

RUFFO DE FREITAS JÚNIOR

**PUNÇÃO ASPIRATIVA POR AGULHA FINA: ESTUDO
COMPARATIVO ENTRE DOIS DIFERENTES
DISPOSITIVOS PARA A OBTENÇÃO
DA AMOSTRA CITOLÓGICA**

Tese de Doutorado

**ORIENTADOR: Prof. Dr. GUSTAVO ANTONIO DE SOUZA
CO-ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. ELLEN ELIZABETH HARDY**

**UNICAMP
2001**

RUFFO DE FREITAS JÚNIOR

**PUNÇÃO ASPIRATIVA POR AGULHA FINA: ESTUDO
COMPARATIVO ENTRE DOIS DIFERENTES
DISPOSITIVOS PARA A OBTENÇÃO
DA AMOSTRA CITOLÓGICA**

Tese de Doutorado apresentada à Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do Título de Doutor em Tocoginecologia, área de Tocoginecologia

**ORIENTADOR: Prof. Dr. GUSTAVO ANTONIO DE SOUZA
CO-ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. ELLEN ELIZABETH HARDY**

**UNICAMP
2001**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

F884p

Freitas Júnior, Ruffo

Punção aspirativa por agulha fina: Estudo comparativo entre dois diferentes dispositivos para obtenção da amostra citológica / Ruffo Freitas Júnior. Campinas, SP : [s.n.], 2001.

Orientador : Gustavo Antonio de Souza, Ellen Elizabeth Hardy

Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Mamas. 2. Diagnóstico. 3. Citologia. I. Gustavo Antonio de Souza. II. Ellen Elizabeth Hardy. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

BANCA EXAMINADORA DA TESE DE DOUTORADO

Aluno: RUFFO DE FREITAS JÚNIOR

Orientador: GUSTAVO ANTONIO DE SOUZA

Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. ELLEN ELIZABETH HARDY

Membros:

1.

2.

3.

4.

5.

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

Data: 27/11/2001

Homenagem

À memória da Dra. Maria Antonieta Regal Dutra

Que Deus me dê serenidade para aceitar as coisas que não posso modificar. Que Deus me dê coragem para modificar as que posso e, principalmente, sabedoria para distinguir uma da outra.

Maria Antonieta Regal Dutra

Tivesse quem criou
O mundo desejado
Que eu fosse outro que sou,
Ter-me-ia outro criado.

Deu-me olhos para ver.
Olho, vejo, acredito.
Como ousarei dizer:
Cego, fora eu bendito?

Como o olhar, a razão
Deus me deu, para ver
Para além da visão –
Olhar de conhecer.

Fernando Pessoa

Dedicatória

Aos **alunos**
que sempre resgatam minha motivação pela pesquisa.

Aos meus filhos **Paola, Felipe e Laís**,
que de maneira simples me fazem perceber
o quanto é gostoso viver.

A **Nilceana**, companheira, amiga e mulher,
que não se importando com o tempo subtraído do nosso
convívio,
sempre incentivou para que o trabalho fosse concluído.

Aos meus pais **Ruffo e Iraydes**,
que por acreditarem, me deram a tranqüilidade
e segurança necessária para aqui chegar.

Às **pacientes**
que confiam seu bem mais valioso a nós médicos,
permitindo que possamos assisti-las e estudá-las.

Agradecimentos

Aos Mestres Dr. Aloísio S. S. Rodrigues, Mr. John Luiz Hayward, Professor Ian Stuart Fentiman, por me abrirem as portas para o fascinante mundo da pesquisa.

Ao Professor Dr. Gustavo Antonio de Souza, que sempre acreditou e me incentivou na continuidade do trabalho.

À Prof^a Dr^a. Ellen Hardy pela facilidade de iluminar o túnel nas horas críticas.

À Prof^a Dr^a. Marise Amaral Rebouças Moreira, meu especial agradecimento por ter-se dedicado de maneira incondicional a este trabalho. Certamente sem a sua “expertise”, abnegação, colaboração e doçura este trabalho jamais seria realizado.

Ao Dr. Richard Camplejohn, que acreditou que seria possível e desenvolveu parte da metodologia do estudo.

Ao amigo Paulo César Giraldo, pela acolhida durante todo o curso de pós-graduação e, principalmente, por compartilhar as idéias e os ideais.

Ao estatístico Sandro A. de Souza pela esmerada análise estatística.

Ao Prof. Antônio Luiz Maya pela atenciosa revisão ortográfica.

