Sensibilidade de 90% ( $S=90\%$ ) para detecção de NIC II+, considerando o Intervalo de Confiança de 95% variando entre 82% e 98%. Esse parâmetro mostrou a necessidade de incluir 280 mulheres com resultados prévios de ASC-US ou LSIL.

Consideramos o percentual de 20% como possíveis perdas e, para compensá-las, estimou-se ser necessário recrutar um total de 336 mulheres com resultados de citologia ASC-US ou LSIL no rastreamento, para participação no estudo.

---

<sup>11</sup> O verbo “ser” está conjugado no futuro do pretérito na terceira pessoa do plural por não termos observado nenhum caso de câncer e não caberia aqui já mencionar esse resultado.

## 6.8 MEDIDAS DE DESFECHOS E ANÁLISE DOS DADOS

Os resultados obtidos dos exames em avaliação foram consolidados em tabelas de contingência e confrontados com os diagnósticos finais, considerando as categorias “Com doença” e “Sem doença”, como acima descrito.

As medidas de desempenho (sensibilidade, especificidade, valores preditivos e razões de verossimilhança) foram calculadas com o auxílio do programa *Epi-Info* (versão 7.2.5.0) para os exames citopatológicos (incluindo o imunocitoquímico com Dupla Marcação). Os valores para os testes de DNA-HPV não foram calculados, considerando que o sequenciamento genético ou a definição do tipo do vírus não foi concluído devido a obstáculos considerados intransponíveis no seu processamento<sup>12</sup>.

Também foram calculadas as razões de sensibilidade e de especificidade entre o exame citopatológico e a imunocitoquímica, além das proporções de lesões de alto grau detectadas e perdidas com cada teste e o percentual de colposcopias indicadas com base nos resultados de cada teste analisado.

As medidas obtidas consideram a CML e a imunocitoquímica com os seguintes pontos de corte para positividade:

- qualquer alteração citológica (atipias de significado indeterminado possivelmente não neoplásicas, lesão intraepitelial de baixo grau, atipias de significado indeterminado não podendo excluir lesão de alto grau, lesão intraepitelial de alto grau, atipias glandulares ou câncer);
- com resultado sugerindo lesão precursora ou câncer (atipias de significado indeterminado não podendo excluir lesão de alto grau, lesão intraepitelial de alto grau, atipias glandulares ou câncer)

---

<sup>12</sup> Realização do processamento técnico para o sequenciamento genético a ser realizado no Laboratório de Virologia de Biomanguinhos. Sujeitos à disponibilidade de reagentes/consumíveis/equipamentos para a execução dos testes.

- Dupla Marcação positiva; e
- marcação positiva para p16 ou Ki67.

## 6.9 QUESTÕES ÉTICAS

Todas as mulheres elegíveis foram informadas dos riscos e benefícios e as que aceitaram participar assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), no qual constam, além dessas informações e esclarecimentos sobre o projeto, os contatos da pesquisadora e do orientador (Apêndice VI).

Foram identificados como riscos, e informados às mulheres elegíveis, as possíveis intercorrências clínicas relacionadas ao procedimento de colposcopia, biópsia (quando necessário) e coleta da CML. Todos os procedimentos realizados seguiram as recomendações das Diretrizes Brasileiras, ou seja, seguindo as melhores práticas em nosso país e realizados em centros credenciados ou reconhecidos como referência para o diagnóstico e tratamento das lesões precursoras do CCU em suas regiões. O único procedimento não previsto nas Diretrizes Brasileiras era a coleta de novo espécime citológico, que é obtido da mesma forma como foi coletada a amostra anterior, ou seja, utilizando espátula de Ayre e escova endocervical (*Cytobrush*). Foi assegurada à mulher elegível que, caso não desejasse participar, nada mudaria no seu atendimento.

Também se identificou como risco para as participantes a divulgação indevida de dados sigilosos como nomes e outros dados que permitissem sua identificação e associação das respostas às questões sociais e relacionadas à sua atividade sexual, além dos resultados dos exames realizados nesse estudo.

Para reduzir os possíveis riscos relacionados às informações, os profissionais participantes se comprometeram a não trabalhar com dados nominiais em todos os registros do estudo. Os laudos e demais documentos foram utilizados exclusivamente na unidade de

saúde (SRC) sob supervisão de um funcionário da instituição.

As mulheres que aceitaram participar tiveram como benefício a antecipação do diagnóstico, de ausência ou presença de lesão precursora de CCU e, nesse caso, de tratamento, reduzindo o risco de perda de seguimento.

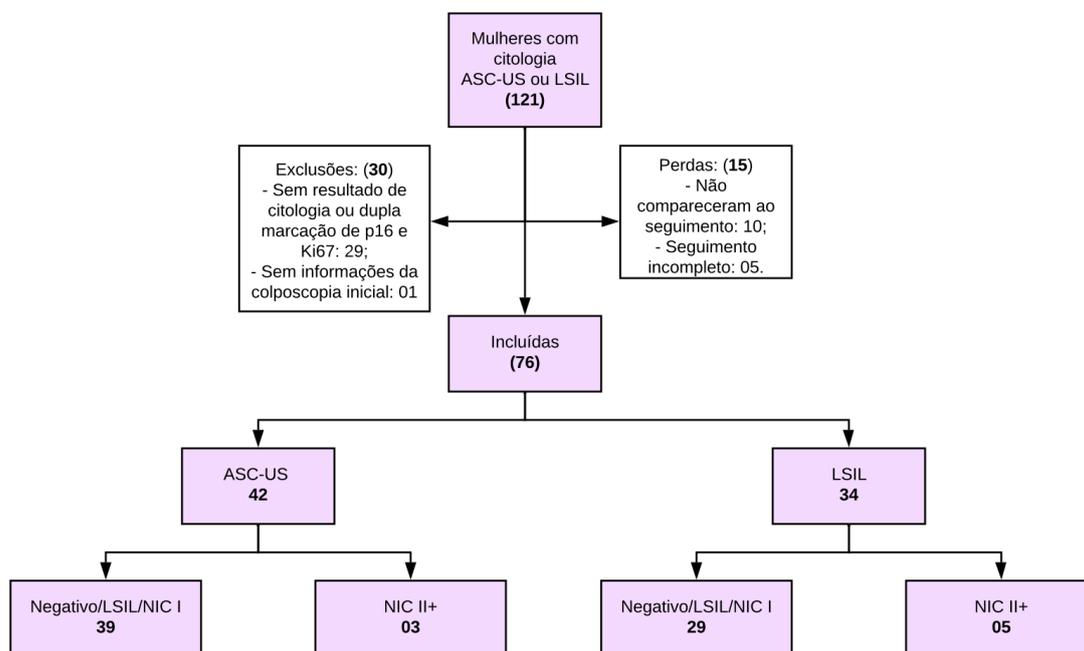
A pesquisa segue os preceitos éticos estabelecidos conforme Resolução do Ministério da Saúde/Conselho Nacional de Saúde nº 466 de 2012, tendo obtido o Parecer Consubstanciado com CAE nº98931018.6.0000.5269 emitido pelo Comitê de Ética em Pesquisa do IFF/Fiocruz e Parecer Consubstanciado com CAAE nº 98931018.6.3002.5279 emitido pelo CEP/Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro e Parecer Consubstanciado com CAAE nº 98931018.6.3003.9187 emitido pelo CEP/Secretaria Municipal de Saúde de Palmas-TO (Anexos II a IV).

## 7. RESULTADOS

No período de outubro de 2019 a novembro de 2022 foram recrutadas 121 mulheres (Figura 9), atendidas em Tocantins e no Rio de Janeiro.

Conforme a Figura 9, foram excluídas as mulheres que não apresentavam registros da colposcopia (1) ou resultados dos exames que possibilitassem a conclusão diagnóstica (29 mulheres) e consideradas perdas aquelas que não compareceram ao seguimento (10 mulheres) ou que apresentaram seguimento incompleto (5 mulheres) quando esse era necessário para concluir o diagnóstico, como descrito na Metodologia.

Foram consideradas 76 mulheres (62,8%) das 121 mulheres que atenderam aos critérios de seleção, com resultado de pelo menos um dos testes estudados e conclusão do diagnóstico de presença ou ausência de doença cervical até o novembro de 2022<sup>13</sup>.



**Figura 7.** Fluxograma do recrutamento, seleção e inclusão nessa análise (outubro de 2019 a novembro de 2022).

<sup>13</sup> O não alcance do tamanho amostral, proposto na metodologia, durante o período de execução do estudo ocorreu por dificuldades no recrutamento de mulheres elegíveis pela importante redução das ações de rastreamento durante a pandemia de Covid-19, conforme discutido adiante em Limitações do Estudo.

A Tabela 1 descreve as características das mulheres incluídas e aquelas excluídas ou perdidas, como descrito acima. A comparação entre os dois grupos não mostra diferenças significativas ao nível de 5%, exceto para idade, em que o grupo das mulheres incluídas nessa análise mostrou uma média de idade significativamente menor do que as excluídas ou perdidas.

Conforme a Tabela 1, a média de idade do grupo das 76 mulheres incluídas foi de 38 anos, com desvio padrão de 12,4, variando faixa etária de 20 a 73 anos. A maioria das mulheres recrutadas (86,8%) estava na faixa etária alvo do programa de rastreamento. Das mulheres analisadas, 44,7% se identificaram como não brancas, 59,2% tinham ensino médio completo ou mais, 75% relataram vida sexual ativa, 76,3% relataram ter até dois filhos e 52,6% relataram três ou mais parceiros ao longo de sua vida sexual. Das mulheres incluídas, 55,3% apresentavam resultado de exame citopatológico prévio de ASC-US e 44,7 de LSIL. Com relação ao local de atendimento, 21 (27,7%) foram atendidas em Tocantins (17 no SRC AMAS/Palmas e 04 no SRC ASPEL/Porto Nacional) e 55 (72,4%) foram atendidas no município do Rio de Janeiro, no SRC do IFF/Fiocruz (Tabela 1).

Na Tabela 1 constam as características das mulheres excluídas ou perdidas, em que avaliamos a média de idade ser de 45,1, com desvio padrão de 13,3 e faixa etária variando de 20 a 70 anos. A maioria (88,9%) estava na faixa etária recomendada para o rastreamento, e 68,9% se autoclararam não brancas. Quanto à escolaridade, 68,8% tinham até o ensino médio completo, 55,6% afirmaram ter vida sexual ativa e 46,7% tiveram até dois filhos e 48,9% relataram três ou mais parceiros ao longo de sua vida sexual.

Nesse grupo 66,7% apresentavam resultado de exame citopatológico prévio de ASC-US e 33,3 de LSIL. Com relação ao local de atendimento, 17 (37,8%) foram atendidas em Tocantins (13 no SRC AMAS/Palmas e 04 no SRC ASPEL/Porto Nacional) e 28 (62,2%) foram atendidas no município do Rio de Janeiro, no SRC do IFF/Fiocruz.

**Tabela 1.** Características das mulheres incluídas nessa análise em comparação com as excluídas ou perdidas, além da unidade onde se deu a inclusão (outubro de 2019 a novembro de 2022).

<b>Características</b>	<b>Incluídas nessa análise n= 76</b>	<b>%</b>	<b>Excluídas ou perdidas n= 45</b>	<b>%</b>	<b>p-valor</b>
<b>Idade média em anos (Desvio Padrão; Faixa)</b>	38,3 (12,4; 20-73)	-	45,1 (13,3; 20-70)	-	0,005 <sup>5</sup>
<b>Faixa Etária</b>					
< 25	7	9,2	3	6,7	
25 a 64 <sup>1</sup>	66	86,8	40	88,9	0,74 <sup>6</sup>
≥ 65	3	4,0	2	4,4	
Total	76	100	45	100	
<b>Cor da pele autodeclarada</b>					
Branca	32	42,2	14	31,1	
Negra	13	17,1	6	13,4	
Parda	20	26,3	18	40,0	
Amarela	1	1,3	-	-	0,25 <sup>7</sup>
Ignorada/não informada	10	13,1	7	15,5	
Total	76	100	45	100	
<b>Escolaridade</b>					
Analfabeta	3	4,0	1	2,2	
Ensino fundamental	19	25,0	15	33,3	
Ensino Médio completo	31	40,8	15	33,3	0,29 <sup>8</sup>
Ensino Superior completo	14	18,4	6	13,4	
Ignorada/não informada	9	11,8	8	17,8	
Total	76	100	45	100	
<b>Vida sexual ativa</b>					
Sim	57	75,0	25	55,6	
Não	16	21,0	14	31,1	0,11 <sup>8</sup>
Ignorada/não informada	3	4,0	6	13,3	
Total	76	100	45	100	
<b>Paridade (número de filhos)</b>					
≤ 2	58	76,3	21	46,7	
≥ 3	15	19,7	11	24,4	0,13 <sup>9</sup>
Ignorada/não informado	3	4,0	13	28,9	
Total	76	100	45	100	
<b>Número de parceiros sexuais</b>					
≤ 2	27	35,5	14	31,1	
≥ 3	40	52,6	22	48,9	0,90 <sup>9</sup>
Ignorado/não informado	9	11,9	9	20,0	
Total	76	100	45	100	
<b>Unidade de atendimento</b>					
ASPEL <sup>2</sup>	4	5,2	4	8,9	
AMAS <sup>3</sup>	17	22,4	13	28,9	
IFF/Fiocruz <sup>4</sup>	55	72,4	28	62,2	0,24 <sup>10</sup>
Total	76	100	45	100	

**Tabela 1.** Características das mulheres incluídas nessa análise em comparação com as excluídas e perdidas, além da unidade onde se deu a inclusão (outubro de 2019 a novembro de 2022) (continuação).

<b>Características</b>	<b>Incluídas nessa análise</b>	<b>%</b>	<b>Excluídas ou perdidas</b>	<b>%</b>	<b>p-valor</b>
<b>Citologia prévia</b>					
ASC-US	42	55,3	30	66,7	0,21 <sup>11</sup>
LSIL	34	44,7	15	33,3	
Total	76	100	45	100	

<sup>1</sup>Faixa etária recomendada para o rastreamento no Brasil; <sup>2</sup>Ambulatório Especialidades de Porto Nacional (ASPEL); <sup>3</sup>Ambulatório de Atenção à Saúde (AMAS/Palmas); <sup>4</sup>Instituto Nacional de Saúde da Criança, da Mulher e do Adolescente Fernandes Figueiras (IFF/Fiocruz); <sup>5</sup>teste de Mann-Whitney/Wilcoxon; <sup>6</sup>faixa etária recomendada para o rastreamento (25 a 64 anos) *versus* as demais (teste do Qui-quadrado); <sup>7</sup>cor branca *versus* demais, excluída a categoria “Ignorada/não informada” (teste do Qui-quadrado); <sup>8</sup>Ensino Médio ou Superior completos *versus* demais categorias, excluída a categoria “Ignorada(o)/não informada(o)” (teste Exato do Qui-quadrado); <sup>9</sup>excluída a categoria “Ignorada/não informada” (teste do Qui-quadrado); <sup>10</sup>unidade de atendimento no Rio de Janeiro (IFF/Fiocruz) *versus* unidades de Tocantins (ASPEL + AMAS) (teste do Qui-quadrado); <sup>11</sup>teste do Qui-quadrado.

A Tabela 2 mostra os resultados dos exames iniciais e conclusões diagnósticas utilizadas comparando as mulheres incluídas e as não incluídas. Não houve diferenças significativas ao nível de 5% entre as mulheres incluídas e as demais, exceto para o fato de as incluídas, como esperado, terem realizado mais procedimentos com resultado histopatológico (biópsias ou procedimentos excisionais). No grupo das não incluídas não foi possível concluir o diagnóstico em 31 participantes (69%), e dentre as que tiveram essa classificação (negativos, LSIL ou NIC I), não obtivemos resultados do exame citopatológico ou imunocitoquímico. Não calculamos a probabilidade de erro tipo I para as variáveis “Diagnóstico no seguimento” e “Conclusão diagnóstica”, pois, como a maioria das mulheres não incluídas nessa análise não tiveram esses resultados, a comparação não seria cabível.

Das mulheres incluídas nessa análise, 48,7% (37) tiveram achados negativos, presença de miscelânea (pólipos cervicais) ou sugestivos de processo inflamatório no exame de colposcopia inicial, 40,8% (31 mulheres) tiveram achados anormais menores, e 10,5% (8 mulheres) achados anormais maiores. No atendimento inicial, 56 mulheres não foram submetidas à realização de biópsia. Das submetidas à biópsia do colo uterino, 8

mulheres (10,5%) mostraram NIC II+ (NIC II em 3 e NIC III em 5 mulheres). Outras 9 tinham indicação de seguimento para conclusão diagnóstica por terem ZT tipo III e não terem sido observados achados anormais ou sido submetidas à biópsia ou procedimento excisional (vide Metodologia). Dessas, 3 compareceram ao primeiro seguimento em 6 meses, com conclusão diagnóstica nessa etapa. Nenhuma delas apresentou NIC II+ no seguimento.

**Tabela 2.** Resultados dos exames iniciais e conclusões diagnósticas nessa análise (outubro de 2019 a novembro de 2022).

<b>Resultados</b>	<b>Incluídas n=76</b>	<b>%</b>	<b>Excluídas/ perdidas n=45</b>	<b>%</b>	<b>p-valor</b>
<b>Colposcopia inicial</b>					
Negativo/Inflamatório/Miscelânea	37	48,7	30	66,7	0,80 <sup>3</sup>
Achados anormais menores	31	40,8	10	22,2	
Achados anormais maiores	8	10,5	4	8,9	
Ignorado/não informado	-	-	1	2,2	
Total	76	100	45	100	
<b>Histopatológico de biópsia do colo uterino ou procedimento excisional</b>					
Não realizada biópsia	56	72,3	43	97,4	<0,01 <sup>4</sup>
Negativo	3	4,6	-	-	
NIC <sup>1</sup> I	10	15,4	2	2,6	
NIC II	3	4,6	-	-	
NIC III	5	3,1	-	-	
Total	76	100	45	100	
<b>Diagnóstico no Seguimento</b>					
Negativo/Inflamatório	4	66,6	2	100	5
LSIL <sup>2</sup>	1	16,7	-	-	
NIC III	2	16,7	-	-	
Total	6	100	2	-	
<b>Conclusão diagnóstica</b>					
Negativo	39	51,3	11	24,4	5
Inconclusivo	-	-	31	69,0	
LSIL <sup>2</sup>	18	23,7	1	2,2	
NIC I	11	14,5	2	4,4	
NIC II	3	3,9	-	-	
NIC III	5	6,6	-	-	
Total	76	100	45	100	

<sup>1</sup>Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC) Grau I, II ou III; <sup>2</sup>Lesão Intraepitelial de Baixo grau (do inglês *Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion*), usado quando o aspecto colposcópico sugeria uma lesão dessa categoria e não foi realizada biópsia, com Junção Escamocolunar completamente visível (Zonas de Transformação tipos I ou II); naquelas em que a JEC não foi completamente visível, esse diagnóstico só foi

considerado conclusivo após o segundo seguimento citológico e colposcópico com pelo menos seis meses de intervalo sem evidência de lesão de maior relevância (vide Metodologia); <sup>3</sup>Achados anormais maiores *versus* as demais categorias, excluída a categoria “Ignorado/não informado” (teste Exato de Fisher); <sup>4</sup>biopsiadas *versus* não biopsiadas (teste do Qui-quadrado); <sup>5</sup>não calculado (vide texto).

A Tabela 3 demonstra os resultados dos testes de CML e de imunocitoquímica. Das 64 mulheres com resultado de CML, apenas 2 (3,1%) tiveram diagnóstico citológico com a possibilidade de lesão de alto grau (ASC-H). Em relação ao teste de DM, das 41 com resultados disponíveis, 33 (50,8%) apresentaram resultados negativos e 8 (12,3%) com Dupla Marcação de p16 e Ki67 positiva.

Perdas de amostras, amostras insuficientes ou alíquotas insuficientes para a confecção de duas lâminas simultâneas foram as principais causas para a não realização dos exames de dupla marcação em todas as amostras que foram coletadas para o exame de citologia em meio líquido. A realização dos procedimentos técnicos em laboratórios e tempos distintos durante a pandemia da Covid-19, comprometeu o fluxo inicialmente idealizado. Assim, algumas amostras tiveram os dois exames e outras apenas um deles realizados: das 83 mulheres com resultados de citologia apenas 64 foram incluídas; das 57 mulheres que tinham resultados de DM, apenas, 41 foram incluídas; 42 mulheres tiveram resultados dos dois exames, e destas 31 foram incluídas.

**Tabela 3.** Resultados dos Testes de Citologia em Meio Líquido e Dupla Marcação de p16 e Ki67 (outubro de 2019 a novembro de 2022).

<b>Resultados</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Citologia em Meio Líquido</b>		
Negativo	48	75,0
ASC-US	4	6,2
LSIL	10	15,7
ASC-H <sup>1</sup>	2	3,1
Total	64	100
<b>Dupla Marcação para p16 e Ki67</b>		
Negativo	33	80,5
Positivo	8	19,5
Total	41	100

<sup>1</sup>Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado, não podendo excluir Lesão Intraepitelial de Alto Grau (ASC-H).

Na Tabela 4 relaciona-se os resultados da CML, comparando com a conclusão diagnóstica conforme descrito na Metodologia, agrupando essa variável como presença de NIC II ou III (NIC II+), pois não houve casos de câncer. Uma das mulheres com conclusão diagnóstica de NIC III não teve resultado de citologia. A CML, nessa análise, foi considerada positiva quando sugeriu a possibilidade de lesão de alto grau (ASC-H), em duas mulheres. Esses números nos permitiram calcular que a Sensibilidade (S) da CML nesse nível de alteração foi de 28,6% e sua Especificidade (E) calculada em 100%. Os valores Preditivos Positivo (VPP) e Negativo (VPN) foram, nesse nível de positividade, de 100% e 91,9%, respectivamente. A Razão de Verossimilhança Negativa (RV-) foi de 0,7 e a Positiva não foi possível calcular, pois sua fórmula tem zero no denominador.

**Tabela 4.** Tabela de Contingência da Citologia em Meio Líquido com resultado sugerindo lesão de alto grau versus demais resultados frente à conclusão diagnóstica, recategorizados<sup>1</sup> (outubro de 2019 a novembro de 2022).

Resultados de CML	Conclusão diagnóstica		Total
	NIC II+ <sup>4</sup>	Sem NIC II+ <sup>5</sup>	
ASC-H <sup>2</sup>	2	0	2
Negativo <sup>3</sup>	5	57	62
Total	7 <sup>6</sup>	57	64

<sup>1</sup>As variáveis foram recategorizadas em ASC-H ou Negativo; <sup>2</sup> Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado, não podendo excluir Lesão Intraepitelial de Alto Grau; <sup>3</sup> Negativo: resultados compatíveis com Células Atípicas de Significado Indeterminado e Lesão Intraepitelial de Baixo Grau (ASC-US e LSIL, respectivamente) e os casos negativos para malignidade; <sup>4</sup>NIC II+, inclui Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC) Graus II ou III; <sup>5</sup> Sem NIC II+ em resultados histopatológicos (inclui NIC I ou negativo) ou quando os achados colposcópicos eram normais ou anormais menores em mulheres não biopsiadas (vide Metodologia); S = 28,6%; E = 100%; VPP = 100%; VPN = 91,9%; RV+ não possível calcular; RV- = 0,7; <sup>6</sup> uma das mulheres incluídas e que teve diagnóstico final de NIC III não tinha resultado de CML; o Poder calculado para essa distribuição foi de 0,24.

Na Tabela 5, demonstra-se o desempenho diagnóstico da CML, mas agora considerando positivo qualquer alteração citológica, ou seja, ASC-US ou pior, *versus* resultados negativos para malignidade. Com esse novo nível de corte, a CML obteve a Sensibilidade de 42,9% e Especificidade de 77,2%, destacando o incremento do Valor Preditivo Negativo que passou à 92%.

**Tabela 5.** Tabela de Contingência da Citologia em Meio Líquido com qualquer resultado alterado *versus* negativo frente à conclusão diagnóstica, recategorizada<sup>1</sup> (outubro de 2019 a novembro de 2022).

<b>Resultados de CML</b>	<b>Conclusão diagnóstica</b>		<b>Total</b>
	<b>NIC II+<sup>4</sup></b>	<b>Sem NIC II+<sup>5</sup></b>	
ASC-US + <sup>2</sup>	3	13	16
Negativo <sup>3</sup>	4	44	48
<b>Total</b>	<b>7<sup>6</sup></b>	<b>57</b>	<b>64</b>

<sup>1</sup>A conclusão diagnóstica foi recategorizada em ASC-US+ ou Negativo; <sup>2</sup> ASC-US+ foi utilizado para os resultados de exames de citologia em meio líquido (CML) compatíveis com os resultados de ASC-US, LSIL e ASC-H; <sup>3</sup>Negativo foi atribuído aos resultados citológicos em que as alterações citomorfológicas eram compatíveis com alterações reativas ou inflamatórias, mas negativa para malignidade; <sup>4</sup>NIC II+, inclui Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC) Graus II ou III; <sup>5</sup> Sem NIC II+ em resultados histopatológicos (inclui NIC I ou negativo) ou quando os achados colposcópicos eram normais ou anormais menores em mulheres não biopsiadas (vide Metodologia); S = 42,9%; E = 77,2%; VPP = 18,7%; VPN = 91,7%; RV+ = 1,9; RV- = 0,74; <sup>6</sup> uma das mulheres incluídas e que teve diagnóstico final de NIC III não tinha resultado de CML; o Poder calculado para essa distribuição foi de 0,14.

Na Tabela 6 descreve-se os resultados da DM por p16 e Ki67, comparando com a conclusão diagnóstica, agrupando essa variável como presença de NIC II ou III (NIC II+). Nessa análise, foi considerada positiva quando houve a presença dos dois marcadores na amostra analisada. Para essa análise obtivemos Sensibilidade de 50%, Especificidade de 85,7% e Valor Preditivo Negativo em 90,9%. Duas mulheres com NIC III não tiveram diagnóstico desse teste (Tabela 6).