Às amigas da Assessoria Técnica e Científica do CAISM/UNICAMP Sueli Chaves, Fernanda Atibaia Fraguas, Maria do Rosário R. Zullo, Cylene Camargo, William Oliveira, Néder do Prado, Sueli Regina Silveira e Márcia Fussi, por todo o carinho, consideração e, acima de tudo, pelo profissionalismo com que trataram a presente obra, desde a correção final à editoração da mesma.

Aos Drs. Ana Neusa, Ov idio Rettori e Julia Tambascia, que além de sua amizade, acreditaram que a idéia poderia dar certo e não mediram esforços para sustentar a fase inicial de testes do dispositivo de autovácuo.

Aos colegas e amigos Amaurillo Monteiro, Francisco de Assis Freire Dourado, Estanislau de Araújo Jorge, Geraldo Silva Queiroz, Luiz Fernando Jubé Ribeiro, Rossana de Araújo Catão, Rubens José Pereira e Marco Aurélio da Costa e Silva pela colaboração e pelas críticas construtivas a respeito do trabalho.

Aos colegas do Setor de Mastologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás: Dr. Juarez Antônio de Sousa, Rosemar Macedo de Sousa e Antônio do Rosário Leite Filho, pela amizade e pelo estímulo incondicional ao crescimento científico.

Aos Professores Georthon Rodrigues Philocreon, Mariluzza Terra Silveira e Vardeli Alves de Moraes, Chefes do Departamento, que possibilitaram a continuação e término deste trabalho, além do marcante incentivo.

Aos Dr. Élbio Cândido de Paula, Dr^a. Rita de Cássia Alencar e demais patologistas do Hospital Araújo Jorge, que permitiram a utilização do material citológico para o estudo e pelo constante desejo de aprimoramento.

A Dr^a. Miriam A. S. Trevisam, do Departamento de Anatomia Patológica da FCM/ UNICAMP, pelo grande incentivo e acolhida nos momentos de desespero.

Ao Antônio Luiz Maya Júnior e Renata pela acolhida calorosa em sua casa.

Aos membros da equipe interprofissional do Programa de Mastologia do Hospital das Clínicas Vanir Fernandes Soares, Neuza Ferreira Melo Santos, Lúcia Taia, Maria Osneide Araújo Nunes, Nalu Ribeiro Macedo Santos e Ivaneska Domingos Pereira por toda a amizade, carinho e dedicação às pacientes.

Aos funcionários e amigos do Instituto de Ensino e Pesquisa da ACCG: Marta Maria Dias dos Santos, Valéria A. O. Ardigueire, Lucimar M. da Silva e Zélia P. Ramos.

Às Secretárias do Serviço de Ginecologia e Mama do Hospital Araújo Jorge: Maria Dalva da Silva Peixoto, Eva Ferreira do Couto e Lucimar Pereira da Silva, pela amizade e presteza durante a condução do trabalho.

À secretária e amiga Margareth Donadon do Departamento de Tocoginecologia da UNICAMP, que cuidou com carinho de cada passo durante o curso de pós-graduação, viabilizando o término do mesmo.

Ao aluno, discípulo e amigo Régis Resende Paulinelli que tomou a causa para si, tendo participado, ativa e intensamente de todos os processos e fases deste trabalho.

Aos médicos residentes do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da UFG e do Hospital Araújo Jorge da ACCG, pelo aprendizado conjunto e pelo constante incentivo no objetivo de prosseguir e tentar passos mais amplos.

Por fim, a todas as pacientes que tomaram parte no estudo, pelas e para as quais esse trabalho foi idealizado e colocado em prática, na esperança que em resposta, pudéssemos oferecer a elas um mundo um pouco melhor.

Este trabalho foi parcialmente custeado pelo Instituto de Ensino e Pesquisa da Associação de Combate ao Câncer em Goiás e pelo CNPq (bolsa de iniciação científica).

Sumário

Símbolos, Siglas e Abreviaturas	
Resumo	
Summary	
1. Introdução	1
1.1. A magnitude do problema	1
1.2. O diagnóstico do câncer de mama	4
1.3. A punção aspirativa por agulha fina	7
2. Objetivos	28
2.1. Objetivo geral	28
2.2. Objetivos específicos	28
3. Sujeitos e Métodos	30
3.1. Estudo ex vivo	31
3.2. Estudo in vivo	43
3.3. Coleta dos dados	51
3.4. Processamento dos dados	52
3.5. Análise Estatística	52
3.6. Aspectos Éticos	55
4. Resultados	57
4.1. Estudo ex vivo	57
4.2. Estudo in vivo	61
5. Discussão	71
6. Conclusões	92
7. Referências Bibliográficas	94
8. Bibliografia de Normatizações	113
9. Anexos	114
9.1. Anexo 1	114
9.2. Anexo 2	115
9.3. Anexo 3	116
9.4. Anexo 4	117
9.5. Anexo 5	118

Símbolos, Siglas e Abreviaturas

ACCG	Associação de Combate ao Câncer em Goiás
AFBM	Alteração funcional benigna da mama
AP	Anatomopatológico
Ca	Carcinoma
Ca <i>in situ</i>	Carcinoma <i>in situ</i>
Ca invasor	Carcinoma invasor
cito	Citologia
ColS	Colaboradores
CV	Coeficiente de variação
DI	Índice de DNA
DP	Desvio padrão
FM	Faculdade de Medicina
fase S	Fase de síntese celular
Fmol/ml	Fentomoles por mililitro de proteína citosólica
HE	Hematoxilina-eosina
HAJ	Hospital Araújo Jorge
HC/UFG	Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás

®	Marca registrada
mm	Milímetros
n	Número de pacientes
N Ca	Número de pacientes com câncer
NHSBSP	<i>National Health System Breast Screening Program</i> (programa de detecção precoce de câncer de mama da Inglaterra)
OMS	Organização Mundial de Saúde
PI	Iodine propídeo
PAAF	Punção aspirativa por agulha fina
Rand	Randomização
UICC	União Internacional de Combate ao Câncer

Resumo

A punção aspirativa por agulha fina (PAAF) tem sido mundialmente aceita na abordagem das lesões mamárias. Porém, alguns pontos ainda são controversos. Entre eles, está o método de punção a ser utilizado. OBJETIVO: Comparar os aspirados gerados pelo dispositivo de autovácuo com os da pistola de apreensão de seringa, através de citometria de fluxo e de citologia oncológica. SUJEITOS E MÉTODOS: O estudo foi dividido em duas partes distintas, sendo a primeira um ensaio em que a punção era realizada por ambos os métodos, na peça cirúrgica fresca, contendo tumor de mama *ex vivo*. Para a segunda parte foi conduzido um estudo randomizado, onde pacientes com nódulos mamários eram submetidas à PAAF, utilizando-se a pistola de apreensão ou o dispositivo de autovácuo *in vivo*. No estudo *ex vivo*, foram utilizadas 44 peças frescas, contendo tumores mamários. Em cada, peça procedeu-se a PAAF por ambas as técnicas. Posteriormente as mesmas foram fixadas e incluídas em parafina. Tanto os aspirados quanto o material histológico desparafinado foram preparados para citometria de fluxo. Utilizou-se um aparelho BD FACScan, com leitura de 10.000 células por exame. Para o estudo *in vivo*, 380 pacientes

com nódulos sólidos na mama foram submetidas à PAAF utilizando-se um dos dispositivos de punção, de forma aleatória. A leitura citológica foi feita por um único observador, sendo que 29 casos não foram vistos por ele e excluídos da análise. Posteriormente, 295 pacientes tiveram seus tumores ressecados. Para os 273 casos remanescentes analisou-se a acurácia para cada método, além da taxa de material insuficiente, celularidade, distorção celular e hemorragia de fundo. RESULTADOS: No estudo *ex vivo*, a citometria de fluxo mostrou que as médias do coeficiente de variação, do índice de DNA, da fase-S e da aneuploidia, foram semelhantes entre os aspirados da pistola e do autovácuo. A média de células aneuploides foi significativamente maior nos aspirados do autovácuo do que na peça cirúrgica (43,4 DP±23 vs 27,9 DP±17; p=0,04). No estudo *in vivo*, a taxa de material insuficiente foi de 16% e 22% (NS) para os aspirados do autovácuo e da pistola, respectivamente. A sensibilidade absoluta foi de 63% e 58%; a especificidade de 77% e 78% e a acurácia total de 76% e 75%, para o autovácuo e para a pistola, respectivamente. A celularidade, a distorção celular e o fundo hemorrágico também foram semelhantes entre os dois métodos. CONCLUSÃO: Os dois métodos de punção foram equivalentes para estudo de citometria de fluxo e citologia oncológica.

Summary

Fine needle aspiration cytology (FNAC) has been accepted worldwide as an approach to breast lesions. However, some points remain to be studied and even improved upon. The option for tap method is one of these points.

OBJECTIVE: Comparing the aspirates generated by the auto-vacuum device with those from the syringe pistol holder, through flow cytometry and cytology.