**Tabela 6.** Tabela de Contingência dos Testes de Dupla Marcação (p16 e Ki67)<sup>1</sup> frente à conclusão diagnóstica (outubro de 2019 a novembro de 2022).

<b>DM p16/Ki67<sup>1</sup></b>	<b>Conclusão diagnóstica</b>		<b>Total</b>
	<b>NIC II+<sup>2</sup></b>	<b>Sem NIC II+<sup>3</sup></b>	
Positivo	3	5	8
Negativo	3	30	33
<b>Total</b>	<b>6</b>	<b>35</b>	<b>41</b>

<sup>1</sup>Presença (Positivo) ou ausência (Negativo) da Dupla Marcação de p16 e Ki67; <sup>2</sup>NIC II+ inclui Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC) Grau II ou III; <sup>3</sup> Sem NIC II+ em resultados histopatológicos (inclui NIC I ou negativo) ou quando os achados colposcópicos eram normais ou anormais menores em mulheres não biopsiadas (vide Metodologia); S = 50%; E = 85,7%; VPP = 37,5%; VPN = 90,9%; RV+ = 3,5; RV- = 0,6; o Poder calculado para essa distribuição foi de 0,30.

Na Tabela 7 apresenta-se o desempenho da marcação por p16 e Ki67 considerando positiva a marcação de pelo menos um desses marcadores.

**Tabela 7.** Tabela de Contingência dos Testes de Dupla Marcação (p16 e Ki67) considerando a marcação positiva para pelo menos um desses marcadores frente à conclusão diagnóstica, recategorizada<sup>1</sup> (outubro de 2019 a novembro de 2022).

<b>Conclusão diagnóstica</b>			
<b>Resultados de marcação por p16 e/ou Ki67</b>	NIC II+ <sup>2</sup>	Sem NIC II+ <sup>3</sup>	Total
Positivo	4	22	26
Negativo	2	13	15
Total	6	35	41,0

<sup>1</sup>A conclusão diagnóstica foi recategorizadas em Positivo quando presente para p16 ou Ki67 e Negativo quando ausente marcação para qualquer um desses marcadores; <sup>2</sup>NIC II+ inclui Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC) Grau II ou III; <sup>3</sup>Sem NIC II+ em resultados histopatológicos (inclui NIC I ou negativo) ou quando os achados colposcópicos eram normais ou anormais menores em mulheres não biopsiadas (vide Metodologia); S = 66,7%; E = 37,1%; VPP = 15,4%; VPN = 86,7%; RV+ = 1,06; RV- 0,9; o Poder calculado para essa distribuição foi de 0,35.

Na Tabela 8 reúnem-se as medidas de desempenho dos testes diagnósticos estudados nessa análise, nos dois níveis de positividade acima demonstrados para efeito de comparação.

**Tabela 8.** Comparativo do desempenho diagnóstico dos testes de Citologia em Meio Líquido e Dupla Marcação de p16 e Ki67 em diferentes critérios de positividade para detecção de lesão precursora (outubro de 2019 a novembro de 2022).

	<b>Sensibi- lidade</b>	<b>Especi- ficidade</b>	<b>VPP<sup>1</sup></b>	<b>VPN<sup>2</sup></b>	<b>RV+<sup>3</sup></b>	<b>RV-<sup>4</sup></b>	<b>Pode r<sup>5</sup></b>
CML com positivo = ASC-H <sup>6</sup>	28,6%	100%	100%	91,9 %	-	0,7	0,24
CML com positivo = ASC-US+ <sup>7</sup>	42,9%	77,2%	18,7 %	91,7 %	1,9	0,7	0,14
DM <sup>8</sup> positiva	50%	85,7%	37,5 %	90,9 %	3,6	0,6	0,30
p16 e/ou Ki67 positivos <sup>9</sup>	66,7%	37,1%	15,4 %	86,7 %	1,06	0,9	0,35

<sup>1</sup>VPP = Valor Preditivo Positivo; <sup>2</sup>VPN = Valor Preditivo Negativo; <sup>3</sup>RV+ = Razão de Verossimilhança Positiva; <sup>4</sup>RV- = Razão de Verossimilhança Negativa; <sup>5</sup>Poder: representa a capacidade de discriminar/classificar corretamente doentes e não doentes a partir do padrão-ouro; <sup>6</sup>Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado, não podendo excluir Lesão Intraepitelial de Alto Grau; Citologia em Meio Líquido considerada positiva quando o resultado foi compatível com Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado, não podendo excluir Lesão Intraepitelial de Alto Grau (ASC-H); <sup>7</sup>Citologia em Meio Líquido considerada positiva quando o resultado foi compatível com Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado ou mais relevante (ASC-US, LSIL e ASC-H); <sup>8</sup>Dupla Marcação positiva, ou seja, considerando a presença de células marcadas por p16 e Ki67, simultaneamente; <sup>9</sup>considerado positivo para a presença de marcação de p16 e/ou Ki67; †† não foi possível calcular, pois se trata de uma fração com denominador igual a zero

Na Tabela 9, compara-se o desempenho dos testes em termos de Razão de Sensibilidade e Razão de Especificidade e, na Tabela 10, em função do percentual de

colposcopias que seriam indicadas, de lesões precursoras detectadas e de lesões precursoras perdidas caso esses exames fossem utilizados como critério para encaminhamento imediato para colposcopia e utilizando cada nível de positividade acima analisado.

**Tabela 9.** Comparativo do desempenho diagnóstico dos testes de Citologia em Meio Líquido e Dupla Marcação de p16 e Ki67 em diferentes critérios de positividade para detecção de lesão precursora em termos de Razão de Sensibilidade e de Especificidade (outubro de 2019 a novembro de 2022).

	<b>Razão de Sensibilidade</b>	<b>Razão de Especificidade</b>
DM positiva <i>versus</i> CML com positivo = ASC-H <sup>1</sup>	1,7	0,86
p16 e/ou Ki67 positivos <i>versus</i> CML com positivo = ASC-H+ <sup>2</sup>	2,3	0,37
DM positiva <i>versus</i> CML com positivo = ASC-US+ <sup>3</sup>	1,2	1,1
p16 e/ou Ki67 positivos <i>versus</i> CML com positivo = ASC-US+ <sup>4</sup>	1,6	0,5

<sup>1</sup>Comparativo para resultados de Dupla Marcação de p16 e Ki67 positiva *versus* CML positivo compatíveis com ASC-H+; <sup>2</sup>Comparativo para marcação de p16 e/ou Ki67 positiva *versus* CML com resultados de ASC-H+; <sup>3</sup>Comparativo para resultados de Dupla Marcação de p16 e Ki67 positiva *versus* CML positivo com ASC-US+; <sup>4</sup>Comparativo para marcação de p16 e/ou Ki67 positiva *versus* CML com resultados de ASC-US+.

**Tabela 10.** Comparativo do desempenho diagnóstico dos testes de Citologia em Meio Líquido e Dupla Marcação de p16 e Ki67 em diferentes critérios de positividade para detecção de lesão precursora em termos de encaminhamento para colposcopia, lesões precursoras detectadas e perdidas caso fossem utilizados como critério para colposcopia imediata (outubro de 2019 a janeiro de 2022).

	<b>Encaminhamento para colposcopia</b>		<b>Lesões detectadas</b>		<b>Lesões perdidas</b>		<b>Totais</b>	
	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>NIC II+</b>	<b>n</b>
CML com positivo = ASC-H <sup>1</sup>	2	3,1	2	28,5	5	71,5	7	64
CML com positivo = ASC-US+ <sup>2</sup>	16	25,0	3	42,8	4	57,2	7	64
DM positiva	8	19,5	3	50,0	3	50,0	6	41
p16 e/ou Ki67 positivo	26	63,4	4	66,7	2	33,3	6	41

<sup>1</sup>Citologia em Meio Líquido considerada positiva quando o resultado foi compatível com Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado, não podendo excluir Lesão Intraepitelial de Alto Grau (ASC-H);

<sup>2</sup>Citologia em Meio Líquido considerada positiva quando o resultado foi compatível com Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado (ASC-US).

## 8. DISCUSSÃO

Este é um estudo multicêntrico, envolvendo três serviços de saúde de duas unidades da federação, que se dedicam ao acolhimento, investigação e tratamento de mulheres com lesões precursoras do CCU e que aceitaram participar do estudo.

Almejava-se compreender a efetividade da Dupla Marcação de p16 e Ki67 em mulheres com resultados iniciais de ASC-US ou LSIL, estimando seu desempenho diagnóstico e comparando com a CML imediata, assim como a recomendação para colposcopia e a parcela de lesões precursoras detectadas e perdidas com a aplicação desses testes na amostra estudada.<sup>14</sup>

### 8.1 COMPARAÇÃO DO DESEMPENHO DIAGNÓSTICO DOS TESTES DE DM POR p16 E Ki67 E DA CML NA DETECÇÃO DE LESÕES PRECURSORAS EM MULHERES COM CITOLOGIA ASC-US OU LSIL

Os testes diagnósticos, em geral, são utilizados para a compreensão dos achados da anamnese, podendo ser simplificados à dicotomia da presença ou ausência da doença e, quanto aos resultados, positivo ou negativo<sup>99</sup>. Os resultados dos testes podem subsidiar o manejo clínico e decisões quanto à necessidade de investigação, como encaminhamento à colposcopia, ou até tratamentos, baseadas na probabilidade de identificação de indivíduos com a doença ou em desenvolvimento, com qualidade e segurança<sup>99,100</sup>. No cenário ideal, os testes deveriam apresentar alta sensibilidade e especificidade, identificando os casos de maneira precisa. Porém, há um contrabalanço em que se verifica que, à medida que o teste identifica elevado número de casos com resultados positivos, ou seja apresenta uma maior

---

<sup>14</sup> Como já informado, apesar do objetivo no projeto do estudo de incluir a comparação com testes de DNA-HPV, não foi possível realiza-lo pelos motivos expostos nas Limitações do Estudo.

sensibilidade, há uma maior chance de incluir indivíduos sem a doença (falsos positivos), o que implica na redução da sua especificidade<sup>99,100</sup>.

No contexto do rastreamento de doenças, temos uma população saudável em que se busca identificar os doentes assintomáticos<sup>99</sup>. A aplicação de testes sensíveis leva a identificação de muitos possíveis portadores da doença, mas submeterá muitos indivíduos sem doença a exames adicionais ou mesmo tratamentos, podendo trazer mais malefícios do que benefícios, incluindo custos desnecessários e que podem impactar negativamente os serviços de saúde<sup>101-104</sup>.

No contexto do rastreamento do CCU, o exame mais utilizado em todo o mundo é o citopatológico, que tem sido objeto de críticas por sua baixa sensibilidade, em média, levando a perdas de muitas mulheres, possíveis portadoras de câncer ou de suas lesões precursoras. Busca-se compensar essa limitação com a repetição do teste, quando se espera que lesões não identificadas numa amostra sejam identificadas na seguinte ou posteriores, sempre contando com a história natural conhecida, de longa evolução das lesões precursoras até o câncer<sup>9,10,105-108</sup>.

Considerando essas características, as Diretrizes Brasileiras para o Rastreamento do Câncer do Colo do Útero recomendam que o exame citopatológico seja realizado a cada três anos, após dois exames negativos consecutivos com intervalo de um ano<sup>3</sup>.

Todavia, duas categorias diagnósticas são muito prevalentes e com baixa probabilidade de representarem uma lesão precursora ou câncer e, por esse motivo, deixam de ser priorizadas no encaminhamento para colposcopia: ASC-US e LSIL. Uma mulher com um desses resultados, segundo as Diretrizes Brasileiras, deve repetir seu exame em seis a doze meses<sup>3</sup>. Mantido um desses resultados, a probabilidade de ela ser portadora de uma lesão precursora é maior e ela terá a necessidade de investigação por meio da

colposcopia. Caso o novo exame seja dentro dos limites da normalidade, a probabilidade de ela ser portadora de uma lesão precursora é reduzida e, depois de um segundo exame normal, poderá retornar ao rastreamento trienal<sup>3</sup>.

Nesse contexto, é imprescindível o seguimento das mulheres com um desses diagnósticos citológicos, garantindo que realizem o segundo exame no tempo recomendado, o que, infelizmente, não tem ocorrido no Brasil, com muitas perdas de mulheres e, possivelmente, comprometendo a efetividade do programa de rastreamento<sup>5,33,34,94</sup>.

Dessa forma é desejável buscar testes que possam identificar quais mulheres com um desses resultados citológicos podem ser portadoras de câncer ou suas lesões precursoras. Para essa avaliação devem-se considerar além da acurácia dos testes, seus custos, disponibilidade de recursos para insumos, equipamentos, pessoal capacitado e, ainda, as dificuldades para a busca ativa e sensibilização das mulheres para a realização de uma segunda coleta após o resultado citológico de ASC-US ou LSIL.

Em relação às questões operacionais, o emprego da CML fornece a oportunidade de realização de testes moleculares, como o de detecção de DNA-HPV, e da imunocitoquímica, como a Dupla Marcação por p16 e Ki67, que oferece menor custo, já está incorporada ao SUS e depende de menor investimento em equipamentos.

Apesar de incipiente, a aplicação da CML no Brasil tende a aumentar com a sua introdução sistemática<sup>96,109</sup>, como no Estado do Tocantins. Já em locais onde a CML não foi implementada, a coleta de uma nova amostra, para qualquer teste adicional, pode ser oportunizada no momento do fornecimento do resultado à mulher ou, nas que não comparecem para o resultado, sua busca ativa com menor intervalo temporal desde a coleta, quando há menor probabilidade de que tenha modificado seu endereço ou outras formas de contato, apontando para maior êxito em localizá-la.

Do ponto de vista do desempenho dos testes, aplica-se novamente o balanço entre sensibilidade e especificidade: caso seja empregado um teste muito sensível, muitas mulheres com citologia ASC-US ou LSIL seriam encaminhadas para colposcopia, com realização de biópsias e, eventualmente, tratamentos desnecessários. Já o uso de um teste muito específico deixaria de identificar muitas mulheres portadoras de câncer ou suas lesões precursoras e, assim, teria pouco impacto em prevenir as perdas de mulheres no seguimento após esses diagnósticos citológicos.

A comparação entre os testes estudados nessa análise mostra que a maior sensibilidade foi observada com o uso de marcação individual de p16 ou Ki67, embora com a menor especificidade, o que se traduz em muitas mulheres sem doença sendo encaminhadas para colposcopia. A menor sensibilidade foi observada com a CML com ponto de corte para encaminhamento para colposcopia em ASC-H+, com especificidade de 100% (Tabela 8). Todavia, nessa alternativa, apenas duas lesões seriam detectadas (Tabela 10).

Considerando-se o balanço entre sensibilidade e especificidade, a Dupla Marcação por p16 e Ki67 demonstra o melhor desempenho nessa análise, apesar de longe do ideal e próximo do obtido pela repetição da citologia considerada positiva com qualquer alteração citológica.

A diferença de desempenho entre os testes também pode ser verificada pela relação entre os seus diferentes resultados. A Tabela 10 mostra as medidas de Razão de Sensibilidade e de Especificidade, calculadas para as medidas obtidas por cada teste em cada nível de positividade. Fica clara a vantagem em termos de Razão de Sensibilidade para a marcação individual de p16 ou Ki67, apesar de resultar nas piores Razões de Especificidade. O melhor desempenho dessas medidas é observado quando a Dupla Marcação para p16 e Ki67 está presente em relação à CML com qualquer alteração

citológica, que foi o teste que mais se aproximou do primeiro em termos de Sensibilidade e Especificidade e equilíbrio entre essas medidas: 1,25 e 1,15.

A imprecisão das medidas, devido às limitações do tamanho amostral e baixa prevalência de NIC II+ pode levantar uma falsa impressão de superioridade de um teste sobre o outro, o que desperta para diversas alternativas a serem consideradas na dependência das questões operacionais acima discutidas: num contexto em que a CML foi o teste de rastreamento e há recursos para realização da imunocitoquímica, a Dupla Marcação poderá ser a alternativa mais interessante em mulheres com citologia ASC-US ou LSIL para identificar quais devem ser encaminhadas para colposcopia. Já no contexto em que o teste de rastreamento foi a citologia convencional e não existam recursos para realização da Dupla Marcação, uma nova citologia colhida tão logo seja possível, por exemplo, na consulta em que a mulher toma conhecimento do resultado do seu exame, pode ser útil em apontar a necessidade de uma colposcopia.

Na comparação entre o desempenho de testes, além da sensibilidade e da especificidade, que, em geral, são propriedades dos testes e que subsidiam sua escolha em cada situação clínica ou contexto, como o de rastreamento, devemos considerar a sua capacidade de predição, o que é dado pelos valores preditivos. Todavia, os valores preditivos variam em função da prevalência de doença e não devem ser aplicados diretamente em populações em que pode haver diferenças de prevalência de doença daquela usada nos estudos que forneceram esses números. Por esta razão incluímos nessa análise a Razão de Verossimilhança Positiva e a Negativa que também apontam a probabilidade de existir ou não doença conhecida, sua probabilidade prévia ao teste e, em geral, não variam com a prevalência, pois são calculadas usando a sensibilidade e a especificidade<sup>98,109</sup>.

Em termos da capacidade de predição, considerando as Razões de Verossimilhança, sabemos que quanto mais distantes da unidade, maior a capacidade de

modificar a probabilidade pré-teste, apontando para sua maior utilidade. A título de mero exemplo, considerando as Razões de Verossimilhança obtidas e estimando prevalência de NIC II+ de 10% (próxima do que obtivemos em cada análise)<sup>16</sup> em mulheres com citologia ASC-US ou LSIL, construímos a Tabela 11 para facilitar a comparação entre os testes nessa situação específica.

**Tabela 11.** Comparativo do desempenho diagnóstico dos testes de Citologia em Meio Líquido e Dupla Marcação de p16 e Ki67 em diferentes critérios de positividade para detecção de lesão precursora em função da modificação da probabilidade pré-teste para pós-teste utilizando a prevalência de NIC II+ de 10% e as Razões de Verossimilhança obtidas.

	<b>RV<sup>+1</sup></b>	<b>% pós-teste caso positivo</b>	<b>RV<sup>-2</sup></b>	<b>% pós-teste caso negativo</b>
CML com positivo = ASC-H <sup>3</sup>	-	Indeterminado <sup>7</sup>	0,7	7,2
CML com positivo = ASC- US <sup>4</sup>	1,9	17,4	0,7	7,2
DM positiva <sup>5</sup>	3,6	28,6	0,6	6,2
p16 ou Ki67 positivos <sup>6</sup>	1,1	10,9	0,9	9,1

<sup>1</sup>RV+ = Razão de Verossimilhança Positiva; <sup>2</sup>RV- = Razão de Verossimilhança Negativa; <sup>3</sup>Citologia em Meio Líquido considerada positiva quando o resultado foi compatível com Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado, não podendo excluir Lesão Intraepitelial de Alto Grau (ASC-H); <sup>4</sup>Citologia em Meio Líquido considerada positiva quando o resultado foi compatível com Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado (ASC-US, LSIL e ASC-H); <sup>5</sup>Dupla Marcação positiva (presença de células marcadas por p16 e Ki67 simultaneamente); <sup>6</sup>considerado positivo para a presença de marcação de p16 e/ou Ki67; <sup>7</sup> não é possível calcular pois o denominador é igual a zero; para o cálculo das probabilidades pós teste convertimos a probabilidade pré-teste de 10% para chance pré-teste (0,111); o valor obtido foi multiplicado pelas Razões de Verossimilhança obtidas em cada exame e nível de positividade considerados, resultando na chance pós-teste; esse valor foi então convertido para probabilidade pós-teste.

A Tabela 11 destaca, como esperado pelo valor da RV+ (3,6), que a maior modificação da probabilidade pré-teste na situação hipotética de prevalência de NIC II+ de 10% em mulheres com citologia ASC-US ou LSIL, foi gerada pela Dupla Marcação por p16 e Ki67, quando positiva. Nessa situação específica, ao utilizar esse teste e obter um resultado positivo, a probabilidade de uma mulher com uma dessas citologias sobe de 10% para 28%, justificando a indicação da colposcopia para confirmação diagnóstica. Já quando o resultado é negativo, não se observa uma mudança relevante da probabilidade pré teste, o

que nos permite afirmar que esse resultado não exclui doença, sendo prudente a manutenção do seguimento como recomendado em nossas Diretrizes<sup>3</sup>.

Já a CML considerando positiva quando há qualquer alteração citológica ou a marcação individual por p16 ou Ki67 não produziram significativas modificações na probabilidade pós teste, apontando para pouca capacidade de predição da presença de NIC II+ nessas mulheres, independente do resultado.

Assim, considerando a capacidade de predição, obteve-se o melhor resultado com a DM de p16 e Ki67, o que pode ser um dos parâmetros para escolha desse teste em mulheres com citologia de rastreamento com resultado ASC-US ou LSIL.

## 8.2 EFETIVIDADE DA DM POR p16 E Ki67 E DA CML NA DETECÇÃO DE LESÕES PRECURSORAS E ENCAMINHAMENTO PARA COLPOSCOPIA DE MULHERES COM CITOLOGIA ASC-US OU LSIL

Considera-se aqui a efetividade dos testes analisados em função de seu rendimento, ou seja, o percentual de mulheres encaminhadas para colposcopia, e o percentual de lesões detectadas e perdidas em cada teste e nível de positividade.

Esta análise demonstrou que a Dupla Marcação de p16 e Ki67 possibilitou a identificação de uma maior proporção (50%) de mulheres com lesões precursoras NIC II+ (3 mulheres com NIC II+ entre as 6 com um desses resultados na parcela que teve resultados desse teste) quando comparada ao teste de citologia em meio líquido realizada em seguida à inclusão no estudo. Esse desempenho implica no encaminhamento para colposcopia de menos de 20% das mulheres com citologia ASC-US ou LSIL para colposcopia (Tabela 10).

A CML, por sua vez, usada no ponto de corte ASC-US como determinante do encaminhamento para colposcopia, detectaria 42,8% das mulheres com NIC II+, deixando

de detectar 57,2% dessas mulheres e encaminhando 16 mulheres para colposcopia (Tabela 10).

Na análise de outros pontos de corte de cada teste, verificou-se pior desempenho para a CML, com 28,6% das lesões detectadas quando o ponto de corte considerado foi o diagnóstico ASC-H, embora com poucas mulheres encaminhadas para colposcopia. Já o uso da marcação alternativa entre p16 ou Ki67 detectou apenas mais uma mulher com NIC II+, ao custo de encaminhar para colposcopia mais de 60% das mulheres com citologia ASC-US ou LSIL, projetando grande impacto sobre a Atenção Especializada (Tabela 10).

Esses números, apesar de pouco precisos devido ao tamanho amostral e baixa prevalência de NIC II+, demonstram que tanto a CML, realizada independente do intervalo da citologia inicial, ou a DM por p16 e Ki67, podem contribuir na triagem de mulheres com citologia de ASC-US ou LSIL.

Nessa perspectiva, o uso da Dupla Marcação pode ser adotada como um teste adicional à estratégia de rastreamento e detecção dos casos por meio do exame citopatológico, contribuindo especialmente em cenários em que se constata perdas de mulheres para a realização da citologia de repetição e seguimento<sup>94</sup>, onde a amostra inicial foi colhida em meio líquido e há recursos para realização desse teste. Nos locais onde a amostra é obtida da forma tradicional, em esfregaço em lâmina de vidro, alguma estratégia de nova coleta imediata nessas mulheres pode contribuir para redução dessas perdas.

Porém, diante dos resultados obtidos, os dois testes apresentaram perdas de lesões, indicando, que mesmo com o teste adicional, há necessidade de manutenção, aperfeiçoamento ou criação de estratégias para redução de perdas ou retardos na conduta clínica naquelas em que esses testes são negativos<sup>3</sup>.

### 8.3 COMPARAÇÃO DO DESEMPENHO DA DUPLA MARCAÇÃO POR p16 E Ki67 COM ESTUDOS JÁ PUBLICADOS

Estudos revelam diferentes desempenhos desses testes, especialmente quando usados na triagem de mulheres para colposcopia após resultados de ASC-US ou LSIL, e destacam um incremento em especificidade na inclusão desta etapa de triagem melhorando a investigação e diagnóstico dos casos. Na metanálise conduzida por Peeters *et al.*<sup>19</sup>, verificou-se que a DM p16 e Ki67 apresenta maior especificidade (65%) e menor sensibilidade quando comparada ao desempenho do teste de DNA-HPV. O estudo revela que a dupla marcação pode reduzir o encaminhamento de casos triados para a colposcopia, tendo demonstrado melhor desempenho dentre os casos de LSIL, porém não apresenta sensibilidade desejável como um teste de triagem autônomo. O estudo conclui ainda que a detecção simultânea de p16 e Ki67 não requer avaliação citomorfológica, e ainda, apresenta maior precisão quando comparado à avaliação da marcação de p16, individualmente.

No Quadro 2 fazemos a exposição dos estudos encontrados que tiveram por objetivo avaliar o desempenho da DM por p16 e Ki67 e dos quais foi possível extrair as informações para comparação.

Esses estudos foram publicados entre 2011 e 2019 e tiveram tamanhos amostrais consideravelmente maiores do que o nosso o que, por si só, implica em maior precisão de seus resultados. Em termos de idade, as mulheres foram incluídas na mesma faixa etária que o nosso estudo, exceto por Frega *et al.*<sup>102</sup>, que incluíram apenas mulheres na faixa etária de 21 a 24 anos. Todos tiveram maior prevalência de LSIL, especialmente nos estudos de Schmidt *et al.*<sup>80</sup> e Frega *et al.*<sup>102</sup>. Todos utilizaram o teste CINTec Plus® (Sigma-Aldrich) e consideraram doentes mulheres com NIC II+. Os critérios para esse diagnóstico em todos os estudos foi o histopatológico.