PATIENTS AND METHODS: The study was divided into two distinct parts, the first of which was a trial, in which taps, using both methods, were made in surgical specimens with *ex vivo* breast tumor. The second part consisted of a randomized trial in which patients with breast lumps underwent FNAC, both with the syringe pistol holder or the auto-vacuum device *in vivo*. In the *ex vivo* study, 44 fresh specimens with breast tumors were used. Each specimen was punched twice with a fine needle. At a later date, these specimens were fixated and preserved in paraffin. Both the aspirates and the histology material, without the paraffin coating, were prepared for flow cytometry. A BD FACScan, capable of reading 10,000 cells per test was used. For the *in vivo* study, 380 patients with solid breast lumps were randomized for either tap methods. A single individual

analyzed cytology tests, and 29 cases were excluded from the analysis because the designated observer did not see them. At a later date, 295 patients had their tumors removed. For the remaining 273 cases, the accuracy for each method, as well as the percentage of insufficient material, cellularity, cellular distortion and background hemorrhage were analyzed. **RESULTS:** In the ex vivo study, flow cytometry showed that the means for CV, DNA index, S-phase fraction and aneuploidy were similar for aspirates obtained with the auto-vacuum device or the syringe pistol holder. The mean of aneuploidy was significantly higher in the auto-vacuum device aspirates than in the surgical specimen (43,4 SD±23 vs 27,9 SD±17; p=0,04). The averages for the CV, DNA index and for the S-phase were similar between the aspirates and the surgical specimen. In the in vivo study, the percentage of insufficient material was 16% and 22% (NS), for the auto-vacuum and the gun aspirates, respectively. Absolute sensitivity was 63% and 58%; specificity was 77% and 78% and the total accuracy was 76% and 75% for the auto-vacuum and the gun, respectively. Cellularity, cellular distortion and background hemorrhage were also similar in both methods. **CONCLUSION:** Both FNAC methods were equivalent for flow cytometry and cytology tests.

1. Introdução

1.1. A magnitude do problema

O câncer de mama é a neoplasia maligna mais comum nas mulheres da Europa e América do Norte (KEYS, BAKEMEIER, SAVLOV 1983). Nesses locais, ela é responsável por aproximadamente 4% de todos os óbitos, 20% dos óbitos por malignidade e 25% de todos os casos de câncer do sexo feminino (HAAGENSEN, 1986; SONDIK, 1994; BECKER, 1998). No Brasil, apesar de menores, os números também mostram uma tendência similar, sendo que, nos anos de 1979 e 1980, o carcinoma mamário foi responsável por 0,5% de todos os óbitos, 6% de óbitos entre todas as neoplasias e 13% de óbitos por neoplasias em mulheres. Nesse período, a mortalidade pelo câncer de mama só foi superada pela causada por tumores uterinos (BRASIL, 1979; 1980).

De acordo com as estimativas de 1999, as neoplasias foram a terceira maior causa de óbitos no país, ficando abaixo apenas das doenças cardiovasculares e das causas externas (BRASIL, 1999). A taxa bruta de mortalidade por câncer

de mama já é a maior entre os vários tumores na mulher, sendo que para 2001 é esperado que ela seja de 9,99/100.000 (BRASIL, 2001).

A taxa de mortalidade por câncer de mama, em alguns países da Europa e da América do Norte, ao contrário da situação acima mostrada, tem decrescido na última década (LEVI et al., 2001; HOWE et al., 2001). Nos países do oeste europeu, a mortalidade das mulheres com câncer de mama, diagnosticadas entre 20 e 49 anos, decresceu em 16%, sendo que na maioria dos países daquela região, a mortalidade reduziu de 12 para 10 por 100.000 mulheres ao ano (LEVI et al., 2001). Já nos Estados Unidos a redução dessa taxa tem diminuído 1% ao ano, sendo que nos últimos cinco anos, a redução passou a ser de 3,5% ao ano. Entretanto, esse fato só foi observado para a população feminina branca (HOWE et al., 2001).

A incidência do câncer de mama em mulheres pode refletir melhor a grandeza da doença quando comparada à mortalidade, mas é fundamental que esta taxa seja obtida com rigor. A incidência do câncer mamário sofre enorme diferença geográfica, variando de 12/100.000 mulheres no Japão até 120/100.000 mulheres nos Estados Unidos (HENDERSON, 1993; CHAGAS, 1994). Estas diferenças têm levado a classificação dos países em três grupos: de alta incidência, são considerados aqueles que apresentam taxas superiores a 39/100.000; média incidência, aqueles com taxa entre 15 e 39; e de baixa incidência, os países abaixo de 15 (HARDY, PINOTTI, FAÚNDES, 1983; CHAGAS, 1994). Deste modo, são considerados países de alto risco aqueles da Europa e América do Norte, enquanto são de baixo risco os da África, América Latina e Ásia (HAAGENSEN,

1986; CHAGAS, 1994). Acredita-se que o principal fator seja a diferença alimentar e cultural entre os povos (HAAGENSEN, 1986; ROHAN & BAIN, 1987), além, evidentemente, de fatores genéticos, raciais e exatidão das estatísticas de cada região (STOLL, 1991; HENDERSON, 1993; KATO, TONIOLO, KOENIG, 1999).

Parte desse aumento tem sido ocasionado pelas incontestáveis mudanças no estilo de vida da mulher contemporânea. Diferente daquela que viveu no início do século XX, a mulher hoje apresenta menarca mais precocemente, possui uma prole menor, um período menor de amamentação, planeja filhos após os 30 anos e faz uso de manipulação hormonal exógena. De tal sorte que, de 30 a 40 ciclos menstruais que a mulher tinha em toda sua vida no início do século, ela passou a ter de 300 a 400 nos dias atuais. Toda essa alteração no perfil hormonal feminino acaba por influenciar diretamente o epitélio mamário, tornando-o mais instável em relação à carcinogênese (PINOTTI, HARDY, FAÚNDES, 1984; RUSSO & RUSSO, 1993).

No Brasil, a partir de 1976 começaram a ser coletadas informações sobre o câncer de mama e, com base nos dados obtidos entre 1976 e 1980, já eram observadas taxas bastante distintas em cada região. Naquele período, a incidência da neoplasia mamária na Região Sudeste, encontrava-se em níveis moderados (aproximadamente 16/100.000 mulheres), ao passo que as Regiões Sul e Nordeste, apresentavam taxas ainda menores (9/100.000 e 4/100.000, respectivamente), se assemelhando a países de baixa incidência (HARDY et al., 1983).

Com a criação dos Registros de Câncer de Base Populacional de Porto Alegre, São Paulo, Goiânia, Fortaleza e Belém, desde meados da década de 80, os dados referentes ao câncer, no Brasil, têm sido bastante fidedignos (CURADO, 1990). Através deles pode-se observar o mesmo padrão que nas demais localidades do globo, com a curva de mortalidade por câncer de mama inalterada e um aumento significativo na taxa de incidência da neoplasia mamária (BRASIL, 1999).

1.2. O diagnóstico do câncer de mama

O diagnóstico do câncer de mama está entre os fatores que têm causado preocupação aos pesquisadores, aos médicos e à sociedade. A falta de cultura, de orientação e de recursos financeiros e humanos, faz com que vários casos de câncer de mama sejam detectados nos estádios avançados da doença, nos quais as chances de mutilação e morte passam a ser significativamente maiores (FREITAS Jr. et al., 1996a; SILVEIRA Jr. et al., 1996).

Em estudos de instituições brasileiras, vislumbra-se uma situação crítica, na qual aproximadamente 50% a 75% dos casos de câncer de mama, diagnosticados nos serviços especializados de norte a sul do país, apresentam-se nos estádios III e IV. Isto gera um enorme custo psicológico, social e econômico (CYPRIANO et al., 1988; FERNANDES, OLIVEIRA, FERNANDES, 1988; CALDEIRA & BUDIN, 1995; CEZAR Jr., 1996).

Nos países desenvolvidos, programas populacionais de detecção precoce do câncer de mama (programas de *screening*), com mamógrafos de alta resolução, têm oferecido três pontos importantes: aparelhamento dos diversos centros, com educação médica continuada, onde se pode oferecer mamografia adequada; maior número de diagnósticos da doença nos estádios precoces e, redução na taxa de mortalidade para mulheres acima de 50 anos, em aproximadamente 30%. Nesses locais, a taxa de diagnóstico de lesões avançadas tem sido inferior a 10% do total dos casos de câncer de mama (KERLIKOWSKA et al., 1995; HOWE et al., 2001; LEVI et al., 2001; SANT et al., 2001).

Ainda distante dessa situação, não há no Brasil uma política adequada visando ao diagnóstico precoce do câncer de mama e, possivelmente, por mais um longo período não haverá condições ideais de iniciar estudos com custos elevados. Desta forma, tanto o governo quanto as sociedades filantrópicas e privadas, envolvidas com esse problema, têm estimulado as campanhas de auto-exame e orientação das comunidades que, por serem simples, de baixo custo e de fácil acesso, podem beneficiar grande parte da população brasileira (ALVARENGA et al., 1998).

Entretanto, apesar de divulgado regularmente pela mídia, o auto-exame, com posterior diagnóstico precoce do câncer de mama, ainda não atingiu plenamente seu objetivo, uma vez que, apenas 50% da população conhecem o auto-exame e, somente 30% o praticam regularmente (FREITAS Jr. et al., 1996a).