Comparando as medidas de desempenho encontradas por esses autores para a DM por p16 e Ki-67, calculadas separadamente para mulheres com citologia ASC-US ou LSIL, Schmidt *et al.*<sup>80</sup> obtiveram a maior Sensibilidade para detecção de NIC II+ em mulheres com citologia inicial ASC-US e, como esperado, a menor Especificidade. Em contrapartida, Possati *et al.*<sup>22</sup> tiveram a maior Especificidade e menor Sensibilidade nesse grupo.

Em relação ao desempenho desse teste em mulheres com LSIL, a maior Sensibilidade foi encontrada nos estudos de Schmidt *et al.*<sup>80</sup> e Frega *et al.*<sup>102</sup>, com conseqüente menor Especificidade. Nesse grupo a maior Especificidade e menor Sensibilidade foi encontrada por White *et al.*<sup>16</sup>.

Comparando com os resultados obtidos, calculados para mulheres com ASC-US ou LSIL, indistintamente, verifica-se que houve variações de Sensibilidade e Especificidade, nas duas formas de análise para os testes de DM, comparando à faixa de resultados dos autores mencionados no Quadro 2.

Parte dessa diferença pode ser devido a erro aleatório, pelo restrito tamanho amostral, mas também pode ser explicada pelas diferenças entre as características deste estudo e os demais, a seguir enumerados.

Com relação à amostra, Frega *et al.*<sup>102</sup> incluíram mulheres mais jovens, com faixa etária variando de 21 a 24 anos, pretendendo identificar a eficácia do teste de p16 e Ki67 na triagem de mulheres não priorizadas nas estratégias de rastreamento. Possati *et al.*<sup>22</sup> e White *et al.*<sup>16</sup>, utilizaram os mesmos critérios de inclusão aplicados no nosso trabalho, se diferenciando com relação à conclusão diagnóstica. Pirtea *et al.*<sup>66</sup>, excluía as que não apresentaram exames colposcópicos alterados, com encaminhamento para biópsia. Naqueles estudos foram considerados para a conclusão diagnóstica apenas os resultados dos exames histopatológicos. Diferente do nosso estudo, os casos negativos ou com achados

colposcópicas anormais, em sua maioria não biopsiadas, deixaram de contribuir para o padrão-ouro, aumentando a prevalência de NIC II+. Em se tratando de testes que são examinador dependente, a maior prevalência de doença pode levar a um melhor desempenho em termos de medidas consideradas estáveis como a Sensibilidade e Especificidade.

Schimdt *et al.*<sup>80</sup>, realizaram um estudo retrospectivo em que o critério de inclusão foi a disponibilidade simultânea de amostras para CML e amostras de tecido obtidas em até 6 meses após o exame citopatológico, disponíveis em 5 laboratórios de anatomia patológica da Suíça e Itália.

O estudo retrospectivo conduzido por Pirtea *et al.*<sup>66</sup> incluiu mulheres referidas para um serviço especializado, com alguma alteração no exame colposcópico e com realização de biópsia. Com esses critérios a prevalência de NICII+ foi de 64,9% para as que tinham LSIL e 56,8% para as que apresentaram ASC-US (Quadro 2). A análise descrita varia conforme a faixa etária, tendo sido observado melhor desempenho da DM no grupo das mulheres com idade menor que 30 anos.

O estudo de White *et al.*<sup>16</sup> também identificou lesões nesse nível em 43,8% das que tinham diagnóstico prévio de LSIL e em 34% nas que apresentavam ASC-US. Essa alta prevalência de casos pode ser atribuída, também à inclusão de mulheres que apresentavam histopatológico, ou seja, com maior prevalência de doença. Nos demais estudos, apesar da menor prevalência, também houve maior positividade para NIC II+ entre as que apresentaram LSIL, comparado às com diagnóstico inicial de ASC-US. Nosso estudo obteve resultados semelhantes ao de Possati *et al.*<sup>22</sup>, possivelmente pelos critérios de inclusão, seguimento e exclusão serem semelhantes.

Em todos os estudos que compõem o Quadro 2 houve a utilização do kit comercial CINtec Plus® para a avaliação da efetividade da marcação de p16 e Ki67. Este

estudo foi conduzido com a obtenção de um reagente que apresentasse em sua formulação a identificação simultânea dos dois marcadores (p16 e Ki67). A simples utilização de testes diferentes, embora com a mesma finalidade, pode explicar uma parcela das diferenças encontradas entre os nossos resultados e os relatados pelo demais autores.

Na etapa de aquisição dos insumos para realização desse estudo foram identificados vários reagentes e protocolos com a combinação de anticorpos e etapas para identificar a presença da expressão de p16 e/ou Ki67 sendo comercializadas. Na pesquisa junto aos fornecedores de grandes centros não houve nenhuma que constasse a oferta do CINtec Plus®, possivelmente por não ser comercializado rotineiramente no Brasil. Importante reiterar que o insumo utilizado neste trabalho foi obtido com custeio do projeto financiado pela agência de fomento de Tocantins, após análise de orçamentos dos fornecedores e da viabilidade da execução dos protocolos dos testes. Por esta razão realizamos uma etapa prévia de padronização do protocolo para a marcação de p16 e Ki67, assegurando a realização dos testes das amostras apenas após a observação de resultados de espécimes citológicos conhecidos e distintos, atribuídos como controles positivos e negativos.

Em todos os estudos, o critério de celularidade (5.000 células) para validação da amostra analisada pareceu ter sido observado, mediante o cumprimento dos protocolos técnicos reproduzidos, assim como neste estudo.

No que diz respeito ao cegamento, todos os estudos relataram que não houve a revelação de dados anteriores ou de outros testes no momento das análises. Este estudo foi conduzido em três centros de referência e em nenhum momento houve o compartilhamento das informações prévias com os laboratórios ou colaboradores do projeto. Todas as análises foram realizadas em tempos distintos, com a atribuição de códigos o que não permitia a identificação nominal ou de resultados de outras análises já concluídas. Assim, nota-se que

não há risco de viés de aferição por cegamento inadequado e essa não nos parece uma razão para os diferentes resultados obtidos entre os estudos expostos no Quadro 2 e o presente.

**Quadro 2.** Exposição de características e resultados obtidos em estudos identificados e com dados extraíveis relacionados ao desempenho diagnóstico da Dupla Marcação de p16 e Ki67 na identificação de NIC II+ em mulheres com citologia de ASC-US ou LSIL.

Autor, ano de publicação	Local	Período do estudo	Mulheres incluídas <sup>1,2</sup>	Idade	Critérios de inclusão	Houve cegamento	Critério diagnóstico de NIC II+	Mulheres com ASC-US		Mulheres com LSIL		Desempenho diagnóstico			
								N	NIC II+ N (%)	N	NIC II+ N (%)	ASC-US		LSIL	
												S	E	S	E
Schmidt <i>et al.</i> , 2011 <sup>81</sup>	Heidelberg, Alemanha	ND <sup>1</sup>	776	>18	Citologia = ASC-US ou LSIL; histopatológico	Sim	Histopatológico <sup>2</sup>	361	77 (21,3)	415	137 (33,0)	92,2%	80,6%	95,8%	68%
Possati <i>et al.</i> , 2015 <sup>23</sup>	Barretos, Brasil	2012 - 2013	199	>18	Citologia = ASC-US ou LSIL	Sim	Colposcopia/histopatológico	96	8 (8,30)	105	23 (21,9)	62,5%	93,1%	69,6%	75,3%

**Quadro 2.** Exposição de características e resultados obtidos em estudos identificados e com dados extraíveis relacionados ao desempenho diagnóstico da Dupla Marcação de p16 e Ki67 na identificação de NIC II+ em mulheres com citologia de ASC-US ou LSIL (continuação).

Autor, ano de publicação	Local	Período do estudo	Mulheres incluídas <sup>1,2</sup>	Idade	Critérios de inclusão	Houve cegamento	Critério diagnóstico de NIC II+	Mulheres com ASC-US		Mulheres com LSIL		Desempenho diagnóstico			
								N	NIC II+ N (%)	N	NIC II+ N (%)	ASC-US		LSIL	
												S	E	S	E
White <i>et al.</i> , 2016 <sup>16</sup>	Irlanda	2008 - 2011	471	>18	Citologia = ASC-US ou LSIL e histopatológico	Sim	Colposcopia/histopatológico	206	70 (34,0)	265	116 (43,8)	71,9%	87,9%	77,8%	88,6%
Pirtea <i>et al.</i> , 2016 <sup>65</sup>	Romênia	2015 - 2016	161	<30 e >30	Citologia = ASC-US ou LSIL e colposcopia alterada	Sim	histopatológico	67	38 (56,8)	94	61 (64,9)	66%	93%	59%	79%

**Quadro 2.** Exposição de características e resultados obtidos em estudos identificados e com dados extraíveis relacionados ao desempenho diagnóstico da Dupla Marcação de p16 e Ki67 na identificação de NIC II+ em mulheres com citologia de ASC-US ou LSIL (continuação).

Autor, ano de publicação	Local	Período do estudo	Mulheres incluídas <sup>1,2</sup>	Idade	Critérios de inclusão	Houve cega-mento	Critério diagnóstico de NIC II+	Mulheres com ASC-US		Mulheres com LSIL		Desempenho diagnóstico			
								N	NIC II+ N (%)	N	NIC II+ N (%)	ASC-US		LSIL	
												S	E	S	E
Frega <i>et al.</i> , 2019 <sup>103</sup>	Roma, Itália	2009 – 2017	342	21 a 24 anos	Citologia = ASC-US ou LSIL; idade	Sim	histopatológico <sup>2</sup>	118	19 (16,1)	224	59 (26,3)	90,1%	77,7%	94,6%	55,4%

<sup>1</sup>Não descrito na metodologia ou resultados, a descrição se restringe ao tempo de coleta (36 meses) e disponibilidade da amostra em meio líquido a ser analisada. <sup>2</sup>Resultado do exame histopatológico foi definido como padrão ouro.

Observações: 1. Todos utilizaram o teste CINtec Plus® (Sigma-Aldrich); 2. Os dados foram extraídos de tabelas ou do texto do artigo original.

Outros artigos foram buscados na literatura, porém não se referiam de forma específica ao objeto desta análise e, portanto, não foram incluídos no Quadro 2. Estudo conduzido na Romênia<sup>111</sup>, apesar de tratar sobre o mesmo grupo de resultados prévios de ASC-US ou LSIL, apresenta número reduzido de mulheres incluídas (n=60), das quais 37 apresentaram resultado inicial de LSIL e 23 de ASC-US e não há uma definição do número de mulheres com doença para cada um dos grupos separadamente. Observamos um alto percentual de alterações nos exames de colposcopia (85%), com realização de biópsia e de procedimentos excisionais em todas as participantes, caracterizando um viés de seleção. Nesse sentido certamente espera-se um percentual maior de positividade quanto a DM, confirmada em 31 amostras (51,6%), e sensibilidade e especificidade de 94% e 93%, respectivamente.

De acordo com Yu *et al.*<sup>112</sup>, em estudo retrospectivo conduzido na China, das mulheres incluídas, 167 apresentaram citologia inicial de ASC-US, 76 (45,5%) apresentaram a DM positiva e das 192 com citologia LSIL, 80 (41,7%) também tiveram o teste positivo. Nesse estudo, também não conseguimos identificar o desfecho para cada grupo e as medidas de desempenho do teste estão categorizadas por desfecho, que agrupa todos os casos reportados que foram categorizados em NIC2+ ou NIC3+, o que não permite comparar esses resultados com os dados obtidos em nosso estudo.

#### 8.4 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Este estudo foi desenvolvido com o recrutamento de mulheres nas unidades básicas de saúde (Atenção Primária), em Tocantins e no Rio de Janeiro. No trabalho de campo vivenciamos as práticas habituais dos serviços de saúde do SUS, que seguem as mesmas diretrizes para abordagem e atendimentos nos serviços de referência. Nesse contexto vivenciou-se dificuldades quanto ao recrutamento das mulheres, especialmente pelas barreiras entre o que é acordado com as equipes de gestão e o executado nas unidades de saúde, por existir um fluxo de comunicação que carece de aprimoramento. Em Tocantins, ao longo do desenvolvimento da pesquisa várias unidades primárias de saúde foram visitadas tanto na capital quanto no município de Porto Nacional, onde a

equipe coordenadora desta pesquisa socializava os objetivos do estudo, divulgando entre os profissionais a oportunidade do encaminhamento das mulheres consideradas elegíveis.

Para maior abrangência do estudo no Tocantins, foi feita uma apresentação na reunião da Comissão Intergestores Bipartite (CIB) que reúne os gestores dos 139 municípios que compõe o Estado, em agosto de 2019, sem que conseguíssemos a adesão de outros municípios sedes de Serviços de Referência do Colo (SRC), além de Palmas e Porto Nacional. Também, não foi possível garantir recursos para transporte ou alimentação para aquelas mulheres que manifestassem interesse em participar.

A pandemia da COVID-19 paralisou o mundo e, conseqüentemente, as atividades cotidianas das unidades de saúde do SUS, incluindo as ações de rastreamento. Houve importante redução no número de exames realizados em nosso país<sup>39</sup>. Adicionalmente houve a suspensão da execução de projetos de pesquisas no âmbito da SES/TO, além da preocupação ética de não expor pessoas ao risco de contaminação na procura pelos serviços de assistência/atendimento médico especializado no Tocantins e Rio de Janeiro exclusivamente para participação nesse estudo. A suspensão temporária da pesquisa também foi uma das medidas adotadas no IFF/Fiocruz. No Rio de Janeiro houve a retomada dos atendimentos em setembro do mesmo ano, porém a baixa adesão aos atendimentos de rotina nas unidades de saúde incorreu na descontinuidade do recrutamento e retomada tímida e irregular.

No longo período da execução do projeto houve muitas dificuldades com relação a realização dos testes laboratoriais previstos, conforme previsto no projeto que foi qualificado em março de 2020. Houve a priorização da utilização das estruturas físicas dos laboratórios e colaboradores deste estudo para o atendimento das demandas de testagem da população na estratégia do enfrentamento da Pandemia da COVID-19, tendo

sido suspensas a realização do teste de DNA-HPV, citopatológico e da DM por p16 e Ki67.

Para os testes citopatológicos e da DM de p16 e Ki67, inicialmente foi previsto um fluxo que envolvia a parceria com uma universidade em São Paulo onde chegou-se a executar a padronização dos testes, tanto da CML quanto da marcação de p16 e Ki67. Isso foi realizado com o apoio e visita técnica realizada ao Laboratório de Imunohistoquímica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP). As primeiras análises de CML e resultados da padronização foram objeto do envolvimento de um grupo que foi dissolvido após a desvinculação desse trabalho de um colaborador do projeto. No início de 2020 o fluxo para o exame de CML foi modificado para a realização do processamento das amostras em um laboratório privado, também em São Paulo, com a continuidade do apoio de desse colaborador do estudo. O fluxo foi modificado novamente em 2022, com o início das atividades do Laboratório de Citologia no Laboratório Central de Saúde Pública do Tocantins (LACEN/TO), que utiliza metodologia compatível ao teste do estudo.

Em decorrência dessas dificuldades e mudanças de planos, tivemos que articular para que as análises para a DM de p16 e Ki67 fossem retomadas com a parceria com o Laboratório de Imunohistoquímica da FMUSP, onde foram novamente padronizados os protocolos e aquisição dos reagentes necessários para a realização dos testes. Parte dos insumos foram custeados pelo Projeto de PPSUS que estava em andamento. As análises foram realizadas de forma minuciosa, conforme descrito na metodologia. Com a conclusão e a prestação de contas do Projeto PPSUS, apresentamos os resultados que foram finalizados até fevereiro de 2022, que são os mesmos que compõem essa análise.

Quanto aos testes de DNA-HPV, foram executados ao longo dos anos de 2019 a 2022, em cronograma que foi cumprido em conformidade aos protocolos acordados com os colaboradores definidos para essas análises. Para essa etapa realizou-se a aliquotagem das amostras, extração do DNA viral e a execução dos testes de Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real (qPCR). Dados das etapas executadas indicam percentual de positividade e as amostras que devem seguir ao sequenciamento genético, para a definição de quais tipos de vírus podem efetivamente ser identificados. Para essa fase, investimos sob várias formas tentativas para o encaminhamento ao sequenciamento, porém não houve a conclusão e obtenção desses resultados, o que nos fez excluir esses resultados dos objetivos e demais capítulos dessa tese.

Ao analisar as diferenças entre as mulheres incluídas e as não incluídas, verificou-se que eram estatisticamente significativas ao nível de 5% apenas em termos da média de idade, o que pode ser explicado pela maior probabilidade de mulheres mais maduras apresentarem ZT tipo III e, em consequência, necessidade de seguimento para conclusão diagnóstica, com maior risco de perdas. Apesar dessa diferença estatística, ambos os grupos tiveram média de idade próxima de 40 anos e não houve diferença estatisticamente significativa ao nível de 5% para os demais parâmetros medidos (Tabela 1).

Em termos de resultados, obteve-se significativamente menos resultados de exames histopatológicos nas mulheres não incluídas, o que era esperado, pois algumas dessas mulheres não foram incluídas por não terem realizado algum procedimento excisional ou biópsia na avaliação inicial e não terem feito o seguimento necessário para a conclusão diagnóstica. As demais não foram incluídas por não terem conclusão da citologia ou da DM por p16 e Ki67 e a falta desse resultado não esteve relacionada ao resultado da citologia inicial ou à conclusão diagnóstica, visto que os examinadores

desses testes estavam cegos em relação a essas informações, mas devido às questões operacionais já relatadas.

Dessa forma, acredita-se que este estudo tem baixo risco de viés, mas sofre de imprecisão das medidas devido ao limitado tamanho amostral. O Poder foi calculado para cada tabela de contingência, evidenciando que não foi possível obter o o parâmetro almejado, de 80%.

## 9. CONCLUSÃO

O teste imunocitoquímico de DM por p16 e Ki67 se mostrou mais capaz de identificar mulheres com lesões precursoras com resultado citopatológico prévio ASC-US ou LSIL, sem aumento relevante de encaminhamentos para colposcopia em comparação à repetição imediata da citologia. Nesta análise visualizamos incremento em acurácia na estratégia do rastreamento, pois a utilização desse teste oportunizou a identificação de um número maior de casos de mulheres com a doença, quando comparado à citologia de repetição. A Razão de Verossimilhança positiva desse teste também apresentou melhor desempenho do que a citologia de repetição.

Apesar das limitações relacionadas ao tamanho amostral, a DM pode contribuir no rastreamento, como um teste adicional ou simultâneo (coteste), especialmente em estratégias que utilizam amostras de citologia em meio líquido, oportunizando a identificação de mulheres sob maior risco de desenvolvimento da doença que, sem a identificação imediata, poderiam se perder no seguimento.

Esses resultados, que refletem o cenário da rotina vivenciada no SUS, podem somar à literatura e subsidiar a inclusão desses testes em propostas de trabalho ou pesquisas que avaliem a metodologia num cenário pleno de rotinas de atendimentos, para a padronização de protocolos técnicos analíticos e algoritmo da sua aplicabilidade na linha de cuidado para o câncer do colo do útero.

## 10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. FERLAY J. ET AL. **Global cancer observatory: cancer today**. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2020. [Internet]. [Cited in: 2023 Mar 29]; Available from: <https://gco.iarc.fr/today>.
2. PORTO, M. A.; HABIB, P. A. B. B. **Viva Mulher: Constructing a cervical cancer control program in Brazil**. *Dynamis*. 2014; 34:101–123. doi: 10.4321/S0211-95362014000100006. [Cited in: 2022 Jul] 17: PMID: 24987783. Available from: <https://dx.doi.org/10.4321/S0211-95362014000100006>.
3. BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. (INCA). **Diretrizes Brasileiras para o rastreamento do Câncer do Colo do Útero** [Internet]. 2016. [Cited in: 2020 Feb 24]. Available from: [https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//diretrizes\\_para\\_o\\_rastreamento\\_do\\_cancer\\_do\\_colo\\_do\\_uterio\\_2016\\_corrigido.pdf](https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//diretrizes_para_o_rastreamento_do_cancer_do_colo_do_uterio_2016_corrigido.pdf).
4. BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. (INCA). **Estimativa triênio 2023 a 2025** [Internet]. INCA Estim. triênio 2023 a 2025. 2022. [Cited in: 2023 Jan 20]. Available from: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros/estimativa>.
5. BASTOS, E. A. **Estimativa da Efetividade do Programa de Rastreamento do Câncer do Colo do Útero no Estado do Rio de Janeiro**. [Internet]. 2011;34. [Cited in: 2021 Ago]. Available from: [http://www.peb.ufrj.br/teses/Tese0143\\_2011\\_08\\_12.pdf](http://www.peb.ufrj.br/teses/Tese0143_2011_08_12.pdf).
6. BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. (INCA). **Plano de Ação para Redução da Incidência e Mortalidade por Câncer do Colo do Útero. Programa Nacional de Controle do Câncer do Colo do Útero** [Internet]. 2010. Available from: [http://www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/sumario\\_colo\\_uterio\\_versao\\_2011.pdf](http://www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/sumario_colo_uterio_versao_2011.pdf).
7. CORREA, D. A. D.; VILLELA, W. V. **Cervical cancer prevention: challenges facing the implementation of program actions in Amazonas, Brazil**. [Internet]. 2008. p. 491–497. [Cited in: 2022 Feb 20]. Available from: <https://www.scielo.br/j/rbsmi/a/FhJYjWC6BrtBtDnjbQ7bVq/?lang=pt>.
8. BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. (INCA). **Nomenclatura brasileira para laudos citopatológicos**

**cervicais**. [Internet]. 3. ed. 2012; 25. Rio de Janeiro; 2012. [Cited in: 2021 Oct 21]. Available from:  
<https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//nomenclatura-brasileira-para-laudos-citopatologicos-cervicais-2012.pdf>

9. BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. (INCA). **Manual de Gestão da Qualidade para Laboratório de Citopatologia** [Internet]. 2. ed. rev. Rio de Janeiro; 2016. [Cited in: 2021 Oct 21]. Available from:  
[https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//livro\\_completo\\_manual\\_citopatologia-2016.pdf](https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//livro_completo_manual_citopatologia-2016.pdf).

10. NANDA, K; MCCRORY, D.C., MYERS, E. R.; BASTIAN, L. A.; HASSELBLAD, V.; HICKEY, J. D.; MATCHAR, D. B. **Accuracy of the papanicolaou test in screening for and follow-up of cervical cytologic abnormalities: A systematic review**. *Ann Intern Med*. [Internet]. 2000; 132:810–819. [Cited in: 2022 Jun 28]. PMID: 10819705. Available from:  
<https://doi.org/10.7326/0003-4819-132-10-200005160-00009>.

11. TAVARES, S. B. D. N.; AMARAL, R. G.; MANRIQUE, E. J. C.; SOUSA, N. L. A; ALBUQUERQUE, Z. B. P.; ZEFERINO, L. C. **Controle da Qualidade em Citopatologia Cervical: Revisão de Literatura**. *Rev Bras Cancerol*. 2007; 53: 355-364. [Cited in: 2022 Jun 28]. Available from: <https://doi.org/10.32635/2176-9745.RBC.2007v53n3.1803>.

12. AMARAL, G. R.; MANRIQUE, E. J. C.; GUIMARÃES, J. V.; SOUSA, P. J.; RICARDO QUEIROZ MIGNOLI, J. R. Q.; XAVIER, A. F.; OLIVEIRA, A. Artigos Originais. **Influência da adequabilidade da amostra sobre a detecção das lesões precursoras do câncer cervical**. [Internet]. *Rev. Bras. Ginecol*. 2008; 30: 556-560. [Cited in: 2022 Jan 12]. Available from: <https://doi.org/10.1590/S0100-72032008001100005>.

13. KISSER, A.; ZECHMEISTER-KOSS, I. **A systematic review of p16/Ki-67 immuno-testing for triage of low grade cervical cytology**. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol* [Internet]. 2015; 122:64–70. [Cited in: 2022 Sep 11]. Available from:  
<https://doi.org/10.1111/1471-0528.13076>.

14. MELO, F.L.P.; LANCELLOTTI, C.L.P.; SILVA, M. A. L. G. **Expression of the Immunohistochemical Markers p16 and Ki-67 and Their Usefulness in the Diagnosis of Cervical Intraepithelial Neoplasms**. *Rev Bras Ginecol e Obstet Rev da Fed Bras das Soc Ginecol e Obstet* [Internet]. 2016; 38:82–87. doi: 10.1055/s-0036-1571470. [Cited in: 2022 Sep 11]. PMID: 26883858. Available from:  
<https://www.thieme-connect.de/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0036-1571470>.