Mesmo com todas as dificuldades apontadas, de acordo com os dados do Registro de Câncer de Base Populacional de Goiânia (CURADO, 1990), na última década houve uma redução significativa na média do tamanho dos tumores de mama diagnosticados nas moradoras de Goiânia. Assim em 1988, a média do tamanho tumoral ao diagnóstico era de 3,6cm, tendo caído para aproximadamente 2,8cm no ano de 1996. Outro fato marcante foi a mudança que tem ocorrido no perfil do diagnóstico em relação ao estadiamento do câncer de mama. De tal forma que, em 1988, para cada caso de lesão inicial eram diagnosticados cinco casos de lesões avançadas e, em 1996, foi diagnosticado um caso de lesão avançada para cada dois casos de lesões iniciais (BIAZUS et al., 1999) (Figura 1).

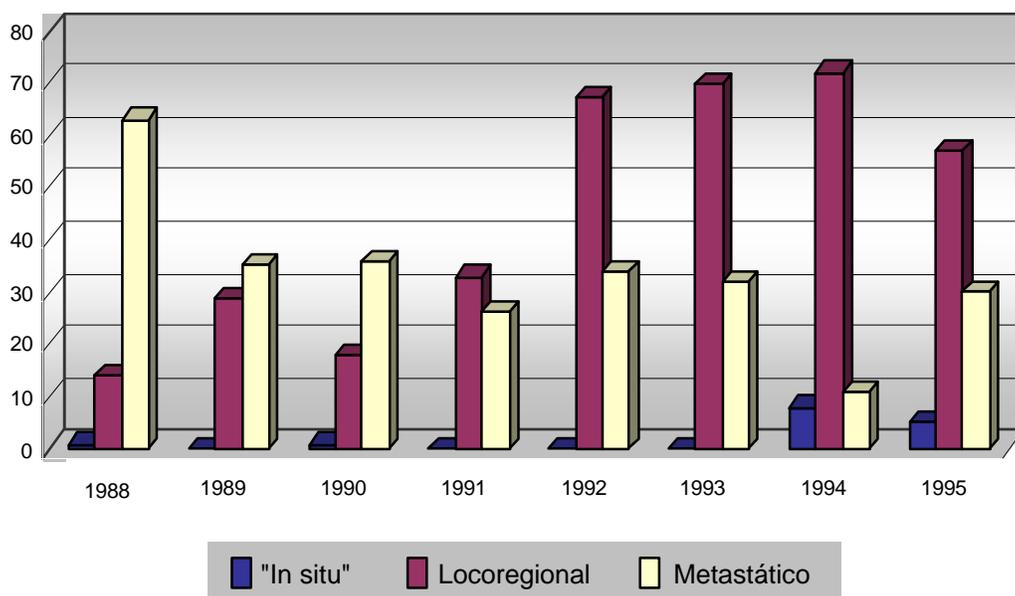


Figura 1. Perfil do diagnóstico dos tumores malignos da mama feminina, na população de Goiânia, entre 1988 e 1995. (CURADO, 1990).

Para a detecção dos tumores da mama, a associação entre o exame físico, realizado por profissional experiente, a mamografia de alta resolução (seguida de ultra-som quando necessário) e a punção aspirativa por agulha fina fazem a base para o diagnóstico da vasta maioria das lesões mamárias palpáveis (tripé diagnóstico ou tríplice diagnóstico), fazendo com que, em conjunto, a acurácia da detecção seja muito alta (VETTO et al., 1996; BASO BREAST SPECIALTY GROUP, 1998; WANG & DUCATMAN, 1998).

Apesar da melhora já existente, ainda é grande o número de lesões mamárias palpáveis e, para uma abordagem adequada é necessário que sejam associados os vários recursos propedêuticos existentes, justificando a continuação de pesquisas com validação de testes de detecção, que possam melhorar ainda mais o perfil do diagnóstico.

1.3. A punção aspirativa por agulha fina

1.3.1. O que é a punção aspirativa por agulha fina (PAAF)?

Este método consiste de um procedimento ambulatorial simples, de baixo custo, baseado no uso de uma agulha de fino calibre (com diâmetro interno que varia de 0,6 a 0,8mm - 21G a 23G). A agulha é introduzida na pele, em direção à lesão, com o intuito de coletar células para posterior avaliação de sua morfologia, quantidade e distribuição, através de exame citológico (FRANZÉN & ZAJICEK, 1968; SCHÖNDORF, 1978; CATANIA & CIATTO, 1992; PAULINELLI, FREITAS Jr.; MOREIRA, 1998).