15. ARNEY, A.; BENNETT, K. M. **Molecular Diagnostics of Human Papillomavirus**. *Lab Med* [Internet]. 2010; 41:523–530. [Cited in: 2022 Sep 01]. Available from: <https://doi.org/10.1309/LM75WGJSVMI7VVEF>.
16. WHITE, C.; BAKHIET, S.; BATES, M.; KEEGAN, H.; PILKINGTON, L.; RUTTLE C, SHARP, L., O' TOOLE, S.; FITZPATRICK, M. G.; et al. **Triage of LSIL/ASC-US with p16/Ki-67 dual staining and human papillomavirus testing: a 2-year prospective study**. *Cytopathology* [Internet]. 2016; 27:269–276 [Cited in: 2022 Feb 24]. Available from: <https://doi.org/10.1111/cyt.12317>.
17. DURST, M.; GISSMANN, L.; IKENBERG, H.; HAUSEN, H. Z. **A papillomavirus, DNA-from a cervical carcinoma and-its-prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions (human papillomaviruses/low-stringency hybridization/molecular cloning/genital tumors)**. *Proc. NatL Acad. Sci. USA*. 1983 [Cited in: 2022 Feb 24]; 80: 3812-3815. PMID: 6304740. Available from: <https://doi.org/10.1073/pnas.80.12.3812>.
18. BRUNI, L.; ALBERO, G.; SERRANO, B.; MENA, M.; COLLADO, J. J.; GÓMEZ, D.; MUÑOZ, J.; BOSCH, F.; DE SANJOSÉ, S. **ICO/IARC Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Brazil**. Summary Report 22 October 2021. [Cited in: 2020 Feb 24]. Available from: <https://hpvcentre.net/statistics/reports/BRA.pdf>.
19. PEETERS E, WENTZENSEN N, BERGERON C, ARBYN M. **Meta-analysis of the accuracy of p16 or p16/Ki-67 immunocytochemistry versus HPV testing for the detection of CIN2+/CIN3+ in triage of women with minor abnormal cytology**. *Cancer Cytopathol*. 2019 Mar;127(3):169-180. [Cited in: 2023 Feb 18]. Epub 2019 Feb 27. PMID: 30811902. Available from: doi: <https://doi.org/10.1002/cncy.22103>.
20. DONÀ, M. G.; VOCATURO, A.; GIULIANI, M.; RONCHETTI, L.; ROLLO, F.; PESCARMONA, E.; CAROSI, M.; VOCATURO, G.; BENEVOLO, M. **p16/Ki-67 dual staining in cervico-vaginal cytology: correlation with histology, Human Papillomavirus detection and genotyping in women undergoing colposcopy**. *Gynecol Oncol* [Internet]. 2012. [Cited in: 2022 Feb 13]; 126:198–202. PMID: 22588180. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2012.05.004>.
21. MCCREDIE, M.R.; SHARPLES, K, J.; PAUL, C.; BARANYAI, J.; MEDLEY, G.; JONES, R. W.; SKEGG, D. C. **Natural history of cervical neoplasia and risk of invasive cancer in women with cervical intraepithelial neoplasia 3: a retrospective cohort study**. *Lancet Oncol* [Internet]. 2008 [Cited in: 2022 Feb 16]; 9:425–434. PMID: 18407790. Available from: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(08\)70103-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(08)70103-7).

22. DERBIE, A.; MEKONNEN, D.; WOLDEAMANUEL, Y.; OSTADE, V. X.; ABEBE, T. **HPV E6/E7 mRNA test for the detection of high grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN2+): A systematic review** [Internet]. *Infect. Agent. Cancer. BioMed Central Ltd.*; 2020; 15:9. [Cited in: 2022 Feb 25]. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13027-020-0278-x>.
23. POSSATI-RESENDE, J. C.; FREGNANI, J. H. T. G.; KERR, L. M.; MAUAD, E.C.; LONGATTO-FILHO, A.; SCAPULATEMPO-NETO, C. **The accuracy of p16/Ki-67 and HPV test in the detection of CIN2/3 in women diagnosed with ASC-US or LSIL**. *PLoS One*. 2015;10. [Cited in: 2022 Feb 13]. PMID: 26230097. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134445>.
24. HAUSEN, H. Z. **Papillomaviruses Causing Cancer: Evasion From Host-Cell Control in Early Events in Carcinogenesis**. *J Natl Cancer Inst*. 2000; 92: 690-698. [Cited in: 2022 Feb 13]. 10793105. Available from: <https://doi.org/10.1093/jnci/92.9.690>.
25. DE MARTEL, C., GEORGES, D., BRAY, F., FERLAY, J. & CLIFFORD, G. M. **Global burden of cancer attributable to infections in 2018: a worldwide incidence analysis**. *Lancet Glob. Health* 8, e180–e190 (2020). [Cited in: 2023 Mar 29]. Available from: [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(19\)30488-7](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(19)30488-7).
26. ZEFERINO, L. C.; BASTOS, J. B.; DO VALE, D. B. A. P.; ZANINE, R. M.; MELO, Y. L. M. F.; PRIMO, W. Q.S. P.; CORRÊA, F. M.; DO VAL, I. C.C.; RUSSOMANO, F. **Guidelines for HPV-DNA testing for cervical cancer screening in Brazil** [Internet]. *Rev. Bras. Ginecol. e Obstet. Federacao Brasileira das Sociedades de Ginecologia e Obstetricia*; 2018; 40:360–368. [Cited in: 2022 Feb 25]. Doi: 10.1055/s-0038-1657754. Available from: <https://www.thieme-connect.de/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0038-1657754>.
27. PITY, I. S.; ABDU, H. M.; GOREAL, A. A. **Human papillomavirus genotyping among different cervical smears in Duhok/Iraq**. *Asian Pacific J Cancer Prev*. 2019; 20:2059–2064. [Cited in: 2022 Feb 13]. doi: 10.31557/APJCP.2019.20.7.2059. Available from: [http://journal.waocp.org/article\\_88632.html](http://journal.waocp.org/article_88632.html).
28. NAKAGAWA, J. T. T.; SCHIRMER, J.; BARBIERI, M. **Vírus HPV e câncer de colo de útero**. *Rev Bras Enferm* [Internet]. 2010; 63:307–311. [Cited in: 2022 Feb 18]. Available from: <https://doi.org/10.1590/S0034-71672010000200021>.
29. BOSCH, F. X.; DE SANJOSÉ, S. **Chapter 1: Human papillomavirus and cervical cancer--burden and assessment of causality**. [Internet]. *J. Natl. Cancer Inst*.

Monogr. Oxford Academic; 2003 [Cited in: 2022 Feb 25]. p. 3–13. Available from: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jncimonographs.a003479>.

30. CUSCHIERI, K.; RONCO, G.; LORINCZ, A.; SMITH, L.; OGILVIE, G.; MIRABELLO, L.; CAROZZI, F.; CUBIE, H.; WENTZENSEN, N.; SNIJDERS, P. et al. **Eurogin roadmap 2017: Triage strategies for the management of HPV-positive women in cervical screening programs**. *Int J Cancer*. 2018; 143:735–745. [Cited in: 2022 Feb 25]. doi: 10.1002/ijc.31261. Available from: <https://doi.org/10.1002/ijc.31261>.

31. WORLD HEALTH ORGANIZATION. [Internet]. **WHO guideline for screening and treatment of cervical pre-cancer lesions for cervical cancer prevention**. 2. Edition; 2021 [Cited in: 2022 Feb 25]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK572321>.

32. TOMAZELLI, J. G.; GIRIANELLI, V. R.; SILVA, G. A. **Estratégias usadas no relacionamento entre Sistemas de Informações em Saúde para seguimento das mulheres com mamografias suspeitas no Sistema Único de Saúde**. *Rev Bras Epidemiol*. 2018;21. [Cited in: 2022 Feb 28]. doi: 10.1590/1980-549720180015. Available from: <https://www.scielo.br/j/rbepid/a/MSjzSVfBmYLb6vFSvV8xMzB/?lang=pt>.

33. GALVÃO, J. D. **Câncer do colo do útero no Estado do Tocantins: características do rastreamento e seguimento das mulheres na rede pública de saúde**. 2017 [Cited in: 2020 Jan 22]. Dissertação (Mestrado Profissional) – Instituto de Saúde Coletiva. Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2017. Available from: <https://repositorio.ufba.br/ri/handle/ri/26013>.

34. RIBEIRO, L.; BASTOS, R. R.; VIEIRA, M. T.; RIBEIRO, L. C.; TEIXEIRA, M. T. B.; LEITE, I. C. G. **Rastreamento oportunístico versus perdas de oportunidade: não realização do exame de Papanicolaou entre mulheres que frequentaram o pré-natal**. *Cad Saúde Pública*. 2016;32. [Cited in: 2022 Feb 28]. Available <https://doi.org/10.1590/0102-311X00001415>.

35. WORLD HEALTH ORGANIZATION. [Internet]. **Global strategy to accelerate the elimination of cervical cancer as a public health problem and its associated goals and targets for the period. 2020 – 2030**. United Nations Gen. Assem. 2021. [Cited in: 2022 Mar 5]. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240014107>.

36. BRASIL, Ministério da Saúde. **Política Nacional de Atenção Integral à Saúde da Mulher: princípios e diretrizes** [Internet]. Brasília; 2014. [Cited in: 2022 Mar 6].

Available from:

[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica\\_nac\\_atencao\\_mulher.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_nac_atencao_mulher.pdf).

37. BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. (INCA). Atlas de Mortalidade [Internet]. **Atlas de Mortalidade 2022**. [Cited in: 2023 Jan 4]. Available from: <https://www.inca.gov.br/app/mortalidade>.
38. BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. (INCA). **Dados e Números Sobre Câncer do Colo do Útero. Relatório Anual 2022**. [Internet]. Rio de Janeiro; 2022. [Cited in: 2022 Nov 12]. Available from: <https://antigo.inca.gov.br/publicacoes/relatorios/dados-e-numeros-sobre-cancer-do-colo-do-utero-relatorio-anual-2022>.
39. RIBEIRO, C. M.; CORREA, F. M.; MIGOWSKI, A. **Efeitos de curto prazo da pandemia de COVID-19 na realização de procedimentos de rastreamento, investigação diagnóstica e tratamento do câncer no Brasil: estudo descritivo, 2019-2020**. Epidemiol e Serviços Saúde [Internet]. 2022 [Cited in: 2022 Mar 12]; 31:2019–2020. Available from: <https://doi.org/10.1590/S1679-49742022000100010>.
40. BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. (INCA). **Nota Técnica – DIDEPRE/CONPREV/INCA – 30/3/2020. Detecção precoce de câncer durante a pandemia de Covid-19**. 2020. [Cited in: 2023 Jan 4]. Available from: <https://saude.rs.gov.br/upload/arquivos/202004/03141003-covid-19-nota-tecnica-deteccao-precoce.pdf>.
41. MIGOWSKI, A. F.; CORRÊA, M. **Recommendations for cancer early detection during covid-19 pandemic in 2021**. Rev APS. 2020; 23:235–240. [Cited in: 2023 Jan 4] Available from: <https://periodicos.ufjf.br/index.php/aps/article/view/33510>.
42. BRASIL. Ministério da Saúde - SISCAN - **Cito do colo - Por local de residência - Brasil**. [Internet]. [Cited in: 2023 Jan 25]. Available from: [http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/dhdat.exe?SISCAN/cito\\_colo\\_residba.def](http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/dhdat.exe?SISCAN/cito_colo_residba.def).
43. WALBOOMERS, J. M. M.; JACOBS, M. V.; MANOS, M. M.; BOSCH, F. X.; KUMMER, J. A.; SHAH, K. V.; SNIJDERS, P. J. F.; PETO, J.; MEIJER, C. J. L. M.; MUÑOZ, N. **Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide**. J Pathol [Internet]. 1999 [Cited in: 2022 Feb 28]; 189:12–19. PMID: 10451482. Available from: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9896\(199909\)189:1<12::AID-PATH431>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9896(199909)189:1<12::AID-PATH431>3.0.CO;2-F).
44. MUNGER, K.; BALDWIN, A.; EDWARDS, K. M.; HAYAKAWA, H.; NGUYEN, C.L.; OWENS, M.; GRACE, M.; HUH, K. **Mechanisms of Human**

**Papillomavirus-Induced Oncogenesis.** J Virol [Internet]. 2004 [Cited in: 2022 Feb 29]; 78:11451–11460. PMID: 15479788. Available from: <https://doi.org/10.1128/JVI.78.21.11451-11460.2004>.

45. BRINTON, L. A.; FRAUMENI, J.F. **Epidemiology of uterine cervical cancer.** J Chronic Dis. 1986; 39:1051–1065. [Cited in: 2023 Jan 6]. Available from: [https://doi.org/10.1016/0021-9681\(86\)90139-6](https://doi.org/10.1016/0021-9681(86)90139-6).

46. WOODMAN, C.B.J.; COLLINS, S. I.; YOUNG, L. S. **The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues.** Nat Rev Cancer [Internet]. 2007 [Cited in: 2022 Mar 6]; 7:11–22. doi: 10.1038/nrc2050. Available from: <https://www.nature.com/articles/nrc2050>.

47. SANCLEMENTE, G.; GILL, D. **Human papillomavirus molecular biology and pathogenesis.** J Eur Acad Dermatology Venereol [Internet]. 2002 [Cited in: 2020 Mar 8]; 16:231–240. doi: 10.1046/j.1473-2165.2002.00419.x PMID: 12195562. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1473-2165.2002.00419.x>.

48. SCHLECHT, N. F.; KULAGA, S.; ROBITAILLE, J.; FERREIRA, S.; SANTOS, M.; MIYAMURA, R.A.; DUARTE-FRANCO, E.; ROHAN, T.E.; FERENCZY, A.; VILLA, L.L; et al. **Persistent human papillomavirus infection as a predictor of cervical intraepithelial neoplasia.** J Am Med Assoc. 2001; 286:3106–3114. doi: 10.1001/jama.286.24.3106. [Cited in: 2020 Mar 1]. PMID: 11754676. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/194502>.

49. CONGER, K. L.; LIU, J. S.; KUO, S. R.; CHOW, L. T.; WANG, T. S. -F. **Human papillomavirus DNA replication: Interactions between the viral E1 protein and two subunits of human DNA polymerase  $\alpha$ /primase.** J Biol Chem [Internet]. 1999 [Cited in: 2020 Feb 29]; 274:2696–2705. PMID: 9915800. Available from: <https://doi.org/10.1074/jbc.274.5.2696>.

50. NAYAR, R.; WILBUR, D. C. **The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology: A Historical Perspective.** Acta Cytol [Internet]. 2017 [Cited in: 2020 Mar 7]; 61:359–372. Available from: <https://doi.org/10.1159/000477556>.

51. NAYAR, R.; WILBUR, D.C. **The pap test and bethesda 2014: “The reports of my demise have been greatly exaggerated.” (After a quotation from Mark Twain)** [Internet]. Acta Cytol. S. Karger AG; 2015 [Cited in: 2020 Mar 7]. p. 121–132. Available from: <https://doi.org/10.1159/000381842>.

52. DOORBAR, J. **Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer.** Clin Sci [Internet]. 2006 [Cited in: 2022 Feb 28]; 110:525–541. PMID: 16597322. Available from: <https://doi.org/10.1042/CS20050369>.
53. HAREŽA, D.A.; WILCZYŃSKI, J.R.; PARADOWSKA, E. **Human Papillomaviruses as Infectious Agents in Gynecological Cancers—Oncogenic Properties of Viral Proteins.** Int. J. Mol. Sci. MDPI; 2022. [Cited in: 2022 Feb 3]. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms23031818>.
54. MUÑOZ, N.; BOSCH, F. X.; DE SANJOSÉ, S.; HERRERO, R.; CASTELLSAGUÉ, X.; SHAH, K. V.; SNIJDERS, P. J. F.; MEIJER, C. J. L. M. **Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer.** [Internet]. 2009 [Cited in: 2022 Mar 2]; 348:518–527. doi: 10.1056/NEJMoa021641. PMID: 12571259. Available from: <http://dx.doi.org/101056/NEJMoa021641>.
55. HORVATH, C. A.; BOULET, G. A.; RENOUX, V.M.; DELVENNE, P. O.; BOGERS, J. P. J. **Mechanisms of cell entry by human papillomaviruses: An overview.** Virol J [Internet]. 2010 [Cited in: 2022 Mar 4]; 7:1–7. doi: 10.1186/1743-422X-7-11. PMID: 20089191. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20089191/>.
56. DÜRST, M.; GISSMANN, L.; IKENBERG, H.; HAUSEN, H. Z. **A papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions.** Proc Natl Acad Sci. 1983;80. [Cited in: 2023 Jan 4]. Available from: <https://doi.org/10.1073/pnas.80.12.3812/>.
57. SENBA, M.; MORI, N. **Mechanisms of virus immune evasion lead to development from chronic inflammation to cancer formation associated with human papillomavirus infection.** Oncol. Rev. 2012. p. 135–144. doi: 10.4081/oncol.2012.e17. [Cited in: 2020 Mar 1]. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4419623/#:~:text=The%20viral%20immune%20evasion%20leads,associated%20molecular%20patterns%20\(PAMPs\)](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4419623/#:~:text=The%20viral%20immune%20evasion%20leads,associated%20molecular%20patterns%20(PAMPs)).
58. HELT, A-M.; FUNK, J. O.; GALLOWAY, D. A. **Inactivation of both the retinoblastoma tumor suppressor and p21 by the human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein is necessary to inhibit cell cycle arrest in human epithelial cells.** J Virol [Internet]. 2002 [Cited in: 2022 Mar 4]; 76:10559–10568. PMID: 12239337. Available from: <https://doi.org/10.1128/JVI.76.20.10559-10568.2002>.
59. BERNAT, A.; AVVAKUMOV, N.; MYMRYK, J.S.; BANKS, L. **Interaction between the HPV E7 oncoprotein and the transcriptional coactivator p300.**

Oncogene [Internet]. 2003 [Cited in: 2022 Mar 4]; 22:7871–7881.1206896. PMID: 12970734. Available from <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206896>.

60. HUANG, S-M.; MCCANCE, D. J. **Down regulation of the interleukin-8 promoter by human papillomavirus type 16 E6 and E7 through effects on CREB binding protein/p300 and P/CAF.** J Virol [Internet]. 2002 [Cited in: 2022 Mar 4]; 76:8710–8721. PMID: 12163591. Available from: <https://doi.org/10.1128/JVI.76.17.8710-8721.2002>.
  
61. AVVAKUMOV, N.; TORCHIA, J.; MYMRYK, J. S. **Interaction of the HPV E7 proteins with the pCAF acetyltransferase.** Oncogene [Internet]. 2003 [Cited in: 2022 Mar 4]; 22:3833–3841. PMID: 12813456. Available from: <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206562>.
  
62. GOULART, A. P. S.; GONÇALVES, M. A. G.; DA-SILVA, V. D. **Evaluation of Telomerase (hTert), Ki67 and p16ink4a expressions in low and high-grade cervical intraepithelial lesions.** Rev Col Bras Cir [Internet]. 2017. [Cited in: 2022 Jan 15]; 44:131–139. Available from: <https://doi.org/10.1590/0100-69912017002005>.
  
63. CARVALHO, K. P. A. **Estadiamento, genótipos de HPV e metilação do gene WIF1 em câncer do colo do útero: associações com o prognóstico e sobrevida.** 2016 [Cited in: 2022 Mar 20; 91 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical e Saúde Pública) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2016. Available from: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/6515>
  
64. STRIMBU, K.; TAVEL, J. A. **What are biomarkers?** Curr Opin HIV AIDS [Internet]. 2010 [Cited in: 2020 Mar 8]; 5:463–466. doi: 10.1097/COH.0b013e32833ed177. Available from: [https://journals.lww.com/co-hivandaids/Abstract/2010/11000/What\\_are\\_biomarkers\\_.3.aspx](https://journals.lww.com/co-hivandaids/Abstract/2010/11000/What_are_biomarkers_.3.aspx).
  
65. REUSCHENBACH, M.; WENTZENSEN, N.; DIJKSTRA, M. G.; DOEBERITZ, M. V.; ARBYN, M. **P<sup>16INK4A</sup> Immunohistochemistry in cervical biopsy specimens a systematic review and meta-analysis of the interobserver agreement.** Am J Clin Pathol. 2014; 142:767–772. [Cited in: 2020 Fev 24]. Available from: <https://doi.org/10.1309/AJCP3TPHV4TRIZEK>.
  
66. PIRTEA, L.; SECOSAN, C.; MARGAN, M.; MOLERIU, L.; BALINT, O.; GRIGORAS, D.; SAS, I.; HORHA, T. F.; JIANU, A.; ILINA, R. **p16/Ki-67 dual staining has a better accuracy than human papillomavirus (HPV) testing in women with abnormal cytology under 30 years old.** Bosn J Basic Med Sci. 2019; 19:336–341. [Cited in: 2023 Jan 23]. Available from: <https://doi.org/10.17305/bjbms.2018.3560>.

67. SINGH, S.; JOHNSON, J.; CHELLAPPAN, S. **Small molecule regulators of Rb–E2F pathway as modulators of transcription.** *Biochim Biophys Acta - Gene Regul Mech.* 2010; 1799:788–794. PMID: 20637913. [Cited in: 2022 Mar 20]. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2010.07.004>.
68. SHERR, C. J.; BEACH, D.; SHAPIRO, G. I. **Targeting CDK4 and CDK6: From discovery to therapy.** *Cancer Discov* [Internet]. 2016 [Cited in: 2022 Mar 20]; 6:353–367. Available from: <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-15-0894>.
69. BALASUBRAMANIAM, S. D.; BALAKRISHNAN, V.; OON, C. E.; KAUR, G. **Key Molecular Events in Cervical Cancer Development.** *Med* 2019, Vol 55, Page 384 [Internet]. 2019 [Cited in: 2022 Mar 20]; 55:384. PMID: 31319555. Available from: <https://doi.org/10.3390/medicina55070384>.
70. GONÇALVES, J. E. S.; ANDRADE, C. V.; RUSSOMANO, F. B.; NUOVO, G. J.; AMARO-FILHO, S. M.; CARVALHO, M. O.; NICOL, A. F. **The role of p16 as putative biomarker for cervical neoplasia: A controversial issue?** *Med Express.* 2017;4. [Cited in: 2022 Mar 01]. doi: 10.5935/MedicalExpress.2017.06.01. <http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/MedicalExpress.2017.06.01>.
71. MEDEIROS, F. S.; GOMES, F. O. S.; PAIVA, L. A.; SILVA, N. C. H.; SILVA, M. C.; RYGAARD, M. C. V.; PEIXOTO, C. A.; WELKOVIC, S.; MENEZES, M. L. B.; COKAN, A.; et al. **Hierarchical evaluation of histology and p16-labeling can improve the risk assessment on cervical intraepithelial neoplasia progression.** *Exp Mol Pathol.* 2022; 124:104734. PMID: 34914974. [Cited in: 2022 Mar 20]. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2021.104734>.
72. LORENZI, N. P. C. **Autocoleta cervicovaginal no rastreamento do câncer do colo do útero: aceitabilidade, detecção de Papilomavírus Humano de alto risco oncogênico e pesquisa de biomarcadores** [Internet]. [São Paulo]: Universidade de São Paulo; 2020 [Cited in: 2022 Feb 28]. Available from: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5139/tde-09012020-163231/>.
73. MUNGER, K.; GWIN, T. K.; MCLAUGHLIN-DRUBIN, M. **p16 in HPV-associated cancers** [Internet]. *Oncotarget.* 2013;1864–1865. [Cited in: 2022 Mar 4]. doi: 10.18632/oncotarget.1523. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24192550/>.
74. WENTZENSEN, N.; VON, M.; DOEBERITZ, K. **Biomarkers in cervical cancer screening.** *Dis Markers.* 2007; 23:315–330. [Cited in: 2022 Mar 01]. Available

from:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17627065/>.<https://doi.org/10.1155/2007/678793>.

75. ENDL, E.; GERDES, J. **The Ki-67 protein: Fascinating forms and an unknown function.** *Exp Cell Res.* 2000; 257:231–237. [Cited in: 2022 Mar 7]. PMID: 10837136. Available from: <https://doi.org/10.1006/excr.2000.4888>.
76. PIRI, R.; GHAFFARI, A.; GHOLAMI, N.; AZAMI-AGHDASH, S.; POURALI-AKBAR, Y.; SALEH, P.; NAGHAVI-BEHZAD, M. **Ki-67/MIB-1 as a Prognostic Marker in Cervical Cancer - a Systematic Review with Meta-Analysis.** *Asian Pacific J Cancer Prev [Internet].* 2015[Cited in: 2021 Nov 12]; 16:6997–7002. Available from: <https://doi.org/10.7314/APJCP.2015.16.16.6997>.
77. CAMBRUZZI, E.; ZETTLER, C. G.; ALEXANDRE, C. O. P. **Expression of Ki-67 and squamous intraepithelial lesions are related with HPV in endocervical adenocarcinoma.** *Pathol Oncol Res.* 2005; 11:114–120. doi: 10.1007/BF02893378. [Cited in: 2022 Mar 4]. PMID: 15999157. Available from: <https://doi.org/10.1007/BF02893378>.
78. GOTHWAL, M.; NALWA, A.; SINGH, P.; YADAV, G.; BHATI, M.; SAMRIYA, N. **Role of Cervical Cancer Biomarkers p16 and Ki67 in Abnormal Cervical Cytological Smear.** *J Obstet Gynecol India [Internet].* 2021 [Cited in: 2022 Mar 4]; 71:72–77. Available from: <https://doi.org/10.1007/s13224-020-01380-y>.
79. NUOVO, G. J.; ANDRADE, C. V.; WELLS, S. I.; BRUSADELLI, M.; NICOL, A. F. **New biomarkers of human papillomavirus infection in acute cervical intraepithelial neoplasia.** *Ann Diagn Pathol.* 2018; 36:21–27. PMID: 29966832. [Cited in: 2022 Mar 04]. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2018.06.008>.
80. LONG, N. P.; JUNG, K. H.; YOON, S. J.; ANH, N. H.; NGHI, T. D.; KANG, Y. P.; YAN, H. H.; MIN, J. E.; HONG, S-S.; KWON, S. W. **Systematic assessment of cervical cancer initiation and progression uncovers genetic panels for deep learning-based early diagnosis and proposes novel diagnostic and prognostic biomarkers.** *Oncotarget.* 2017; 8:109436–109456. [Cited in: 2022 Feb 10]. Available from: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.22689>.
81. SCHMIDT, D.; BERGERON, C.; DENTON, K. J.; RIDDER, R. **p16/ki-67 dual-stain cytology in the triage of ASCUS and LSIL Papanicolaou cytology.** *Cancer Cytopathol [Internet].* 2011 [Cited in: 2022 Feb 28]; 119:158–166. PMID: 21442767. Available from: <https://doi.org/10.1002/cncy.20140>.