1.3.2. Histórico

A exploração puntiforme de massas superficiais tem sido empregada esporadicamente desde o início do século XIX. Técnicas utilizando agulhas grossas ou instrumentos perfurantes foram usados para a exploração de tumores sólidos, ou ainda, para a drenagem de coleções mamárias infectadas (PLUCHINOTTA, 1992).

Entretanto, somente após os estudos pormenorizados de Sir ASTLEY COOPER, quando se passou a ter um entendimento mais adequado das lesões fibrocísticas e dos tumores sólidos da mama (¹COOPER, 1829), é que ²BRODIE, ainda na primeira metade do século XIX, começou a utilizar a punção aspirativa em massas mamárias, como um teste sistemático para o diagnóstico das lesões mamárias. Em seu trabalho, BRODIE descreveu que alguns tumores císticos desapareceram e que alguns se refizeram após a punção. Ele também observou que alguns tumores malignos puncionados evoluíram com ulceração cutânea. Sua descrição do exame físico associado à punção foi bem detalhada, mostrando que os cistos eram móveis, bem definidos e, geralmente, múltiplos e que as lesões serocísticas poderiam ser facilmente identificadas como carcinomas grosseiros. Alguns dos critérios por ele estabelecidos continuam sendo utilizados ainda hoje no diagnóstico diferencial entre nódulos císticos e carcinomas.

¹ COOPER, 1829 apud PLUCHINOTTA, A. - Historical introduction. In: CATANIA, S & CIATTO, S.- **Breast cytology in clinical practice**. Martin Dunitz, Londres, 1992: 1-7.

² BRODIE, 1840 – apud PLUCHINOTTA, A. - Historical introduction. In: CATANIA, S & CIATTO, S.- **Breast cytology in clinical practice**. Martin Dunitz, Londres, 1992: 1-7.

Ainda sem um desenvolvimento adequado da microscopia ótica, em 1847,³KUN descrevia um outro instrumento para o diagnóstico de tumores através da utilização de agulhas. Em seu trabalho, afirmava que era possível coletar material para ser examinado microscopicamente (PLUCHINOTTA, 1992).

Em 1853, ⁴DONALDSON publicou um trabalho a respeito das aplicações práticas da microscopia no diagnóstico do câncer. Esse estudo foi baseado na observação microscópica de células em fluídos como o escarro, no qual o autor descreveu algumas alterações no núcleo e na morfologia de diferentes tipos celulares (PLUCHINOTTA, 1992).

Já com a aquisição do conhecimento de várias características das células neoplásicas, WARD (1914), recomendou o uso de aspiração por agulha nos linfonodos, com o intuito de diagnosticar linfoblastomas.

Para lesões da mama, MARTIN & ELLIS (1930) foram os pioneiros da técnica, no Memorial Hospital de Nova York. Em 1933, STEWART, examinando 500 punções de mama, defendeu seu uso para a diferenciação entre necrose gordurosa, fibroadenoma, abscesso e carcinoma (STEWART, 1933).

Apesar desses trabalhos a PAAF ficou restrita a poucos centros nos Estados Unidos, durante muitos anos, principalmente pelo medo de que tal procedimento

³ KUN, 1847 apud PLUCHINOTTA, A. - Historical introduction. In: CATANIA, S & CIATTO, S.- **Breast cytology in clinical practice**. Martin Dunitz, Londres, 1992: 1-7.

⁴ DONALDSON, 1853 apud PLUCHINOTTA, A. - Historical introduction. In: CATANIA, S & CIATTO, S.- **Breast cytology in clinical practice**. Martin Dunitz, Londres, 1992: 1-7.

pudesse disseminar células neoplásicas, tanto local quanto sistemicamente (SCHÖNDORF, 1978).

Embora na América a PAAF tenha demorado a ser aceita como um método diagnóstico confiável e seguro, na Europa, graças aos trabalhos de FRANZÉN & ZAJICEK (1968), o procedimento foi bastante difundido durante os anos cinquenta. Desde então, vem sendo utilizada rotineiramente como método auxiliar no diagnóstico de tumores sólidos, e, juntamente com o exame físico e a mamografia, passou a ser conhecido como "diagnóstico tríplice", utilizado no reconhecimento das neoplasias mamárias (AZZARELLI et al., 1983; WANG & DUCATMAN, 1998; FREITAS Jr. et al., 1995; VETTO et al., 1995).