82. BYUN, S. W.; LEE, A.; KIM, S.; CHOI, Y. J.; LEE, Y. S.; PARK, J. S. **Immunostaining of p16 INK4a /Ki-67 and L1 Capsid Protein on Liquid-based Cytology Specimens Obtained from ASC-H and LSIL-H Cases.** *Int J Med Sci* [Internet]. 2013 [Cited in: 2022 Mar 4]; 10:1602–1607. PMID: 24151431. Available from: <https://doi.org/10.7150/ijms.6526>.
83. EDGERTON, N.; COHEN, C.; SIDDIQUI, M. T. **Evaluation of CINtec PLUS® testing as an adjunctive test in ASC-US diagnosed SurePath® preparations.** *Diagn Cytopathol* [Internet]. 2013 [Cited in: 2022 Mar 4]; 41:35–40. PMID: 21710645. Available from: <https://doi.org/10.1002/dc.21757>.
84. WENTZENSEN, N.; FETTERMAN, B.; TOKUGAWA, D.; SCHIFFMAN, M.; CASTLE, P.E.; WOOD, S. N.; STIEMERLING, E.; POITRAS, N.; LOREY, T.; KINNEY, W. **Interobserver reproducibility and accuracy of p16/Ki-67 dual-stain cytology in cervical cancer screening.** *Cancer Cytopathol* [Internet]. 2014 [Cited in: 2022 Mar 4]; 122:914–920. PMID: 25132656. Available from: <https://doi.org/10.1002/cncy.21473>.
85. STANCZUK, G. A.; BAXTER, G.J.; CURRIE, H.; FORSON, W.; LAWRENCE, J. R.; CUSCHIERI, K.; WILSON, A.; PATTERSON, L.; GOVAN, L.; BLACK, J.; et al. **Defining optimal triage strategies for hrHPV screen-positive women - An evaluation of HPV 16/18 genotyping, cytology, and p16/Ki-67 cytoimmunochemistry.** *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2017; 26:1629–1635. [Cited in: 2020 Fev 24]. Available from: <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-17-0534>.
86. FERREIRA, A. L. **O Significado da Expressão de P16<sup>INK4A</sup> E Ki-67 em Biópsia de Neoplasia Intraepitelial Cervical de Grau II.** 2018 [Cited in: 2022 Feb 12]. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueiredo, Rio de Janeiro – RJ, 2018. Available from: [https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/handle/icict/34707/amanda\\_ferreira\\_iff\\_mest\\_2018.pdf;jsessionid=A3DACA8BED177440871B849671C118E7?sequence=2](https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/handle/icict/34707/amanda_ferreira_iff_mest_2018.pdf;jsessionid=A3DACA8BED177440871B849671C118E7?sequence=2).
87. NUOVO, G.; SCHWARTZ, Z.; MAGRO, C. **A comparison of the detection of biomarkers in infections due to low risk versus high-risk human papillomavirus types.** *Ann Diagn Pathol* [Internet]. 2019 [Cited in: 2022 Mar 4]; 41:57–61. PMID: 31132653. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2019.05.010>.
88. CLARO, I. B.; LIMA, L. D.; ALMEIDA, P. F. **Cervical cancer guidelines, prevention and screening strategies: Experiences from Brazil and Chile.** *Cienc e Saude Coletiva* [Internet]. 2021 [Cited in: 2022 Mar 4]; 26:4497–4509. PMID: 34730638. Available from: <https://doi.org/10.1590/1413-812320212610.11352021>

89. FONSECA, R. M. G. S. **Mulher, direito e saúde: repensando o nexos coesivo.** Saúde e Soc [Internet]. 1999; 8:3–32. [Cited in: 2022 Mar 08]. Available from: <https://doi.org/10.1590/S0104-12901999000200002>.
90. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO guideline for screening and treatment of cervical pre-cancer lesions for cervical cancer prevention** [Internet]. [Cited in: 2022 Jan 18]. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240030824>.
91. BRASIL, Ministério da Saúde, Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva, Coordenação Geral de Prevenção e Vigilância Rede De Divisão de Detecção Precoce e Apoio à Organização. **Ficha técnica de indicadores das ações de controle do câncer do colo do útero.** 2014;14. [Cited in: 2022 Jan 15]. Available from: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/fichatecnicaindicadorescolo14.pdf>.
92. BRASIL, Ministério da Saúde. **Política Nacional de Atenção Integral à Saúde da Mulher: princípios e diretrizes** [Internet]. Brasília; 2014. [Cited in: 2022 Mar 6]. Available from: [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica\\_nac\\_atencao\\_mulher.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_nac_atencao_mulher.pdf).
93. BRASIL, Ministério da Saúde. **Caderno de Atenção básica - Rastreamento** [Internet]. Bibl. Virtual em Saúde do Ministério da Saúde. 2010. [Cited in: 2022 Feb 22]. Available from: [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/caderno\\_atencao\\_primaria\\_29\\_rastreamento.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/caderno_atencao_primaria_29_rastreamento.pdf).
94. GALVÃO, J. D.; CAMPOS, F.; RUSSOMANO, F. **Loss to follow-up of women with initial cervical cytology of ASC-US/LSIL in Tocantins, Brazil.** Res Soc Dev [Internet]. 2021 [Cited in: 2022 Jan 18]; 10: e27910615660. Available from: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i6.15660>.
95. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde - Departamento de Gestão e Incorporação de Tecnologias em Saúde. **Portaria Nº 63, de 12 de dezembro De 2019.** [Cited in: 2022 Feb 29]. Available from: <https://brasilsus.com.br/wp-content/uploads/2019/12/portaria63.pdf>.

96. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos em Saúde. [Internet]. **Citologia em meio líquido para rastreamento de câncer de colo de útero e lesões precursoras – Relatório de Recomendação, 2019**; 1–53. [Cited in: 2022 Feb 28]. Available from: <https://fi-admin.bvsalud.org/document/view/wck46>
97. KILLEEN, J. L.; DYE, T.; GRACE, C.; HIRAOKA, M. **Improved abnormal Pap smear triage using cervical cancer biomarkers**. *J Low Genit Tract Dis*. 2014; 18:1–7. [Cited in: 2022 Mar 01]. doi: 10.1097/lgt.0b013e31828aeb39. PMID: 23760145. Available from: [https://journals.lww.com/jlgt/Abstract/2014/01000/Improved\\_Abnormal\\_Pap\\_Smear\\_Triage\\_Using\\_Cervical.1.aspx](https://journals.lww.com/jlgt/Abstract/2014/01000/Improved_Abnormal_Pap_Smear_Triage_Using_Cervical.1.aspx).
98. JACOBS, M. V.; HUSMAN, A. M. R.; VAN DEN BRULE, A. J.; SNIJDERS, P. J.; MEIJER, C. J. L. M.; WALBOOMERS JMM. **Group-specific differentiation between high- and low-risk human papillomavirus genotypes by general primer-mediated PCR and two cocktails of oligonucleotide probes**. *J Clin Microbiol*. 1995; 33:901–905. [Cited in: in: 2022 feb 15]. PMID: 7790457. Available from: <https://doi.org/10.1128/jcm.33.4.901-905.1995>.
99. FLETCHER, R. H.; FLETCHER, S.; W., FLETCHER, G. S. **Epidemiologia Clínica: Elementos essenciais**. 5. ed. Porto Alegre: Artes Médicas; 2014.
100. RUBINSTEIN, M. L.; KRAFT, C. S.; PARROTT, J. S. **Determining qualitative effect size ratings using a likelihood ratio scatter matrix in diagnostic test accuracy systematic reviews**. *Diagnosis* [Internet]. 2018 [Cited in: 2022 Mar 10]; 5:205–214. PMID: 30243015. Available from: <https://doi.org/10.1515/dx-2018-0061>.
101. CAETANO, R.; CAETANO, C. M. M. **Custo-efetividade no rastreamento do câncer cérvico-uterino no Brasil: Um Estudo Exploratório**. 2005. [Cited in: 2022 Mar 20] Available from: <https://doi.org/10.1590/S0103-73312006000100007>
102. FAHS, M. C.; PLICHTA, S. B.; MANDELBLATT, J. S. **Cost-effective policies for cervical cancer screening: An international review** [Internet]. *Pharmacoeconomics*. Springer International Publishing; 1996 [Cited in: 2022 Mar 20]. p. 211–230. Available from: <https://doi.org/10.2165/00019053-199609030-00004>.
103. FREGA, A.; PAVONE, M.; SESTI, F.; LEONE, C.; BIANCHI, P.; COZZA, G.; COLOMBRINO, C.; LUKIC, A.; MARZIANI, R.; SANCTIS, L. D. E.; et al. **Sensitivity and specificity values of high-risk HPV DNA, p16/ki-67 and HPV mRNA in young women with atypical squamous cells of undetermined significance (ASCUS) or low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL)**. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2019; 23:10672–10677. doi: 10.26355/eurrev\_201912\_19765. [Cited

in: 2022 Feb 22. PMID: 31858534. Available from:  
<https://www.europeanreview.org/article/19765>.

104. GINSBURG, O.; BRAY, F.; COLEMAN, M. P.; VANDERPUYE, V.; ENIU, A.; KOTHA, S. R.; SARKER, M.; HUONG, T. T.; ALLEMANI, C.; DVALADZE, A.; et al. **The global burden of women's cancers: a grand challenge in global health.** *Lancet* [Internet]. 2017 [Cited in: 2020 May 28]; 389:847–860. Available from:  
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31392-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31392-7).

105. FONSECA, A. J.; MURARI, R. S. W.; MORAES, I. S.; ROCHA, R. F.; FERREIRA, L. C. L. **Acurácia dos exames citológicos cervicovaginais em Estado de elevada incidência de câncer de colo de útero - Validity of cervicovaginal cytology in a Brazilian State with high incidence rate of cervical cancer.** *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* 36 (8). [Internet] 2014. [Cited in: 2020 Feb 10]. Available from:  
<https://doi.org/10.1590/S0100-720320140005061>.

106. MCCRORY, D. C.; MATCHAR, D. B.; BASTIAN, L.; DATTA, S.; HASSELBLAD, V.; HICKEY, J.; MYERS, E.; NANDA, K. **Evaluation of cervical cytology.** *Evid Rep Technol Assess (Summ)* [Internet]. 1999 [Cited in: 2022 Mar 27];1–6. PMID: 11925972. Available from:  
<http://europepmc.org/article/NBK/NBK32961>.

107. FAHEY, M. T.; IRWIG, L.; MACASKILL, P. **Meta-analysis of pap test accuracy.** *Am J Epidemiol.* 1995 [Cited in: 2022 Mar 27]; 142:680–689. PMID: 7702044. Available from: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a117485>.

108. TOBIAS AHG, AMARAL RG, DINIZ EM, CARNEIRO CM. **Indicadores de qualidade dos exames citopatológicos da rede pública em Minas Gerais, Brasil.** *Rev Bras Ginecol e Obstet.* 2016 [Cited in: 2022 Mar 28]; 38:65–70. doi: 10.1055/S-0035-1571175. PMID: 26883863. Available from: <https://www.thieme-connect.de/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0035-1571175>.

109. PELLIZZARO, M. **Importância e viabilidade de citologia em meio líquido para rastreamento e diagnóstico de Câncer de Colo Uterino no Sistema Único de Saúde.** 2015 [Cited in: 2020 Feb 07]. Available from:  
[https://www2.camara.leg.br/atividade-legislativa/comissoes/comissoes-permanentes/cssf/apresentacoes-em-eventos/eventos-2015/CancerColo\\_Uterino\\_MarceloPellizzaro.pdf](https://www2.camara.leg.br/atividade-legislativa/comissoes/comissoes-permanentes/cssf/apresentacoes-em-eventos/eventos-2015/CancerColo_Uterino_MarceloPellizzaro.pdf).

110. DENTON, K. J.; BERGERON, C.; KLEMENT, P.; TRUNK, M.; KELLER, T.; RIDDER, R., ET al. **The Sensitivity and Specificity of p16INK4a Cytology vs HPV Testing for Detecting High-Grade Cervical Disease in the Triage of ASC-US and LSIL Pap Cytology Results.** *Am J Clin Pathol* [Internet]. 2010 [Cited in: 2022 Apr 2];

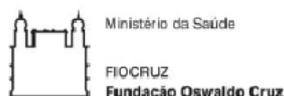
134:12–21. PMID: 20551261. Available from:  
<https://doi.org/10.1309/AJCP3CD9YKYFJDQL>.

111. SECOSAN, C.; PASQUINI, A.; ZAHOI, D.; MOTOC, A.; LUNGEANU, D.; BALINT, O.; ILIAN, A.; BALULESCU, L.; GRIGORAS, D.; PIRTEA, L. **Role of Dual-Staining p16/Ki-67 in the Management of Patients under 30 Years with ASC-US/L-SIL.** *Diagnostics* [Internet]. 2022 [Cited in: 2023 Jan 22]; 12:403. Available from: <https://doi.org/10.3390/diagnostics12020403>.

112. YU, L.; CHEN, X.; LIU, X.; FEI, L.; MA, H.; TIAN, T.; WANG, L. **Significance of Triple Detection of p16/ki-67 Dual-Staining, Liquid-Based Cytology and HR HPV Testing in Screening of Cervical Cancer: A Retrospective Study.** 2022 [Cited in: 2023 Jan 22];12:1–10. Available from: <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.915418>.

## APÊNDICES

## APÊNDICE I



Prezada Senhora,

Estamos lhe convidando para participar do estudo intitulado “**EFETIVIDADE DA MARCAÇÃO COMBINADA DE p16 E Ki67 NA REFERÊNCIA DE MULHERES COM CITOLOGIA ASC-US OU LSIL PARA COLPOSCOPIA**”, por ter tido um resultado de preventivo com “células escamosas atípicas de significado indeterminado” (ASC-US) ou com “lesão intraepitelial escamosa de baixo grau” (LSIL). Pretende-se com a realização desta pesquisa avaliar quais são os melhores métodos para definir a necessidade do encaminhamento para a colposcopia, para o diagnóstico de lesões pré-malignas ou o câncer do colo do útero de forma mais precoce.

O convite é para que seja realizado seu atendimento no Serviço de Referência para o Colo (SRC) situado no município de Palmas: (AMAS ou HGP-Ambulatório de Especialidades), Porto Nacional (ASPEL) ou no Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira, da Fundação Oswaldo Cruz (IFF/Fiocruz), onde a Sra. será examinada, será feita a coleta de uma nova amostra para o preventivo e a colposcopia. Após um desses resultados, você deveria realizar um novo preventivo após 6 ou 12 meses e a colposcopia seria feita caso tivesse um novo preventivo com o mesmo resultado que o anterior ou mais grave. Nesse estudo, você será logo encaminhada para colposcopia para que possamos fazer o seu diagnóstico.

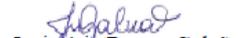
Estes procedimentos são indolores e rápidos (não levará mais do que 10 minutos). Se forem encontradas alterações, poderá ser necessária uma biópsia, ou seja, a retirada de um pequeno pedacinho da área da doença para exame em laboratório. Isso será feito sob anestesia local e também costuma ser indolor. A biópsia somente será realizada se houver necessidade para esclarecer seu caso e não por causa da pesquisa. Os resultados dos exames realizados na pesquisa serão encaminhados para o seu prontuário tão logo sejam concluídos.

Esta pesquisa faz parte de um Projeto de Doutorado e Edital 01/2018 de Pesquisa Aplicada ao SUS desenvolvido pela equipe atuante no Programa de Controle do Câncer do Colo do Útero. Toda a pesquisa é desenvolvida pela Secretaria Estadual de Saúde, em parceria com o IFF/Fiocruz e a Secretaria Municipal de Saúde de Palmas. O acompanhamento clínico e os testes laboratoriais serão realizados em instituições parceiras e com expertise para estes testes.

A sua participação nesta pesquisa é voluntária e você poderá abandonar ou retirar-se do estudo a qualquer momento, sem que isto cause qualquer prejuízo no tratamento ou seu acompanhamento nas unidades de saúde. O seu comparecimento e aceitação em participar da pesquisa será extremamente importante, pois os resultados dos seus exames, realizados nessa pesquisa, poderão ser utilizados pelo seu médico para definir seu acompanhamento e os resultados da pesquisa poderão nos ajudar a cuidar melhor de outras mulheres na rede pública de saúde.

Atenciosamente,

  
Fábio Russomano  
IFF/FIOCRUZ

  
Jucimária Dantas Galvão  
SES-TO/IFF/FIOCRUZ

## APÊNDICE II

### UNIDADES DE REFERÊNCIA PARA ATENDIMENTO:

- \*Ambulatório de Especialidades HGP: 201 Sul - Av. Ns1, Conj. 02, Lote 02 - Plano Diretor Sul, Palmas - TO
- \*Ambulatório de Atenção à Saúde (AMAS): 403 Sul Avenida LO 09 - Plano Diretor Sul, Palmas - TO
- \*Ambulatório ASPEL: R. Cel. Pinheiro, 1785 - Porto Nacional - TO

As datas para os atendimentos serão confirmadas mediante a regulação via SISREG pelo profissional na Unidade de Saúde.

Pesquisadores responsáveis:  
 Fábio Russomano (IFF/Fiocruz) e  
 Jucimária Dantas Galvão (SES-TO/IFF/Fiocruz)  
 e-mail:  
 fabio.russomano@iff.fiocruz.br  
 cito.pppsus@gmail.com

Projeto de Pesquisa aprovado pelo Comitê de Ética de Pesquisa  
 Envolvendo Seres Humanos do IFF/Fiocruz  
 (CAAE 98931018.6.0000.5269) e da Secretaria Municipal de Saúde do  
 Município do Rio de Janeiro  
 (CAAE 98931018.6.3002.5279)

Este projeto foi contemplado no Edital da FAPT 01/2018 - Programa de  
 Pesquisa para o SUS - FAPT/SES-TO/MS/CNPq

Design gráfico:  
 Fernanda Canalonga

PROGRAMA  
**PESQUISA PARA O SUS**  
 Gestão Compartilhada em Saúde - PPSUS



## Você recebeu um resultado de preventivo com ASC-US ou LSIL?



## Deseja participar de uma Pesquisa Aplicada ao SUS e esclarecer o seu diagnóstico?



Prezada,

Após um resultado de preventivo mostrando “células escamosas atípicas de significado indeterminado” (ASC-US) ou com “lesão intraepitelial escamosa de baixo grau” (LSIL), você deveria realizar um novo preventivo após 6 ou 12 meses e precisaria ser encaminhada para colposcopia caso tivesse um novo preventivo com o mesmo resultado que o anterior ou mais grave.

Estamos lhe convidando para participar de um estudo no qual poderá realizar exames complementares e a colposcopia imediatamente. O nome do estudo é **“EFETIVIDADE DA MARCAÇÃO COMBINADA DE p16 E Ki67 NA REFERÊNCIA DE MULHERES COM CITOLOGIA ASC-US OU LSIL PARA COLPOSCOPIA”**.

Nessa pesquisa pretendemos avaliar quais são os melhores métodos para definir a necessidade do encaminhamento para a colposcopia, para o diagnóstico de lesões pré-malignas ou o câncer do colo do útero de forma mais precoce.

Aceitando nosso convite você poderá ser encaminhada ao atendimento no Ambulatório ASPEL (Porto Nacional-TO), AMAS e Ambulatório de Especialidades do HGP (Palmas-TO), onde será examinada e feita a coleta de uma nova amostra para um novo preventivo, teste de DNA-HPV, Imunocitoquímica e a colposcopia.

Estes procedimentos são indolores e rápidos (não levarão mais do que 10 minutos). Se forem encontradas alterações, poderá ser necessária uma biópsia, ou seja, a retirada de um pequeno pedaço da área da doença para exame em laboratório. Isso será feito sob anestesia local e também costuma ser indolor. A biópsia somente será realizada se houver necessidade para esclarecer seu caso e não por causa da pesquisa.

Os resultados dos exames realizados na pesquisa serão encaminhados para o seu prontuário tão logo sejam concluídos. O acompanhamento clínico e os testes laboratoriais serão realizados no próprio Ambulatório ASPEL (Porto Nacional -TO), AMAS e Ambulatório de Especialidades do HGP (Palmas-TO) ou em instituições parceiras.

A sua participação nesta pesquisa é voluntária e você poderá abandonar ou retirar-se do estudo a qualquer momento, sem que isto cause qualquer prejuízo no tratamento ou seu acompanhamento nas unidades de saúde.

O seu comparecimento e aceitação em participar da pesquisa será extremamente importante, pois os resultados dos seus exames, realizados nessa pesquisa, poderão ser utilizados pelo seu médico para definir seu acompanhamento e os resultados da pesquisa poderão nos ajudar a cuidar melhor de outras mulheres na rede pública de saúde.

## APÊNDICE III

## FORMULÁRIO DE COLETA DE DADOS

SRC – HGP/TO <input type="checkbox"/>	SRC – AMAS/TO <input type="checkbox"/>	SRC – ASPEL/TO <input type="checkbox"/>	SRC – IFF/RJ <input type="checkbox"/> N° _____
CITOPATOLÓGICO PRÉVIO: <input type="checkbox"/> ASC-US <input type="checkbox"/> LSIL <input type="checkbox"/> OUTRO > NÃO INCLUIR			
PATOLOGIA CERVICAL PRÉVIA: <input type="checkbox"/> NÃO <input type="checkbox"/> SIM > NÃO INCLUIR			
ASSINOU O TCLE: <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO > NÃO INCLUIR DATA: ____/____/20____			
NOME:			
NÚMERO DO CARTÃO SUS:			
DATA DE NASCIMENTO: ____/____/____		TELEFONE: (____)_____-_____	
ENDEREÇO:		TELEFONE: (____)_____-_____	
		E-MAIL:	
CEP:		CIDADE/ESTADO:	
ESTADO CIVIL: SOLTEIRA <input type="checkbox"/> CASADA/UNIÃO ESTÁVEL <input type="checkbox"/> VIÚVA DIVORCIADA <input type="checkbox"/> IGNORADO <input type="checkbox"/>			
COR: <input type="checkbox"/> BRANCA <input type="checkbox"/> NEGRA <input type="checkbox"/> AMARELA <input type="checkbox"/> PARDA IGNORADO <input type="checkbox"/>			
ESCOLARIDADE: <input type="checkbox"/> ANALFABETA FUNDAMENTAL INCO <input type="checkbox"/> LETO <input type="checkbox"/> FUNDAMEN <input type="checkbox"/> L <input type="checkbox"/> ÉDIO INCOMPLETO <input type="checkbox"/> MÉDIO COMPLETO <input type="checkbox"/> SUPERIOR INCOMPLETO <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> SUPERIOR COMPLETO <input type="checkbox"/> PÓS GRADUAÇÃO			
GRAVIDEZ: <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO			
PARTO VAGINAL: CESARIANA:		ABORTO: <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO	
MENOPAUSA: <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO		IDADE MENOPAUSA:	
VIDA SEXUAL ATIVA: <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO		IDADE INÍCIO ATIV. SEXUAL:	
NÚMERO DE PARCEIROS SEXUAIS AO LONGO DA VIDA: <input type="checkbox"/> UM <input type="checkbox"/> DOIS TRÊS OU MAIS <input type="checkbox"/>			
ALGUMA QUEIXA GINECOLÓGICA: <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO			
HISTÓRIA PREGRESSA DE NEOPLASIA: <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO QUAL?			

HISTÓRIA DE CÂNCER NA FAMÍLIA: <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO	
LOCALIZAÇÃO DO TUMOR:	
<b>CITOPATOLÓGICO PRÉVIO</b>	
RESULTAD <input type="checkbox"/>	ASC-US <input type="checkbox"/> L-SIL
DATA DA COLETA:	DATA DO RESULTADO
SATISFATORIEDADE:	
EPITÉLIOS REPRESENTADOS:	
OBSERVAÇÕES:	
<b>COLPOSCOPIA INICIAL</b>	
ACHADOS: <input type="checkbox"/> NORMAIS <input type="checkbox"/> ANORMAIS MENORES <input type="checkbox"/> ANORMAIS MAIORES SUGESTIVO DE INVASÃO <input type="checkbox"/> MISCELÂN <input type="checkbox"/>	
TIPO DE ZONA DE TRANSFORMAÇÃO: <input type="checkbox"/> I - JEC COMPLETAMENTE VISÍVEL NA ECTOCÉRVICE; <input type="checkbox"/> II - JEC COMPLETAMENTE VISÍVEL NA ENDOCÉRVICE; <input type="checkbox"/> III - JEC INCOMPLETAMENTE VISÍVEL;	
HOUE NECESSIDADE DE BIÓPSIA: <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO	
CONCLUSÃO DIAGNÓSTICA NESSA ETAPA: <input type="checkbox"/> NEGATIVO/INFLAMATÓRIO; <input type="checkbox"/> NIC I <input type="checkbox"/> NIC II <input type="checkbox"/> NIC III <input type="checkbox"/> CÂNCER OUTRO: _____	
<b>HISTOPATOLÓGICO</b>	
DATA DA COLETA:	DATA DO RESULTADO:
ANÁLISE MACROCOSCÓPICA:	
RESULTADO: <input type="checkbox"/> NEGATIVO <input type="checkbox"/> POSITIVO: _____	
OBSERVAÇÕES:	
<b>COLPOSCOPIA DE SEGUIMENTO (6 MESES)</b>	
<b>INSPEÇÃO DO COLO DO ÚTERO</b>	
ACHADOS: <input type="checkbox"/> NORMAIS <input type="checkbox"/> ANORMAIS MENORES <input type="checkbox"/> ANORMAIS MAIORES <input type="checkbox"/> SUGESTIVO DE INVASÃO <input type="checkbox"/> MISCELÂNEA:	

TIPO DE ZONA DE TRANSFORMAÇÃO: <input type="checkbox"/> I - JEC COMPLETAMENTE VISÍVEL NA ECTOCÉRVICE: <input type="checkbox"/> II - JEC COMPLETAMENTE VISÍVEL NA ENDOCÉRVICE; <input type="checkbox"/> III - JEC INCOMPLETAMENTE VISÍVEL;
HOUVE NECESSIDADE DE BIÓPSIA: <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO
<b>COLPOSCOPIA SEGUIMENTO – 12 MESES</b>
<b>INSPEÇÃO DO COLO DO ÚTERO</b>
ACHADOS: <input type="checkbox"/> NORMAIS <input type="checkbox"/> ANORMAIS MENORES <input type="checkbox"/> ANORMAIS MAIORES <input type="checkbox"/> SUGESTIVO DE INVASÃO <input type="checkbox"/> MISCELÂNEA:
TIPO DE ZONA DE TRANSFORMAÇÃO: <input type="checkbox"/> I - JEC COMPLETAMENTE VISÍVEL NA ECTOCÉRVICE: <input type="checkbox"/> II - JEC COMPLETAMENTE VISÍVEL NA ENDOCÉRVICE; <input type="checkbox"/> III - JEC INCOMPLETAMENTE VISÍVEL;
HOUVE NECESSIDADE DE BIÓPSIA: <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO

## APÊNDICE IV

### INSTRUÇÕES SOBRE O KIT DE COLETA Cell Preserv®

O Kit Cell Preserv® para coleta de espécimes cérvicovaginais é composto por um frasco com a solução preservante CellPreserv®, escova cervical tipo pinheirinho com ponta revestida, espátula de Ayre plástica, envelope plástico contendo as instruções para a coleta.

Uma vez coletada, com emprego da escova cervical e espátula, as células são depositadas no frasco CellPreserv®. No passo seguinte, para o caso de exames citológicos, inicia-se a automação do método, pois o KLP 2000® homogeneiza o material, promove a separação dos debris habitualmente presentes nestas coleções e por fim deposita uma única camada celular na lâmina, para posterior coloração e análise.

O método CellPreserv® permite, com a mesma amostra, o diagnóstico citológico e de exames biomoleculares (DNA-HPV e Imunocitoquímico) que se aplicam a este estudo.

## APÊNDICE V

Descrição nominal dos colaboradores, as respectivas instituições e processo executado.

<b>Equipe</b>	<b>Colaborador</b>	<b>Formação</b>	<b>Instituição</b>	<b>Processo</b>
<b>Coordenadora</b>	Jucimária Dantas Galvão	Biomédica, MSc	LACEN/TO	Equipe de Coordenação e de Processamento: DNA-HPV e Imunocitoquímica
	Ingrid de Lima	Graduanda em Medicina	UFT	Apoio à Equipe de Coordenação
	Fábio Russomano	Ginecologista, PhD	IFF/Fiocruz	Equipe de Coordenação e de Clínica: SRC IFF/Fiocruz
	Pricilla Bonfim	Enfermeira, MSc	LACEN/TO	Equipe de Coordenação
	Rodrigo Carvalho Gomes	Graduando medicina	UFT	Apoio à equipe de Coordenação
<b>Clínica</b>	Ana Virgínia	Ginecologista	SRC ASPEL	Equipe de Clínica: SRC ASPEL
	Fábio Russomano	Ginecologista, PhD	IFF/Fiocruz	Equipe de Coordenação e de Clínica: SRC IFF/Fiocruz
	Jeoni Gomes dos Santos	Ginecologista	SRC AMAS	Equipe de Clínica: SRC ASPEL e AMAS
<b>Processamento das amostras</b>				
Citologia em Meio Líquido	Marco Antônio Zonta	Biomédico, PhD	Inside Technologies	Processamento e análise citopatológica
DNA-HPV	Amanda Leal	Biomédica, MSc	IFF/Fiocruz	Processamento e análise
	Jucimária Dantas Galvão	Biomédica, MSc	LACEN/TO	Processamento e análise
	Leonardo Gomes	Biólogo, PhD	IFF/Fiocruz	Processamento e análise
	Zilton Farias M. Vasconcelos	Biólogo, PhD	IFF/Fiocruz	Processamento e análise
Imunocitoquímica	Ângela Gomes	Bióloga	FMUSP	Processamento e análise

	Jucimária Dantas Galvão	Biomédica, MSc	LACEN/TO	Padronização e análise
	Regina Célia Teixeira	Bióloga, PhD	FMUSP	Processamento e análise

## APÊNDICE VI



### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

**TÍTULO DA PESQUISA: EFETIVIDADE DA MARCAÇÃO COMBINADA DE p16 E Ki67 NA REFERÊNCIA DE MULHERES COM CITOLOGIA ASC-US OU LSIL PARA COLPOSCOPIA**

PESQUISADOR RESPONSÁVEL EM /TOCANTINS: JUCIMÁRIA D. GALVÃO

Contato: (63) 3218-3501/98120-4444 – e-mail: lacen.citol@gmail.com

Instituição: Secretaria Estadual de Saúde/Laboratório Central de Saúde Pública do Tocantins

PESQUISADOR RESPONSÁVEL NO RIO DE JANEIRO: FÁBIO B. RUSSOMANO

Contato: (21) 2554-1727

Instituição: Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira – FIOCRUZ – Rio de Janeiro.

**PARTICIPANTE DA PESQUISA:** \_\_\_\_\_

**Nº Registro:** \_\_\_\_\_

Estamos convidando a Sra. para participar de um estudo que poderá ajudar a reconhecer quais mulheres precisam fazer o exame de colposcopia (exame que permite visualizar o colo do útero com um equipamento que funciona como uma lente de aumento e detecta Lesão de Alto Grau – HSIL), depois de terem um exame preventivo indicando uma lesão de baixo grau (LSIL) ou células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US).

A recomendação atual para as Unidades de Saúde é de que, após um desses resultados, a mulher faça um novo exame preventivo depois (06 e/ou 12 meses). Sabemos da dificuldade em realizar esse novo exame, pois muitas acabam não retornando à Unidade de Saúde. Com isso há o risco do retardo do diagnóstico, pois algumas dessas mulheres com esses resultados, podem já ter uma lesão mais importante (Lesão de Alto Grau - HSIL) e, se esse diagnóstico não for feito, a lesão poderá progredir sem produzir sintomas.

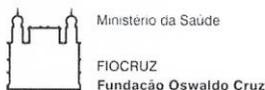
Neste estudo propomos realizar, além do novo exame preventivo, outros dois testes em laboratório para verificar 1) se há a presença do vírus relacionado ao Câncer do Colo do Útero que é o HPV (Papilomavírus Humano) e 2) teste que detecta substâncias (biomarcadores p16 e Ki-67) que são produzidas pelo HPV quando a doença esta evoluindo. A depender desses resultados, é que pretende-se identificar as mulheres que deverão ser encaminhadas para um exame de colposcopia (exame que verifica se existe uma lesão de alto grau). Caso essas substâncias não sejam encontradas, não haverá a necessidade de encaminhá-las para essa avaliação.

A Sra., aceitando participar desta pesquisa, será encaminhada para atendimento no Serviço de Referência do Colo (SRC) localizado no ( ) Ambulatório de Especialidades Médicas do Hospital Geral Público de Palmas (\*para as mulheres de Tocantins), ou ( ) no Ambulatório de Ginecologia do Instituto Fernandes Figueiras (\*\*para as mulheres do Rio de Janeiro), para a avaliação por um médico especialista.

No serviço para onde foi encaminhada, você realizará um novo preventivo (para comparação com o resultado do primeiro) e outros dois exames que confirmaram se o HPV e/ou aquelas substâncias (biomarcadores p-16 e Ki-67) estão presentes.

  
 INSTITUTO FERNANDES FIGUEIRA - FIOCRUZ  
 Coordenação de Controle de Qualidade e Avaliação de Serviços em Saúde Humana

INÍCIO 18/07/18  
 FIM 30/08/18  
 APROVADO em Pesquisa com Seres Humanos  
 INSTITUTO FERNANDES FIGUEIRA - FIOCRUZ  
 Tel./Fax. 2554-1730  
 E-mail: cap@iff.fiocruz.br



Depois de colher o preventivo, o médico ginecologista fará o exame de colposcopia, em que ele examina o seu colo do útero com uma lente de aumento e aplica uns líquidos que mostram se há uma lesão no colo do útero. Se não houver nenhuma lesão, o exame acaba e você ficará em acompanhamento. Caso seja identificada alguma lesão, o médico irá fazer uma pequena biópsia (retirar um pedacinho do colo de no máximo 05 mm), depois de fazer uma anestesia local. Você não sentirá dor ou, no máximo, uma discreta cólica como na menstruação. Depois da realização deste exame não costuma ficar dolorido, mas, para que a cicatrização ocorra sem problemas, você deverá evitar manter relação sexual pelo período de uma semana. Também poderá acontecer de sair um corrimento aguado, rosado ou tipo “borra de café”, ou mesmo um pequeno sangramento que pára em alguns dias, mas, caso esteja preocupada ou não pare em alguns dias, procure-nos diretamente.

Caso o resultado da biópsia mostre uma lesão de alto grau, você poderá fazer seu tratamento no próprio serviço para onde foi encaminhada, ganhando tempo e não perdendo a oportunidade de prevenir o câncer. Caso o resultado mostre uma lesão de baixo grau, saiba que esta lesão normalmente melhora (regride) com o tempo, e você ficará apenas em acompanhamento. Nos raros casos em que seja detectado câncer (lembre-se que seu preventivo não mencionava essa possibilidade), você se beneficiará de um diagnóstico mais rápido e poderá ser logo encaminhada para o tratamento especializado.

Esse estudo não lhe traz riscos além daqueles que você correria normalmente, pois a colposcopia e a biópsia (se necessário) seriam feitos da mesma maneira caso você não desejasse participar desse estudo, pois estas são as recomendações atuais para os médicos na prevenção do câncer do colo do útero no Brasil. Asseguramos que os médicos responsáveis pelo seu atendimento são muito experientes e seguem essas recomendações, definidas para possibilitar o diagnóstico e tratamento das lesões, que vem antes do câncer, com o menor desconforto e risco para você. A única coisa que não seria feita seria a coleta do novo preventivo e caso não desejasse participar, nada mudaria no seu atendimento.

Outra coisa que não aconteceria seria o encaminhamento para colposcopia caso você preferisse repetir seu preventivo em, no mínimo seis meses após o primeiro, mas, participando desse estudo, você tem a possibilidade de adiantar o diagnóstico e não correr o risco de não fazer o segundo exame devido a outras dificuldades.

Os resultados de todos esses exames estarão disponíveis no seu prontuário logo que realizados e poderão lhe ser fornecidos.

Não deixe de comparecer às consultas agendadas, sendo necessário o reagendamento caso haja algum impedimento. Orientamos, nesse caso, que ligue para o serviço para o qual foi encaminhada para agendar uma nova data (veja os telefones acima).

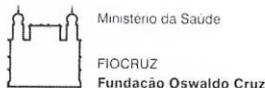
Permaneceremos à sua disposição para fornecer todas as informações e esclarecimentos que ainda deseje sobre o estudo e a qualquer momento, antes, durante ou depois da sua participação. Também é garantido a você, caso seja da sua vontade, abandonar ou retirar-se do estudo a qualquer momento, sem que isto cause qualquer prejuízo no tratamento ou acompanhamento. Caso deseje informações ou deixar de participar do estudo, pedimos que faça contato com um dos pesquisadores mencionados acima.

Informações adicionais:

O material do seu novo preventivo será examinado em São Paulo, no Rio de Janeiro e em Palmas (Tocantins). Com isso, existe o risco de extravio ou o material pode se estragar e não servir para algum diagnóstico. Para evitar esse risco, os profissionais colaboradores foram

*[Handwritten signature]*  
 Instituto Nacional Fernandes Figueira - FIOCRUZ

APROVADO VALIDADE  
 INÍCIO 23/03/18 FIM 26/03/18  
 Nº de Ética em Pesquisa com Seres Humanos  
 INSTITUTO FERNANDES FIGUEIRA- FIOCRUZ  
 Telefones 2524-1190 / Tel./Fax. 2552-8491  
 E-mail: cap@gen.fiocruz.br



instruídos sobre a utilização do kit de coleta, o manejo do material, sua guarda e o envio aos laboratórios.

Caso aconteça o extravio ou o material estrague, você poderá ser convidada a uma nova coleta e poderá comparecer apenas se desejar.

**Sua privacidade e identidade serão sempre preservadas sob sigilo.**

Você receberá uma via idêntica deste documento assinada por um dos pesquisadores do estudo. A sua participação nesta pesquisa é voluntária, não prevendo restituição de despesas de deslocamento e/ou outra para o (s) seu (s) atendimento (s) no serviço para onde foi encaminhada. Do mesmo modo não haverá qualquer cobrança pelos testes que serão realizados no estudo.

Conforme a Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde (CNS), resguardamos a sua autonomia em requerer indenização diante de eventuais danos decorrentes da participação na pesquisa.

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira (IFF/Fiocruz) e a Secretaria Estadual de Saúde - SES/TO encontram-se à disposição para eventuais esclarecimentos éticos e outras providências que se façam necessárias:

IFF/Fiocruz: e-mail: cepiff@iff.fiocruz.br; Telefone: (21) 2554-1730; Fax: (21) 2552-8491

Núcleo de Pesquisa/ETSUS/SES: e-mail: pesquisa@etsus.to.gov.br; Telefone: (63) 3218-1795.

**Autorizações e Assinaturas:**

Eu, \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ autorizo, voluntariamente, a minha participação nesta pesquisa.

Declaro que li e entendi todo o conteúdo deste documento.

Assinatura \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_ Telefone \_\_\_\_\_

Testemunha (Caso necessário):

Nome \_\_\_\_\_

Documento \_\_\_\_\_

Endereço/telefone \_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_

Investigador:

Nome \_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_

**Somente assine este documento se consentir integralmente com os termos deste.**

*[Handwritten signature]*  
 Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa Sem Seres Humanos  
 INSTITUTO FERNANDES FIGUEIRA - FIOCRUZ

APROVADO VALIDADE  
 Nº de  
 de Ética em Pesquisa  
 INSTITUTO FERNANDES FIGUEIRA - FIOCRUZ  
 Telefones 2554-1730 / Tel./Fax. 2552-8491  
 E-mail cepiff@iff.fiocruz.br

**ANEXOS**

## ANEXO I


**FAPT**  
FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DO TOCANTINS
**TOCANTINS**  
GOVERNO DO ESTADO

 Praça dos Girassóis, Esplanada das Secretarias. S/N  
 Palmas – Tocantins – CEP: 77.001-020  
 Tel: +55 63 3218-1026  
 www.fapt.to.gov.br

**TERMO DE OUTORGA E ACEITAÇÃO DE AUXÍLIO FINANCEIRO Nº 07/2019  
 EM CONFORMIDADE COM O EDITAL FAPT Nº 01/2018**
**CONCEDENTE:**

<b>NOME:</b> ESTADO DO TOCANTINS por intermédio da FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO TOCANTINS.	
<b>NATUREZA JURÍDICA:</b> pessoa jurídica de direito público	<b>CNPJ/MF:</b> 13.664.245/0001-65
<b>ENDEREÇO:</b> Esplanada das Secretarias, Praça dos Girassóis, AANE – Prédio III, CEP: 77.001-002 - Palmas/TO	
<b>PRESIDENTE:</b> Márcio Antônio da Silveira	

**BENEFICIÁRIO:**

<b>NOME:</b> JUCIMÁRIA DANTAS GALVÃO			
<b>CPF/MF:</b> 891.249.951-34		<b>RG:</b> 338.536 SSP-TO.	
<b>NACIONALIDADE:</b> GURUPI	<b>ESTADO CIVIL:</b> CASADA	<b>PROFISSÃO:</b> BIOMÉDICA	
<b>ENDEREÇO RESIDENCIAL:</b> ALAMEDA JACARANDÁ QD 09 LOTE 05, CONDOMÍNIO MIRANTE DO LAGO			
<b>CIDADE:</b> PALMAS	<b>ESTADO:</b> TOCANTINS	<b>UF:</b> TO	
<b>TELEFONE 1:</b> 3218-3501	<b>FAX:</b>	<b>E-MAIL:</b> jucydg@uft.edu.br	
<b>TELEFONE 2:</b> 98120-4444			

**INSTITUIÇÃO DE EXECUÇÃO:**

<b>NOME DA INSTITUIÇÃO:</b> SECRETARIA ESTADUAL DE SAÚDE			
<b>ENDEREÇO:</b> ESPLANADA DAS SECRETARIAS, PRAÇA DOS GIRASSÓIS, CENTRO- EDIFÍCIO SEDE DA SESAU, 1º ANDAR SALA 081, CEP: 70015-007		<b>CNPJ:</b> 25.053.117/0024-50	
<b>CIDADE:</b> PALMAS	<b>ESTADO:</b> TO	<b>CEP:</b> 77.015-007	<b>PAIS:</b> BRASIL
<b>TELEFONE:</b> (63) 3218-1700	<b>FAX:</b>	<b>E-MAIL:</b> gabinete@saude.to.gov.br	
<b>NOME DO REPRESENTANTE LEGAL:</b> LUIZ EDGAR LEÃO TOLINI			
<b>CPF/MF:</b> 302.795.341-91		<b>RG:</b> 1.221.698 SSP/GO 2º VIA EXPEDIDA PELA SSP/GO	
<b>NACIONALIDADE:</b> BRASILEIRO	<b>ESTADO CIVIL:</b> CASADO	<b>CARGO/ATO DE NOMEAÇÃO:</b> DO N.5.361 DE 21/05/2019/ ATO NO 1.478-NM.	



**FAPT**  
FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE TOCANTINS

**TOCANTINS**  
GOVERNO DO ESTADO



Praça dos Girassóis, Esplanada das Secretarias. S/N  
Palmas – Tocantins – CEP: 77.001-020  
Tel: +55 63 3218-1026  
www.fapt.to.gov.br

<b>ENDEREÇO:</b> 204 SUL AL 08 APT 1002 CEP: 77020.482		
<b>CIDADE:</b> PALMAS	<b>ESTADO:</b> TOCANTINS	<b>UF:</b> TO
<b>TELEFONES:</b> (63) 3218-1730	<b>FAX:</b>	<b>E-MAIL:</b> gabinete@saude.to.gov.br

#### CLÁUSULA PRIMEIRA - DO OBJETO

O presente instrumento tem por objeto a concessão de apoio financeiro para execução de projeto de pesquisa científica e/ou tecnológica em obediência ao resultado final do processo seletivo regido pelo Edital FAPT Nº 01/2018 – **Programa de Pesquisa para o SUS - PPSUS**.

#### CLÁUSULA SEGUNDA - IDENTIFICAÇÃO DO PROJETO

**TÍTULO DO PROJETO:** EFETIVIDADE DA MARCAÇÃO COMBINADA DE P16 E KI67 NA REFERÊNCIA DE MULHERES COM CITOLOGIA ASC-US OU LSIL PARA COLPOSCOPIA

#### CLÁUSULA TERCEIRA - DO VALOR GLOBAL DA CONCESSÃO

**VALOR DE CUSTEIO:** R\$ 16.466,50  
**VALOR DE CAPITAL:** R\$ 7.480,00  
**BOLSA:** R\$ 6.000,00  
**VALOR TOTAL:** R\$ 29.946,50

#### CLÁUSULA QUARTA - DAS OBRIGAÇÕES

##### I - CONCEDENTE:

- Efetuar a transferência dos recursos financeiros para a conta do pesquisador;
- Acompanhar e fiscalizar a execução do projeto, avaliando os seus resultados, podendo contar para isso, com o apoio técnico da Instituição Executora;
- Analisar os relatórios técnicos e as prestações de contas fornecidos pelo **BENEFICIÁRIO**, em conformidade com as normas, emitindo ou não aprovação, e inclusive requerendo diligências, quando for o caso;
- Analisar, aprovar ou não, previamente, as propostas de reformulação do PLANO DE TRABALHO, acompanhadas de justificativas e desde que não impliquem mudança do objeto;
- Exercer o controle e fiscalização sobre a execução do presente Termo.

##### II - BENEFICIÁRIO:

- Promover a execução do objeto ora firmado no prazo de 24 (vinte e quatro meses) a contar da data da liberação da 1ª parcela dos recursos e na forma estabelecida no Plano de Trabalho;
- Solicitar, se necessário, a prorrogação do período de execução no prazo mínimo de 30 (trinta) dias antes do término da vigência estabelecida no presente termo, observado o prazo de vigência do convênio;
- Utilizar os recursos financeiros exclusivamente para o desenvolvimento do projeto de pesquisa e dentro do período previsto;



**FAPT**  
FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE TOCANTINS

**TOCANTINS**  
GOVERNO DO ESTADO



Praça dos Girassóis, Esplanada das Secretarias. S/N  
Palmas – Tocantins – CEP: 77.001-020  
Tel: +55 63 3218-1026  
www.fapt.to.gov.br

d) **Movimentar os recursos destinados para o projeto de acordo com as exigências contidas no Manual de Prestação de Contas, o qual está disponível no link [www.fapt.to.gov.br](http://www.fapt.to.gov.br) ;**

- e) Permitir e facilitar a **CONCEDENTE** o acesso a toda documentação, dependências e locais de execução do projeto;
- f) Fornecer qualquer informação solicitada pela **CONCEDENTE**;
- g) Comunicar previamente a **CONCEDENTE** sobre qualquer alteração relativa à execução do projeto, inclusive quando ocorrer a desvinculação da IES, acompanhada da devida justificativa que será submetida à análise e autorização da FAPT;
- h) Apresentar, juntamente com a prestação de contas parcial, o relatório técnico parcial das atividades desenvolvidas, e o relatório final, ambos em meio físico e eletrônico, em conformidade com o Manual de Prestação de Contas;
- i) Atuar como consultor *ad hoc* sempre que lhe for solicitado pela FAPT, observada a área de formação e atuação do **BENEFICIÁRIO** e o projeto apoiado;
- j) Participar, como palestrante, debatedor ou convidado, de palestras e eventos promovidos pela **CONCEDENTE**, observada a área de formação e atuação do **BENEFICIÁRIO** e o projeto apoiado;
- k) Comunicar a **CONCEDENTE** qualquer mudança de endereço, telefone, e-mail e desvinculação funcional da Instituição de Execução, no prazo máximo de 15 dias, sob pena de glosa de despesas.

### III - INSTITUIÇÃO DE EXECUÇÃO:

- a) Responsabilizar-se, solidariamente, por todas as obrigações assumidas pelo **BENEFICIÁRIO**;
- b) Fiscalizar e acompanhar a execução do projeto, notificando a **CONCEDENTE** sempre que ocorrerem irregularidades e/ou fatos geradores que inviabilizem a exequibilidade da pesquisa;
- c) Garantir condições de plena viabilidade para a execução do projeto do **BENEFICIÁRIO**, assegurando contrapartida de recursos humanos, materiais e instalações físicas que se fizerem necessários para o bom andamento das atividades de pesquisa;
- d) Assegurar o provimento tempestivo dos recursos complementares necessários à execução do projeto;
- e) Garantir a conclusão do projeto no prazo assinalado;
- f) Permitir e facilitar a **CONCEDENTE** o acesso a toda documentação, dependências e locais de execução do projeto;
- g) Comunicar a **CONCEDENTE**, no prazo máximo de 15 dias, quando ocorrer à desvinculação do pesquisador junto a Instituição de Execução.

### CLÁUSULA QUINTA - DOS RECURSOS

5.1. Os recursos serão transferidos para a conta específica do pesquisador em duas parcelas, conforme percentual repassado pelo CNPq;

5.2. A liberação da 2ª parcela está condicionada à entrega da prestação de contas da 1ª parcela à FAPT, acompanhada de toda a documentação, respeitando o prazo de execução do projeto e a vigência do convênio.

### CLÁUSULA SEXTA - DAS VEDAÇÕES

É vedado:

- 6.1. Utilizar os recursos financeiros para fins distintos dos aprovados no projeto;



**FAPT**  
FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE TOCANTINS

**TOCANTINS**  
GOVERNO DO ESTADO



Praça dos Girassóis, Esplanada das Secretarias. S/N  
Palmas – Tocantins – CEP: 77.001-020  
Tel: +55 63 3218-1026  
www.fapt.to.gov.br

- 6.2. Transferir a terceiros as obrigações ora assumidas sem prévia autorização da FAPT;
- 6.3. Executar as despesas em data anterior ou posterior à vigência do presente instrumento. As despesas realizadas fora do prazo de aplicação dos recursos serão glosadas na forma da legislação vigente;
- 6.4. Efetuar pagamento a si próprio, exceto quando se tratar de diárias por ocasião de deslocamento para outra localidade no desempenho de atividades pertinentes ao projeto;
- 6.5. Transferir recursos de uma rubrica para outra;
- 6.6. Efetuar pagamento de despesa relativa a multa e taxa de permanência;
- 6.7. Efetuar o pagamento de salários e seus encargos;

As despesas que contrariem os itens anteriores serão glosadas e os valores correspondentes corrigidos monetariamente, conforme legislação vigente, ficando o beneficiário responsável pelo ressarcimento à FAPT.

#### CLÁUSULA SÉTIMA - DA PRESTAÇÃO DE CONTAS

- 7.1. Todo BENEFICIÁRIO de apoio financeiro a projeto de pesquisa concedido pela FAPT está obrigado a prestar contas, conforme orientações do **Manual de Prestação de Contas**, o qual está disponível para download no site da FAPT ([www.fapt.to.gov.br](http://www.fapt.to.gov.br));
- 7.2. Havendo qualquer inobservância das normas deste item, o BENEFICIÁRIO será notificado a suprir a irregularidade no prazo de 10 dias.

#### CLÁUSULA OITAVA - AQUISIÇÃO, GUARDA E DESTINAÇÃO DOS BENS

- 8.1. Todos os bens patrimoniais adquiridos com apoio financeiro da FAPT integrarão o patrimônio do Estado, de acordo com o capítulo II, art. 11 da Lei nº 1.664, de 22 de fevereiro de 2006, publicada no Diário Oficial do Estado nº 2.113 e serão depositados na INSTITUIÇÃO de execução do projeto mediante assinatura de "Termo de Cessão de Uso" com a mesma;
- 8.2. É vedada a transferência dos bens para outro local ou estabelecimento, sem prévia e expressa autorização da FAPT;
- 8.3. Todas as despesas decorrentes do uso dos bens, da sua transferência, bem como eventuais danos causados correrão por conta e risco do beneficiário e da Instituição;
- 8.4. O BENEFICIÁRIO e a INSTITUIÇÃO responderão pela manutenção do bem em perfeito estado de conservação e funcionamento;
- 8.5. Em caso de roubo, furto ou outro sinistro envolvendo o bem, o BENEFICIÁRIO ou a INSTITUIÇÃO, após a adoção das medidas cabíveis, deverá comunicar imediatamente o fato a FAPT, por escrito, juntamente com a justificativa e a prova de suas causas, anexando cópia autenticada da Ocorrência Policial para abertura de sindicância.

#### CLÁUSULA NONA - PROPRIEDADE INTELECTUAL/CRIAÇÃO PROTEGIDA

- 9.1. No caso das atividades realizadas originarem resultados materiais representados por inovações tecnológicas, invenções, aperfeiçoamentos e novos conhecimentos aplicáveis às atividades econômicas produtivas e propiciarem incrementos de seu desempenho, aumento da produtividade dos fatores envolvidos, otimização do uso de recursos e insumos, ou, ainda, criações intelectuais passíveis de proteção, as partes obedecerão às determinações da Lei de Inovação, nº 10.973, de 02 de dezembro de 2004, regulamentada pelo Decreto nº 5.563, de 11 de outubro de 2005, Lei nº 12.462, de 4 de agosto de 2011, a Lei nº 8.745, de 9 de dezembro de 1993, a Lei nº 8.958, de 20 de dezembro de 1994, a Lei nº 8.010, de 29 de março de 1990, a Lei nº 8.032, de 12 de abril de 1990, e a Lei nº 12.772, de 28 de dezembro de 2012 observando-se as normas do CNPq e as demais disposições legais vigentes;
- 9.2. Os resultados econômicos auferidos na exploração comercial da criação protegida, inclusive na hipótese de transferência do direito de exploração a terceiros, serão partilhados



**FAPT**  
FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO TOCANTINS

**TOCANTINS**  
GOVERNO DO ESTADO



Praça dos Girassóis, Esplanada das Secretarias. S/N  
Palmas – Tocantins – CEP: 77.001-020  
Tel: +55 63 3218-1026  
www.fapt.to.gov.br

entre as partes, incluindo-se a instituição executora do projeto, na proporção equivalente ao montante do valor agregado, cujos percentuais serão definidos em contratos a serem celebrados.

**CLÁUSULA DÉCIMA - PUBLICAÇÕES E DIVULGAÇÃO:**

10.1. Trabalhos publicados e sua divulgação, sob qualquer forma de comunicação ou por qualquer veículo, e quando disserem das atividades apoiadas pelo CNPq e FAPT, deverão, obrigatoriamente, no idioma da divulgação, fazer menção expressa a que o trabalho para sua concretização e/ou o seu autor ou autores, receberam apoio material e/ou financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Tocantins e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq - Brasil.

10.2. Material de divulgação de eventos, impressos em geral, publicações e a publicidade relativa a eles, quando disserem respeito a trabalhos e atividades apoiadas ou financiadas pela FAPT e CNPq deverão trazer a logomarca deste em lugar visível, de fácil identificação em escala e tamanho proporcionais à área de leitura.

**CLÁUSULA DÉCIMA PRIMEIRA - DENÚNCIA, SUSPENSÃO E RESCISÃO:**

11.1. Quando o BENEFICIÁRIO desistir da execução do projeto, antes do seu início, deverá comunicar a FAPT, com justificativa plausível da desistência, no prazo máximo de 30 (trinta) dias antes do recebimento dos recursos. A não observância desse prazo implicará a correção do valor originalmente concedido, na forma da legislação aplicável aos débitos da Fazenda Nacional;

11.2. O BENEFICIÁRIO deverá, formalmente, comunicar a FAPT qualquer descontinuidade do plano de trabalho, do projeto de pesquisa ou do programa do evento, acompanhada da devida justificativa, do relatório técnico e da prestação de contas;

11.3. A liberação dos recursos do apoio financeiro ao projeto de pesquisa, bem como de quaisquer outros benefícios concedidos pela FAPT, será suspensa quando ocorrer uma das seguintes impropriedades, constatada, inclusive, por procedimentos de fiscalização realizados pela FAPT, CNPq, Ministério da Ciência e Tecnologia/ MCT, Secretaria Federal de Controle Interno/ SFCI ou Tribunal de Contas da União/ TCU:

- a) não comprovação da utilização adequada da parcela anteriormente recebida, na forma da legislação pertinente;
- b) verificação de desvio de finalidade na utilização dos recursos ou dos bens patrimoniais adquiridos no projeto;
- c) atrasos não justificados no cumprimento das etapas ou fases programadas do plano de trabalho/projeto de pesquisa;
- d) quando for descumprida qualquer cláusula ou condição deste instrumento.

11.3.1. A suspensão dos benefícios persistirá até a correção da causa verificada.

11.4. O BENEFICIÁRIO, cuja prestação de contas e relatório técnico final não forem aprovados, será considerado inadimplente e terá suspensos os pagamentos, bem como a concessão de novas modalidades de apoio, sem prejuízo de outras medidas julgadas necessárias pela FAPT e previstas na lei;

11.5. Quando da denúncia, rescisão ou extinção do benefício, os saldos financeiros remanescentes deverão ser devolvidos a FAPT no prazo improrrogável de 30 (trinta) dias do evento, sob pena de imediata instauração de tomada de contas especial.

**CLÁUSULA DÉCIMA SEGUNDA - DA VIGÊNCIA E ALTERAÇÕES**

12.1. O presente Termo terá vigência de 24 (vinte e quatro) meses a contar da data da liberação da primeira parcela dos recursos, podendo ser prorrogado mediante Termo aditivo;

12.2. Este instrumento poderá ser alterado de comum acordo entre os seus signatários, por meio de termos aditivos, com as devidas e aceitas justificativas apresentadas no prazo mínimo de 30



**TOCANTINS**  
GOVERNO DO ESTADO



Praça dos Girassóis, Esplanada das Secretarias. S/N  
Palmas – Tocantins – CEP: 77.001-020  
Tel: +55 63 3218-1026  
www.fapt.to.gov.br

(trinta) dias antes da data que se pretenda o implemento das alterações, exceto o aditamento com o intuito de alterar objeto e finalidade, sendo nulo de pleno direito qualquer ato nesse sentido.

#### **CLÁUSULA DÉCIMA TERCEIRA - DA PUBLICAÇÃO**

13.1. É indispensável a publicação do extrato deste Termo no Diário Oficial do Estado, a qual ficará a cargo da FAPT.

#### **CLÁUSULA DÉCIMA QUARTA - DAS DISPOSIÇÕES FINAIS**

14.1. O presente Termo é regido pela Lei n.º 8.666/93, e alterações posteriores, pelas normas de regência do Estado do Tocantins e, subsidiariamente, pelas normas aplicáveis ao repasse de recursos a pesquisadores do CNPq;

14.2. O presente Termo só será válido e o auxílio individual à pesquisa só será concedido mediante o conhecimento de todas as cláusulas deste Termo por parte da INSTITUIÇÃO de execução do projeto, mediante a sua anuência neste Termo;

14.3. A concessão objeto do presente instrumento não gera vínculo de qualquer natureza ou relação de trabalho, constituindo doação com encargos feita ao BENEFICIÁRIO;

14.4. O pessoal envolvido na execução do projeto de pesquisa não possuirá vínculo de qualquer natureza com a FAPT e deste não poderá demandar quaisquer pagamentos, sendo estes de inteira responsabilidade do BENEFICIÁRIO/INSTITUIÇÃO sede do projeto, que os tiverem empregado na execução dos trabalhos;

14.5. O processo somente será encerrado após as aprovações do relatório técnico final e da prestação de contas e desde que cumpridas todas as condições previstas neste instrumento e nas normas aplicáveis;

14.6. O BENEFICIÁRIO manifesta sua integral e incondicional ciência e concordância com a concessão que ora lhe é feita, comprometendo-se a cumprir fielmente as estipulações deste instrumento e das normas que lhe são aplicáveis;

14.7. O descumprimento de qualquer condição constante deste Termo e a inobservância de dispositivos legais aplicáveis a esta concessão implicará o cancelamento/interrupção imediato da concessão e rescisão do termo e obrigará o BENEFICIÁRIO a ressarcir integralmente a FAPT de todas as despesas realizadas, atualizadas nos termos da legislação, sem prejuízo da aplicação de penalidades cabíveis;

14.8. A recusa ou omissão do BENEFICIÁRIO quanto ao ressarcimento de que trata este item, ensejará a consequente abertura de tomada de contas especial e a decorrente inscrição do beneficiário e do débito nos cadastros de inadimplência institucional e do Tesouro Nacional;

14.9. O BENEFICIÁRIO reconhece que a FAPT compete exercer a autoridade normativa de controle e fiscalização sobre a execução do projeto, bem como assumir ou transferir a responsabilidade pelo mesmo, no caso da paralisação ou de fato relevante que venha a ocorrer, de modo a evitar a descontinuidade das atividades;

14.10. Sujeita-se o BENEFICIÁRIO às normas da FAPT, às condições contidas na Instrução Normativa nº 01, de 15 de janeiro de 1997, da Secretaria do Tesouro Nacional, nas Leis nº 8.666/93 e nº 10.973/04, nos Decretos nº 93.872/86 e nº 5.563/05 e na Lei nº 8.112/90, de 11 de dezembro de 1990, no que couber, bem como nos demais instrumentos legais pertinentes;

14.11. Os casos omissos oriundos da execução do presente Termo serão resolvidos pelo **CONCEDENTE**, que poderá recorrer ao CNPq, se necessário.

**CLÁUSULA DÉCIMA QUINTA - DECLARAÇÃO:** Ao enviar este documento a FAPT, o BENEFICIÁRIO declara formalmente:

15.1. Conhecer o edital e as condições gerais que regem o presente Termo;

15.2. Subscrever e concordar integralmente com o referido Termo;



**FAPT**  
FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO TOCANTINS

**TOCANTINS**  
GOVERNO DO ESTADO



Praça dos Girassóis, Esplanada das Secretarias. S/N  
Palmas – Tocantins – CEP: 77.001-020  
Tel: +55 63 3218-1026  
www.fapt.to.gov.br

- 15.3. Conhecer e cumprir as normas da FAPT, ora em validade, sobre a modalidade de auxílio que lhe é concedida e que também são consideradas parte integrante deste documento;
- 15.4. Saber que a eventual mudança dessas normas não afeta, altera ou incide sobre o presente Termo, exceto quando proposta pela FAPT e formalmente aceita pelo BENEFICIÁRIO;
- 15.5. Dispor das autorizações legais cabíveis de instituições como Instituto Brasileiro de Meio Ambiente – IBAMA, Fundação do Nacional do Índio – FUNAI, Comitê de Ética na Pesquisa - CEP, Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP, das Comissões de Ética em pesquisa com animais, Comissão Nacional de Energia Nuclear – CNEN e outras;
- 15.6. Que manterá sob sua guarda, os documentos que instruem o projeto, os comprovantes de despesas e as autorizações necessárias, até 5 (cinco) anos após a aprovação final das contas da FAPT pelo Tribunal de Contas do Estado;
- 15.7. Que conferiu as informações constantes de seu currículo Lattes e as declara corretas e atualizadas;
- 15.8. Que tem ciência de que esta declaração é feita sob pena da incidência nos artigos 297-299 do Código Penal Brasileiro sobre a falsificação de documento público e falsidade ideológica, respectivamente, disponível na página do CNPq, na Internet.
- 15.9. ACEITE: Ao enviá-lo a FAPT, o BENEFICIÁRIO declara que leu e aceitou integralmente os termos deste documento. Declino - o e Aceito - o.

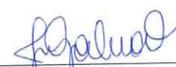
#### CLÁUSULA DÉCIMA SEXTA - DO FORO

- 16.1. Para dirimir quaisquer dúvidas, casos omissos ou quaisquer questões decorrentes da execução do presente Termo, que não possam ser resolvidas pela mediação administrativa, fica eleito o Foro de Palmas - TO.
- 16.2. E, assim, por estarem plenamente de acordo, os partícipes obrigam-se ao total cumprimento do presente Termo, o qual lido e achado conforme, foi lavrado em 03 (vias) vias de igual teor e forma, para que produza os seus jurídicos e legais efeitos.

Palmas, 09 de setembro de 2019.

  
\_\_\_\_\_  
**MARCIO ANTONIO DA SILVEIRA**  
PRESIDENTE DA FAPT

  
\_\_\_\_\_  
**LUIZ EDGAR LEÃO TOLINI**  
SECRETÁRIO ESTADUAL DE SAÚDE

  
\_\_\_\_\_  
**JUCIMÁRIA DANTAS GALVÃO**  
PESQUISADORA

## ANEXO II

FUNDAÇÃO ESCOLA DE  
SAÚDE PÚBLICA DE PALMAS -



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

Elaborado pela Instituição Coparticipante

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** EFETIVIDADE DA MARCAÇÃO COMBINADA DE p16 E Ki67 NA REFERÊNCIA DE MULHERES COM CITOLOGIA - ASC-US OU LSIL - PARA COLPOSCOPIA.

**Pesquisador:** Fabio Bastos Russomano

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 98931018.6.3003.9187

**Instituição Proponente:** FUNDAÇÃO ESCOLA DE SAÚDE PÚBLICA DE PALMAS

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 3.781.181

**Apresentação do Projeto:**

**Título:** EFETIVIDADE DA MARCAÇÃO COMBINADA DE p16 E Ki67 NA REFERÊNCIA DE MULHERES COM CITOLOGIA - ASC-US OU LSIL - PARA COLPOSCOPIA.

O câncer do colo do útero (CCU) é um importante problema de saúde pública, sobretudo no Brasil, por apresentar elevadas taxas de incidência e mortalidade. Apesar de haver um Programa Nacional de Controle do CCU instituído, o impacto na redução da doença tem sido pouco expressivo, com importantes discrepâncias loco regionais. No Tocantins, a incidência é superior à média nacional, registrando a Taxa de Incidência de 29,28/100.000 mulheres. Esta problemática poderia ser minimizada com práticas efetivas de rastreamento (screening), identificando e tratando as lesões precursoras da doença. No Brasil o rastreamento tem se mantido conservador na rede pública, sendo adotado exclusivamente o exame citopatológico convencional (exame de Papanicolaou). Outros métodos têm sido descritos na literatura e adotados em países mais desenvolvidos onde este tipo de doença tem sido superada. Na busca para superar as limitações do citopatológico, há o exemplo do uso de biomarcadores e/ou a identificação do DNA do HPV. Os biomarcadores permitem a conclusão de casos em que os critérios citomorfológicos não são evidentes ou conclusivos, diminuindo a ocorrência de resultados falsos negativos ou subdiagnósticos. Este é um estudo do tipo transversal, com recrutamento prospectivo de mulheres referidas para os Serviços de Referência do Colo (SRC) participantes, encarregados de receber mulheres identificadas pelo rastreamento e realizar o diagnóstico e tratamento de lesões precursoras. Todas as mulheres

**Endereço:** 405 SUL AVENIDA LO 9, s/n - lote 11, térreo.

**Bairro:** PLANO DIRETOR SUL

**CEP:** 77.015-611

**UF:** TO

**Município:** PALMAS

**Telefone:** (63)3212-7166

**E-mail:** cepfesp.palmasto@gmail.com

FUNDAÇÃO ESCOLA DE SAÚDE PÚBLICA DE PALMAS - 

Continuação do Parecer: 3.781.181

incluídas nesta pesquisa serão submetidas a uma nova coleta do exame citopatológico (Citologia em Meio Líquido), ao teste de DNA-HPV e imunocitoquímica. Os resultados desses exames serão comparados com o padrão-ouro definido pelo seguimento clínico, colposcopia e histologia conforme fluxo metodológico definido no projeto.

Trata-se de um estudo transversal, com recrutamento prospectivo de mulheres recebidas nos SRC localizados em Tocantins na cidade de Palmas e Porto Nacional, e no Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira, da Fundação Oswaldo Cruz (IFF/Fiocruz) do Rio de Janeiro-RJ. Todas as mulheres incluídas serão submetidas a uma nova citologia em meio líquido, ao teste de DNA-HPV e imunocitoquímica. A coleta de novos espécimes das mulheres encaminhadas para os SRC será realizada na primeira consulta de seguimento e encaminhada ao Laboratório Central de Saúde Pública do Tocantins (LACEN), para a pesquisadora que acompanhará todo o processo de identificação, aliquotagem, realização e emissão dos resultados dos exames Citopatológicos e de Imunocitoquímica. As análises moleculares (DNAHPV) serão realizadas no IFF/Fiocruz. A amostra do exame citopatológico será obtida antes do exame colposcópico, com a utilização do kit de coleta cérvico-vaginal em meio líquido Cell Preserv® e acondicionada em recipiente adequado (caixa térmica), devidamente lacrada, mantida em temperatura ambiente (não superior a 30°C) e enviada para a sede do Laboratório de Citopatologia. Após a recepção, conferência e identificação das amostras, estas serão submetidas ao processador de lâminas (Kolplast®) com a preparação de duas lâminas - uma será encaminhada para a coloração pela técnica de Papanicolaou e a segunda para o teste imunocitoquímico. O novo exame citopatológico será realizado seguindo os critérios e parâmetros de controle de qualidade estabelecidos rotineiramente por dois examinadores diferentes e independentes. Os casos discrepantes serão resolvidos em reunião de consenso com a participação de um examinador sênior. Para todas as análises, os examinadores não terão conhecimento dos resultados prévios ou mesmo dos demais testes. Para a análise imunocitoquímica, as lâminas preparadas serão montadas e fixadas em álcool (99%) imediatamente após seu preparo por um período de 10 a 60 minutos e secas ao ar livre (overnight). O kit contempla um coquetel de anticorpos: anticorpo monoclonal de camundongo (clone E6H4), contra a proteína P16INK4a humana e anticorpo monoclonal de coelho (clone 274-11 AC3) contra a proteína Ki-67. O p16INK4a apresenta marcação nuclear e citoplasmática, de cor marrom (DAB), e o Ki-67, marcação nuclear, de coloração vermelha (fast red). Será proposto um score de classificação qualitativa/quantitativa em cruces, que será proporcional à intensidade da coloração para as mulheres com diagnóstico positivo e o padrão negativo será proposto conforme os resultados provenientes do grupo sem

Endereço: 405 SUL AVENIDA LO 9, s/n - lote 11, térreo.

Bairro: PLANO DIRETOR SUL CEP: 77.015-611

UF: TO Município: PALMAS

Telefone: (63)3212-7166

E-mail: cepfesp.palmas@gmail.com

FUNDAÇÃO ESCOLA DE  
SAÚDE PÚBLICA DE PALMAS -



Continuação do Parecer: 3.781.181

doença. O teste de DNA-HPV será realizado seguindo o método para extração de DNA-GFX GE Healthcare®. Após esta etapa, as amostras serão amplificadas e marcadas com o uso de sondas específicas para os tipos de HPV oncogênicos e o gene da  $\beta$  globina. As reações serão comparadas ao controle negativo (solução de reação de PCR desprovida de DNA) e um controle positivo (amostra clínica positiva para DNAHPV apresentando 450 pb). As amostras cervicais caracterizadas como positivas para PCR serão submetidas ao processo de genotipagem pelo método EUROArray™26. Nessa técnica são considerados como oncogênicos os tipos 16, 18, 31. Os resultados de exames histopatológicos, quando obtido espécime histológico, serão considerados o padrão ouro no diagnóstico. Os espécimes histológicos obtidos durante o estudo serão processados e analisados conforme a rotina assistencial. Para o cálculo da amostra consideramos a Sensibilidade de 90% para detecção de HSIL-Câncer com Intervalo de Confiança de 95% entre 82% a 98%, o que acarreta na necessidade de incluir 280 mulheres com ASC-US e LSIL. Considerando as possíveis perdas (20%) pretende-se recrutar 336 mulheres com ASC-US ou LSIL e que não tenham histórico de patologia cervical.

**Critério de Inclusão:**

Serão incluídas no estudo as mulheres referenciadas, com resultados prévios de ASC-US e LSIL, aos dois SRC de Tocantins: localizados no município de Palmas e Porto Nacional e, no Rio de Janeiro: SRC do IFF/Fiocruz, que concordarem em participar da pesquisa e assinarem o TCLE (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido).

**Critério de Exclusão:**

Serão excluídas da pesquisa as mulheres que desistirem da participação no estudo após sua inclusão, aquelas que não apresentarem amostra satisfatória para se proceder às análises laboratoriais ou que os seus espécimes sejam extraviados e/ou danificados no transporte ou processamento. Serão consideradas perdas aquelas cuja definição do padrão ouro dependerem de seguimento após a colposcopia e não o concluírem.

**Objetivo da Pesquisa:**

**OBJETIVO GERAL**

Analisar a efetividade dos testes de imunocitoquímica de amostras cérvico-vaginais comparando-os a outros métodos recomendados para identificar lesões precursoras ou câncer cérvico-uterino em mulheres com resultado prévio de ASC-US e LSIL.

**OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Comparar o percentual de mulheres com resultado prévio de ASC-US e LSIL identificadas com lesões precursoras ou câncer cervical pela repetição da citologia, teste de DNA-HPV e dupla

Endereço: 405 SUL AVENIDA LO 9, s/n - lote 11, térreo.

Bairro: PLANO DIRETOR SUL CEP: 77.015-611

UF: TO Município: PALMAS

Telefone: (63)3212-7188

E-mail: cepfesp.palmas@gmail.com

FUNDAÇÃO ESCOLA DE  
SAÚDE PÚBLICA DE PALMAS -



Continuação do Parecer: 3.781.181

marcação por p16 e Ki67.

Comparar o percentual de mulheres com resultado prévio de ASC-US e LSIL encaminhadas para colposcopia pela repetição da citologia, teste de DNA-HPV e dupla marcação por p16 e Ki67.

Calcular e comparar o desempenho diagnóstico das estratégias de triagem de mulheres com resultado prévio de ASC-US e LSIL pela repetição da citologia, teste de DNA-HPV e dupla marcação por p16 e Ki67 por meio da razão de sensibilidade e de especificidade.

Descrever os padrões da dupla marcação de p16 e Ki67 em mulheres com resultado prévio de ASC-US e LSIL para cada diagnóstico final obtido (negativo, NIC I, II, III e câncer)

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos: Perda de dados sigilosos das pacientes; possíveis erros na transcrição dos dados coletados e tratamento dos mesmos, podendo gerar dados incompletos; erros de análise estatística; perda de laudos/relatórios e exposição da identidade dos pacientes que realizaram exames laboratoriais. Para minimizar os possíveis riscos a pesquisadora se compromete a não trabalhar com dados nominais, os laudos e demais documentos serão utilizados exclusivamente na unidade de saúde (SRC) sob supervisão de um funcionário da instituição, além da digitalização de arquivos e documentos como forma de backup. Nesse sentido será priorizado o sigilo quanto a identidade da paciente, conforme preceitos éticos estabelecidos. Para minimizar os erros de análise estatística, os dados serão revisados.

Como benefício atribuímos a testagem e possível inclusão do exame de imunocitoquímica utilizando os biomarcadores incluídos na pesquisa nos serviços públicos de saúde, abreviando o diagnóstico e tratamento de lesões precursoras do câncer do colo do útero.

O método pode ainda ser utilizado em outros níveis de atenção à saúde, pautado em indicação clínica, pretendendo o diagnóstico precoce e agilidade no encaminhamento dos casos à Rede Secundária.

**6.0 Aspectos éticos**

A pesquisa será realizada conforme anexos o Parecer Consubstanciado com CAE nº 98931018.6.0000.5269 emitido pelo Comitê de Ética em Pesquisa do IFF/Fiocruz e Parecer Consubstanciado com CAAE nº 98931018.6.3002.5279 emitido pelo CEP/Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro.

Conforme a Portaria instituída pela FESP nº 27, de 29 de março de 2018 que regulamenta a tramitação de pesquisas a serem realizadas no âmbito do SUS sob gestão do município de Palmas, para o recrutamento e atendimentos realizados conforme este regulamento, no Serviço de Referência do Colo AMAS, o Projeto fora submetido para apreciação pelo Núcleo de Pesquisa –

Endereço: 405 SUL AVENIDA LO 9, s/n - lote 11, térreo.

Bairro: PLANO DIRETOR SUL

CEP: 77.015-611

UF: TO

Município: PALMAS

Telefone: (63)3212-7166

E-mail: cepfesp.palmasto@gmail.com

FUNDAÇÃO ESCOLA DE  
SAÚDE PÚBLICA DE PALMAS -



Continuação do Parecer: 3.781.181

Comissão de Avaliação de Projetos, com Parecer Pendente em 07/05/2019 e Parecer APROVADO em 15/05/2019, tendo sido incluído como Co-Participante o CEP/SMS Palmas em 06/2019 e, mediante manifestação desconhecimento sobre a não inclusão imediata, o projeto fora redirecionado ao CEP/Fundação Escola de Saúde de Palmas sob CAAE nº 98931018.6.3003.9187, sob avaliação. Seguem anexos os documentos da ciência e trâmites descritos junto à Secretaria Municipal de Saúde de Palmas.

Para o recrutamento junto a SMS-Palmas, SES-TO e do Instituto Fernandes Figueiras, declaramos seguir os princípios éticos da resolução 466/2012, do Conselho Nacional de Saúde.

Este trabalho também atende à Portaria da Diretoria Geral de Educação em Saúde (DGES) do Estado de Tocantins nº 391, de 07 de junho de 2017, que institui o Processo de Regulação de Pesquisas nas Unidades de Saúde e Setores de Gestão da Secretaria de Saúde do Estado do Tocantins. Segue anexo documento comprobatórios sobre os trâmites e autorizações veiculadas em nível estadual. Destacamos ainda que o referido trabalho foi apresentado como INFORME na Reunião de Comissão Intergestores Bipartite (CIB), para divulgação dos objetivos, cronograma e fluxos de recrutamento e atendimentos aos secretários municipais de saúde e demais servidores no dia.

Todos os resultados obtidos estarão à disposição das mulheres e dos profissionais assistentes tão logo a sua obtenção.

Destaca-se que, após a análise dos dados, elaboração e defesa da tese, e elaboração dos produtos propostos o banco de dados no formato nominal será descartado pelos pesquisadores.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A pesquisa tem relevância social e científica e para a saúde pública no município de Palmas, e irá contribuir para a atenção à saúde da mulher.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Adequados.

**Recomendações:**

- Conforme item XI (DO PESQUISADOR RESPONSÁVEL) na Resolução CONEP 466/12, destaca-se aqui apenas como lembrete:

**XI.2 - Cabe ao pesquisador:**

c) desenvolver o projeto conforme delineado

d) elaborar e apresentar os relatórios parciais e/ou finais

Endereço: 405 SUL AVENIDA LO 9, s/n - lote 11, térreo.

Bairro: PLANO DIRETOR SUL

CEP: 77.015-611

UF: TO

Município: PALMAS

Telefone: (63)3212-7166

E-mail: cepfesp.pal masto@gmail.com

FUNDAÇÃO ESCOLA DE  
SAÚDE PÚBLICA DE PALMAS -



Continuação do Parecer: 3.781.181

- f) manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 5 anos após o término da pesquisa;
- g) encaminhar os resultados da pesquisa para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico integrante do projeto;
- h) justificar fundamentadamente, perante o CEP ou a CONEP, interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

O estudo atende as necessidades do SUS na gestão municipal e atende aos preceitos éticos estabelecidos na Resolução 466/2012. A pesquisa poderá contribuir para a melhoria da assistência prestada à saúde da mulher, em especial, para ser uma doença que afeta principalmente as mulheres de nível socioeconômico mais baixo e com dificuldades de acesso aos serviços de saúde.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_1467770.pdf	08/12/2019 17:27:17		Aceito
Outros	CartaRespostaPendencias.doc	08/12/2019 17:26:45	Fabio Bastos Russomano	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projetov1CEPPPSUS.docx	08/12/2019 17:25:26	Fabio Bastos Russomano	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_TO.pdf	08/12/2019 17:09:31	Fabio Bastos Russomano	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLECarimbado.pdf	03/11/2019 21:23:50	JUCIMÁRIA DANTAS GALVÃO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projetov1CEPRio_12_07.docx	03/11/2019 21:21:16	JUCIMÁRIA DANTAS GALVÃO	Aceito
Outros	Carta_Emenda.docx	03/11/2019 21:19:42	JUCIMÁRIA DANTAS GALVÃO	Aceito
Outros	Folder_convite_RIO.pdf	03/11/2019 21:18:58	JUCIMÁRIA DANTAS GALVÃO	Aceito
Outros	Folder_convite_TO.pdf	03/11/2019 21:17:53	JUCIMÁRIA DANTAS GALVÃO	Aceito

Endereço: 405 SUL AVENIDA LO 9, s/n - lote 11, térreo.

Bairro: PLANO DIRETOR SUL

CEP: 77.015-611

UF: TO

Município: PALMAS

Telefone: (63)3212-7166

E-mail: cepfesp.palmasto@gmail.com

FUNDAÇÃO ESCOLA DE  
SAÚDE PÚBLICA DE PALMAS - 

Continuação do Parecer: 3.781.181

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

PALMAS, 18 de Dezembro de 2019

---

**Assinado por:**

Eliane Patricia Lino Pereira Franchi  
(Coordenador(a))

Endereço: 405 SUL AVENIDA LO 9, s/n - lote 11, térreo.

Bairro: PLANO DIRETOR SUL CEP: 77.015-611

UF: TO Município: PALMAS

Telefone: (63)3212-7166

E-mail: [cepfesp.palmasto@gmail.com](mailto:cepfesp.palmasto@gmail.com)

## ANEXO III

INSTITUTO FERNANDES  
FIGUEIRA - IFF/ FIOCRUZ - RJ/  
MS



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** EFETIVIDADE DA MARCAÇÃO COMBINADA DE p16 E Ki67 NA REFERÊNCIA DE MULHERES COM CITOLOGIA - ASC-US OU LSIL - PARA COLPOSCOPIA.

**Pesquisador:** Fabio Bastos Russomano

**Área Temática:**

**Versão:** 5

**CAAE:** 98931018.6.0000.5269

**Instituição Proponente:** Instituto Fernandes Figueira - IFF/ FIOCRUZ - RJ/ MS

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 3.091.714

**Apresentação do Projeto:**

Trata-se de um estudo transversal, com recrutamento prospectivo de mulheres referidas para os Serviços de Referência do Colo (SRC) participantes, encarregados de receber mulheres identificadas pelo rastreamento e realizar o diagnóstico e tratamento de lesões precursoras. Todas as mulheres incluídas serão submetidas a uma nova coleta do exame citopatológico (Citologia em Meio Líquido), ao teste de DNA-HPV e imunocitoquímica. Os resultados desses exames serão comparados com o padrão-ouro definido pela colposcopia e histologia conforme fluxo metodológico definido no projeto.

**Objetivo da Pesquisa:**

**Objetivo Primário:**

Analisar a efetividade dos testes de imunocitoquímica de amostras cérvico-vaginais comparando-os a outros métodos recomendados para identificar lesões precursoras ou câncer cérvico-uterino em mulheres com resultado prévio de ASC-US e LSIL.

**Objetivo Secundário:**

- Comparar o percentual de mulheres com resultado prévio de ASC-US e LSIL identificadas com lesões precursoras ou câncer cervical pela repetição da citologia, teste de DNA-HPV e dupla marcação por p16 e Ki67. Comparar o percentual de mulheres com resultado prévio de ASC-US e LSIL encaminhadas para colposcopia pela repetição da citologia, teste de DNA-HPV e dupla

Endereço: RUI BARBOSA, 716  
Bairro: FLAMENGO CEP: 22.250-020  
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO  
Telefone: (21)2554-1730 Fax: (21)2552-8491 E-mail: cepiff@iff.fiocruz.br

INSTITUTO FERNANDES  
FIGUEIRA - IFF/ FIOCRUZ - RJ/  
MS



## PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** EFETIVIDADE DA MARCAÇÃO COMBINADA DE p16 E Ki67 NA REFERÊNCIA DE MULHERES COM CITOLOGIA - ASC-US OU LSIL - PARA COLPOSCOPIA.

**Pesquisador:** Fabio Bastos Russomano

**Área Temática:**

**Versão:** 5

**CAAE:** 98931018.6.0000.5269

**Instituição Proponente:** Instituto Fernandes Figueira - IFF/ FIOCRUZ - RJ/ MS

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 3.091.714

#### Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo transversal, com recrutamento prospectivo de mulheres referidas para os Serviços de Referência do Colo (SRC) participantes, encarregados de receber mulheres identificadas pelo rastreamento e realizar o diagnóstico e tratamento de lesões precursoras. Todas as mulheres incluídas serão submetidas a uma nova coleta do exame citopatológico (Citologia em Meio Líquido), ao teste de DNA-HPV e imunocitoquímica. Os resultados desses exames serão comparados com o padrão-ouro definido pela colposcopia e histologia conforme fluxo metodológico definido no projeto.

#### Objetivo da Pesquisa:

**Objetivo Primário:**

Analisar a efetividade dos testes de imunocitoquímica de amostras cérvico-vaginais comparando-os a outros métodos recomendados para identificar lesões precursoras ou câncer cérvico-uterino em mulheres com resultado prévio de ASC-US e LSIL.

**Objetivo Secundário:**

- Comparar o percentual de mulheres com resultado prévio de ASC-US e LSIL identificadas com lesões precursoras ou câncer cervical pela repetição da citologia, teste de DNA-HPV e dupla marcação por p16 e Ki67. Comparar o percentual de mulheres com resultado prévio de ASC-US e LSIL encaminhadas para colposcopia pela repetição da citologia, teste de DNA-HPV e dupla

**Endereço:** RUI BARBOSA, 716

**Bairro:** FLAMENGO

**CEP:** 22.250-020

**UF:** RJ

**Município:** RIO DE JANEIRO

**Telefone:** (21)2554-1730

**Fax:** (21)2552-8491

**E-mail:** cepiff@iff.fiocruz.br

**INSTITUTO FERNANDES  
FIGUEIRA - IFF/ FIOCRUZ - RJ/  
MS**



Continuação do Parecer: 3.091.714

marcação por p16 e Ki67. Calcular e comparar o desempenho diagnóstico das estratégias de triagem de mulheres com resultado prévio de ASC-US e LSIL pela repetição da citologia, teste de DNAHPV e dupla marcação por p16 e Ki67 por meio da razão de sensibilidade e de especificidade. Descrever os padrões da dupla marcação de p16 e Ki67 em mulheres com resultado prévio de ASC-US e LSIL para cada diagnóstico final obtido (negativo, NIC I, II, III e câncer).

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**Riscos:**

Perda de dados sigilosos das pacientes; possíveis erros na transcrição dos dados coletados e tratamento dos mesmos, podendo gerar dados incompletos; erros de análise estatística; perda de laudos/relatórios e exposição da identidade dos pacientes que realizaram exames laboratoriais. Para minimizar os possíveis riscos a pesquisadora se compromete a não trabalhar com dados nominais, os laudos e demais documentos serão

utilizados exclusivamente na unidade de saúde (SRC) sob supervisão de um funcionário da instituição, além da digitalização de arquivos e documentos como forma de backup. Nesse sentido será priorizado o sigilo quanto a identidade da paciente, conforme preceitos éticos estabelecidos. Para minimizar os erros de análise estatística, os dados serão revisados.

**Benefícios:**

Como benefício atribuímos a testagem e possível inclusão do exame de imunocitoquímica utilizando os biomarcadores incluídos na pesquisa nos serviços públicos de saúde, abreviando o diagnóstico e tratamento de lesões precursoras do câncer do colo do útero. O método pode ainda ser utilizado em outros níveis de atenção à saúde, pautado em indicação clínica, pretendendo o diagnóstico precoce e agilidade no encaminhamento

dos casos à Rede Secundária.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trata-se de resposta a pendência de parecer 3.062.845 de 06/12/2018.

A pesquisadora respondeu à pendência que solicitava a reavaliação da terminologia do TCLE de modo a torná-lo mais compreensível para a participante, anexando uma versão com texto claro, detalhado e com conteúdo que atende as recomendações da resolução 466/12.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Adequados.

Endereço: RUI BARBOSA, 716  
Bairro: FLAMENGO CEP: 22.250-020  
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO  
Telefone: (21)2554-1730 Fax: (21)2552-8491 E-mail: oepiff@iff.fiocruz.br

INSTITUTO FERNANDES  
FIGUEIRA - IFF/ FIOCRUZ - RJ/  
MS



Continuação do Parecer: 3.091.714

**Recomendações:**

O (A) pesquisador(a) deve encaminhar ao CEP relatórios parciais a cada seis meses (a contar da data de aprovação do projeto), e ao término, relatório final, submetendo à plataforma Brasil, via notificação.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

O presente parecer baseou-se na resolução CNS 466/12.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_1214300.pdf	17/12/2018 13:43:50		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_V_CEPV.docx	17/12/2018 13:43:32	JUCIMÁRIA DANTAS GALVÃO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_IV_CEPV.docx	11/12/2018 08:47:25	JUCIMÁRIA DANTAS GALVÃO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_3_CEP.docx	23/11/2018 13:39:13	JUCIMÁRIA DANTAS GALVÃO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_2_CEP.docx	06/11/2018 14:54:46	JUCIMÁRIA DANTAS GALVÃO	Aceito
Outros	Carta_1910.pdf	19/10/2018 01:59:16	JUCIMÁRIA DANTAS GALVÃO	Aceito
Folha de Rosto	Fomulario_preenchido.pdf	05/09/2018 16:29:15	JUCIMÁRIA DANTAS GALVÃO	Aceito
Outros	Modelo_Projeto_cor.docx	04/09/2018 12:08:23	JUCIMÁRIA DANTAS GALVÃO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tERMO.pdf	04/09/2018 12:07:17	JUCIMÁRIA DANTAS GALVÃO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_cep.docx	04/09/2018 12:04:29	JUCIMÁRIA DANTAS GALVÃO	Aceito

Endereço: RUI BARBOSA, 716  
Bairro: FLAMENGO CEP: 22.250-020  
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO  
Telefone: (21)2554-1730 Fax: (21)2552-8491 E-mail: cepiff@iff.fiocruz.br

**INSTITUTO FERNANDES  
FIGUEIRA - IFF/ FIOCRUZ - RJ/  
MS**



Continuação do Parecer: 3.091.714

Declaração de Instituição e Infraestrutura	NEPHGPP.pdf	04/09/2018 12:01:08	JUCIMÁRIA DANTAS GALVÃO	Aceito
Orçamento	ORcAMENTO_detalhado.docx	04/09/2018 11:59:52	JUCIMÁRIA DANTAS GALVÃO	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	carta_Semus.pdf	04/09/2018 11:58:52	JUCIMÁRIA DANTAS GALVÃO	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Carta_Oncologia.pdf	04/09/2018 11:58:38	JUCIMARIA DANTAS GALVÃO	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Carta_lacen.pdf	04/09/2018 11:58:29	JUCIMARIA DANTAS GALVÃO	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Aut_IFF.pdf	04/09/2018 11:56:23	JUCIMARIA DANTAS GALVÃO	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Carta_anuencia_iff.pdf	04/09/2018 11:55:53	JUCIMARIA DANTAS GALVÃO	Aceito
Declaração do Patrocinador	Temo_doacao_Kolplast.pdf	04/09/2018 11:54:54	JUCIMARIA DANTAS GALVÃO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	04/09/2018 11:54:10	JUCIMARIA DANTAS GALVÃO	Aceito
Cronograma	Cronograma_cep.docx	04/09/2018 11:52:32	JUCIMARIA DANTAS GALVÃO	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

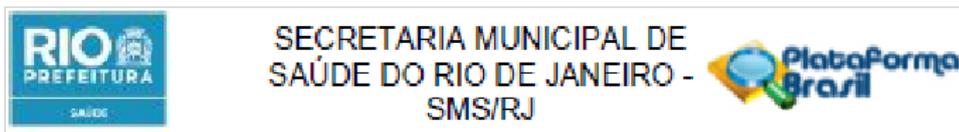
RIO DE JANEIRO, 18 de Dezembro de 2018

Assinado por:

**Ana Maria Aranha Magalhães Costa  
(Coordenador(a))**

Endereço: RUI BARBOSA, 716  
Bairro: FLAMENGO CEP: 22.250-020  
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO  
Telefone: (21)2554-1730 Fax: (21)2552-8491 E-mail: cepiff@iff.fiocruz.br

## ANEXO IV



## PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

## DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** EFETIVIDADE DA MARCAÇÃO COMBINADA DE p16 E Ki67 NA REFERÊNCIA DE MULHERES COM CITOLOGIA - ASC-US OU LSIL - PARA COLPOSCOPIA.

**Pesquisador:** Fabio Bastos Russomano

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 88931018.6.3002.5279

**Instituição Proponente:** Superintendência de Atenção Primária

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

## DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 3.544.908

**Apresentação do Projeto:**

Apresentado no Parecer consubstanciado nº 3.420.488 do CEP/SMS, emitido em 27/08/19.

**Objetivo da Pesquisa:**

Apresentado no Parecer consubstanciado nº 3.420.488 do CEP/SMS, emitido em 27/08/19.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Apresentado no Parecer consubstanciado nº 3.420.488 do CEP/SMS, emitido em 27/08/19.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Apresentado no Parecer consubstanciado nº 3.420.488 do CEP/SMS, emitido em 27/08/19.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Apresentado no Parecer consubstanciado nº 3.420.488 do CEP/SMS, emitido em 27/08/19.

**Recomendações:**

Não há.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

1) FOLHA DE ROSTO: apresentado o documento (FolhaRosto\_12\_07), postado na PB em 18/07/2019, no qual o pesquisador principal a justificativa para a pendência sobre a folha de rosto " a inclusão do orientador como pesquisador principal é uma exigência do Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos do Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do

Endereço: Rua Evaristo da Veiga, 16, 4º andar  
 Bairro: Centro CEP: 20.031-040  
 UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO  
 Telefone: (21)2215-1495 E-mail: cepsmz@yahoo.com.br



SECRETARIA MUNICIPAL DE  
SAÚDE DO RIO DE JANEIRO -  
SMS/RJ



## PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** EFETIVIDADE DA MARCAÇÃO COMBINADA DE p16 E Ki67 NA REFERÊNCIA DE MULHERES COM CITOLOGIA - ASC-US OU LSIL - PARA COLPOSCOPIA.

**Pesquisador:** Fabio Bastos Russomano

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 88831018.8.3002.5278

**Instituição Proponente:** Superintendência de Atenção Primária

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 3.544.908

#### Apresentação do Projeto:

Apresentado no Parecer consubstanciado nº 3.420.488 do CEP/SMS, emitido em 27/06/19.

#### Objetivo da Pesquisa:

Apresentado no Parecer consubstanciado nº 3.420.488 do CEP/SMS, emitido em 27/06/19.

#### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Apresentado no Parecer consubstanciado nº 3.420.488 do CEP/SMS, emitido em 27/06/19.

#### Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Apresentado no Parecer consubstanciado nº 3.420.488 do CEP/SMS, emitido em 27/06/19.

#### Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresentado no Parecer consubstanciado nº 3.420.488 do CEP/SMS, emitido em 27/06/19.

#### Recomendações:

Não há.

#### Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

1) FOLHA DE ROSTO: apresentado o documento (FolhaRosto\_12\_07), postado na PB em 16/07/2019, no qual o pesquisador principal a justificativa para a pendência sobre a folha de rosto " a inclusão do orientador como pesquisador principal é uma exigência do Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos do Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do

Endereço: Rua Evaristo da Veiga, 16, 4º andar

Bairro: Centro

CEP: 20.031-040

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2215-1495

E-mail: cepsmsr@yahoo.com.br



SECRETARIA MUNICIPAL DE  
SAÚDE DO RIO DE JANEIRO -  
SMS/RJ



Continuação do Parecer: 3.544.908

imediate (item V.3., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). Qualquer necessidade de modificação no curso do projeto deverá ser submetida à apreciação do CEP/SMS-RJ como emenda. Deve-se aguardar o parecer favorável do CEP/SMS-RJ antes de efetuar a modificação. Atentar para a necessidade de atualização do cronograma da pesquisa.

Caso ocorra alguma alteração no financiamento do projeto ora apresentado (alteração de patrocinador, modificação no orçamento ou copatrocínio), o pesquisador tem a responsabilidade de submeter uma emenda ao CEP/SMS-RJ solicitando as alterações necessárias. A nova Folha de Rosto a ser gerada deverá ser assinada nos campos pertinentes e entregue a via original no CEP/SMS-RJ.

O CEP/SMS-RJ deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (item V.5., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e ainda enviar notificação à ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, junto com seu posicionamento. Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas a este CEP/SMS-RJ, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

Acrescentamos que o participante da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (item IV.3 .d., da Resolução CNS/MS Nº 466/12) e deve receber uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (item IV.5.d., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

Ressaltamos que o pesquisador responsável por este Protocolo de Pesquisa deverá apresentar a este Comitê de Ética um relatório das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação (item X.1.3.b., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

Caso haja interrupção do projeto ou não publicação dos resultados, solicitamos justificar fundamentalmente ao CEP/SMS-RJ.

Este parecer possui validade de 12 meses a contar da data de sua aprovação.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_1363817.pdf	10/08/2019 13:37:38		Aceito

Endereço: Rua Evaristo da Veiga, 16, 4º andar

Bairro: Centro

CEP: 20.031-040

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2215-1485

E-mail: cepsmrj@yahoo.com.br



SECRETARIA MUNICIPAL DE  
SAÚDE DO RIO DE JANEIRO -  
SMS/RJ



Continuação do Parecer: 3.544.008

Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projetov1CEPRio_12_07.docx	16/07/2019 21:48:19	Fabio Bastos Russomano	Aceito
Parecer Anterior	PB_PARECER_CONSUBSTANCIADO_CEP_1FF.pdf	16/07/2019 21:45:53	Fabio Bastos Russomano	Aceito
Parecer Anterior	PB_PARECER_CONSUBSTANCIADO_CEP_3343508_E1.pdf	16/07/2019 21:45:40	Fabio Bastos Russomano	Aceito
Outros	Formulario_coleta_dados.docx	16/07/2019 21:45:25	Fabio Bastos Russomano	Aceito
Declaração de Pesquisadores	DeclaracaoNegCusteio_12_07.pdf	16/07/2019 21:44:56	Fabio Bastos Russomano	Aceito
Outros	Curriculum_Zonta.pdf	16/07/2019 21:44:40	Fabio Bastos Russomano	Aceito
Outros	Curriculum_Zilton.pdf	16/07/2019 21:44:27	Fabio Bastos Russomano	Aceito
Outros	Curriculum_Jucimaria.pdf	16/07/2019 21:43:26	Fabio Bastos Russomano	Aceito
Cronograma	Cronograma_10_07_19.docx	16/07/2019 21:43:02	Fabio Bastos Russomano	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	CartaRespostaPendencias_12_07.pdf	16/07/2019 21:42:42	Fabio Bastos Russomano	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_VI_02_07_19_CEP.pdf	16/07/2019 21:41:23	Fabio Bastos Russomano	Aceito
Folha de Rosto	FolhaRosto_12_07.pdf	16/07/2019 21:39:53	Fabio Bastos Russomano	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_V_CEPV.docx	17/12/2018 13:43:32	JUCIMÁRIA DANTAS GALVÃO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_IV_CEPV.docx	11/12/2018 08:47:25	JUCIMÁRIA DANTAS GALVÃO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_3_CEP.docx	23/11/2018 13:39:13	JUCIMÁRIA DANTAS GALVÃO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_2_CEP.docx	06/11/2018 14:54:46	JUCIMÁRIA DANTAS GALVÃO	Aceito
Outros	Carta_1910.pdf	19/10/2018 01:59:16	JUCIMÁRIA DANTAS GALVÃO	Aceito
Outros	Modelo_Projeto_cor.docx	04/09/2018 12:08:23	JUCIMÁRIA DANTAS GALVÃO	Aceito

Endereço: Rua Evaristo da Veiga, 16, 4º andar

Bairro: Centro

CEP: 20.031-040

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2215-1485

E-mail: cepsmrj@yahoo.com.br



SECRETARIA MUNICIPAL DE  
SAÚDE DO RIO DE JANEIRO -  
SMS/RJ



Continuação do Parecer: 3.544.008

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tERMO.pdf	04/09/2018 12:07:17	JUCIMÁRIA DANTAS GALVÃO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_cep.docx	04/09/2018 12:04:29	JUCIMÁRIA DANTAS GALVÃO	Aceito
Declaração do Patrocinador	Termo_doacao_Kolplast.pdf	04/09/2018 11:54:54	JUCIMÁRIA DANTAS GALVÃO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	04/09/2018 11:54:10	JUCIMÁRIA DANTAS GALVÃO	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIO DE JANEIRO, 30 de Agosto de 2019

---

Assinado por:  
Salesia Felipe de Oliveira  
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Evaristo da Veiga, 16, 4º andar

Bairro: Centro

CEP: 20.031-040

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2215-1485

E-mail: cepsmrj@yahoo.com.br

## ANEXO V



Pesquisador(a)	Instituição	Título do Projeto
Érica Maria Pellegrini Caramaschi	UFRJ	Peixes e crustáceos da maior floresta urbana reflorestada do mundo: da caracterização à conservação
Erika Cristina Gonçalves Agueiras	UFRJ	Síntese enzimática de levulinatos de alquila utilizando biocatalisadores não comerciais
Erika Michele Avelino Negreiros Gonçalves	UFRJ	Espaço Memorial Carlos Chagas Filho: Preservação da Memória e do Patrimônio Cultural Científico
Eustáquio José Reis	IPEA	A Riqueza da Nação nos Séculos XIX e XX
Eveline Lopes Almeida	UFRJ	Amido de babaçu ( <i>Attalea speciosa</i> ) modificado como estruturante de óleo vegetal para produção de recheio de biscoito zero trans, low sat e clean label
Evelize Folly das Chagas	UFF	TRANSFORMANDO REJEITOS DE BIOMASSAS EM SOLUÇÕES PARA O CONTROLE DE PRAGAS AGROPECUÁRIAS
Fabiano de Carvalho Balieiro	CNPQ	Quantificação e valoração dos serviços ecossistêmicos do solo em sistema integrados: transformando dados de pesquisa em valor para o produtor rural.
Fábio Aguiar Alves	UFF	Efeitos de peptídeos antimicrobianos contra amostras de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> que coinfetam pacientes com COVID-19
Fábio Barrozo do Canto	UFF	Papel da sinalização MyD88-dependente intrínseca ao linfócito B na dinâmica populacional e função supressora de células TREG CD4+Foxp3+ intestinais
Fabio Bastos Russomano	IFF-igueira	EFETIVIDADE DA MARCAÇÃO COMBINADA DE p16 E Ki67 NA REFERÊNCIA DE MULHERES COM CITOLOGIA ASC-US OU LSIL PARA COLPOSCOPIA
Fabio Coelho Amendoeira	FIOCRUZ	Avaliação de técnicas utilizando zebrafish ( <i>Danio rerio</i> ) na investigação da toxicidade de nanoestruturas com propriedades físico-químicas distintas.