1.3.3. Aplicabilidade da PAAF

Apesar da punção aspirativa por agulha fina ter sido parcialmente substituída pelas punções histológicas por agulha grossa no diagnóstico de tumores suspeitos da mama, ainda continuam existindo várias situações clínicas em que a PAAF pode ser empregada. Embora o diagnóstico seja a sua aplicação mais importante, ela também vem sendo utilizada com outros objetivos (ADYE, JOLLY, BAUERMEISTER, 1988; MARTELLI, PILOTTI, LEPERA, 1989; FREITAS Jr. et al., 1995; FABIAN et al., 2000; MOORE et al., 2000; SUN et al., 2001).

Uma das aplicações mais comuns é o seu uso nos nódulos císticos. A PAAF pode diferenciar imediatamente um nódulo cístico de um sólido e, ao mesmo tempo, age como tratamento definitivo do primeiro (FREITAS Jr., RAMOS,

FREITAS, 1993; KEMP et al., 2001). Já, a aspiração de pus, pode distinguir instantaneamente um abscesso de mama de um carcinoma inflamatório e, por vezes, permite também a identificação do agente etiológico (FREITAS Jr., FAGNANI, STERBLITCH, 1989).

O uso do método em mulheres jovens, que apresentam tumores com características clínicas de benignidade, porém, que estão ansiosas por evitar cicatrizes ou que tem fibroadenomas recorrentes, podem, seguramente, após uma citologia com celularidade adequada, ser acompanhadas sem intervenção cirúrgica (CANT, LEARMONTH, DENT, 1988). Em circunstâncias onde a cirurgia será realizada, o cirurgião, diante de uma citologia negativa para malignidade, poderá retirar pouco ou nenhum tecido normal ao redor da lesão, o que provavelmente, produzirá um melhor resultado cosmético (FREITAS Jr., HAMED, FENTIMAN, 1992b.).

Na presença de um tumor clinicamente suspeito, em que uma biópsia excisional ou incisional será realizada, a PAAF poderá ser previamente utilizada para planejar uma melhor abordagem, após discussão com a paciente e com os outros membros da equipe (ZAJICEK, 1979).

Uma indicação vantajosa é feita na investigação de mulheres na menacme, que apresentam nodularidade unilateral localizada ou espessamento, que possa vagamente lembrar uma neoplasia. Embora essas alterações sejam, na grande maioria, provenientes de condições benignas, algumas vezes, o câncer não pode ser excluído, pois a clínica e a radiologia podem se equivocar (BENNETT, FREITAS Jr., FENTIMAN, 1991). Assim, nesses casos, a PAAF pode ser de

grande valia (MAYGARDEN, McCALL, FRABLE, 1991; FREITAS Jr. et al., 1992b.).

Para o estudo de fatores de prognóstico para o câncer de mama, tem sido descrito que ao se utilizar aspirados coletados pela PAAF, pode-se proceder a exames pela imuno-histoquímica, com possibilidade de dosagens bastante confiáveis de receptores de estrogênio e progesterona, proteína p53 e, até mesmo, mensuração da ploidia celular e da percentagem de células na fase de síntese, pela citometria de fluxo. Ao se estabelecer os critérios prognósticos pela PAAF, antes do tratamento, este poderia ser norteado pelos fatores encontrados na citologia (MAGDELENAT et al., 1987; HALL et al., 1991; VIELH et al., 1992; ANAN et al., 1998; MOORE et al., 2000).

Mais recentemente, foi sugerido que a PAAF, realizada de forma aleatória na região periareolar, pode também auxiliar na composição do risco do desenvolvimento do câncer de mama para candidatas a estudos de prevenção primária do câncer de mama (FABIAN et al., 2000).

Enfim, no momento, o uso da PAAF tem sido tão difundido que em recente pesquisa entre os ginecologistas do Estado de Goiás, ao serem questionados a respeito do que fazer diante uma paciente com nódulo mamário, 57% responderam que procedem a PAAF no próprio consultório (FREITAS Jr. et al., 2001). Em estudo semelhante nos Estados Unidos, observou-se que em 73%, dos 133 hospitais pesquisados, está aumentando o número de punções por agulha fina e que em somente 11% das instituições esse procedimento vem perdendo espaço para outras formas de biópsias mamárias (GUPTA, MOONEY, LAYFIELD, 2000).

1.3.4. Segurança da PAAF

Grande parte da boa aceitabilidade da PAAF deve-se ao seu baixo índice de complicações. Dentre elas, alguns problemas merecem consideração.

A contaminação do trajeto da agulha por células neoplásicas, foi o principal motivo da demora da aceitação do procedimento em vários países (HOLM & HANCKE, 1980; SACCHINI et al., 1989). Essa resistência foi quebrada com a evidência de que as células neoplásicas têm dificuldade em sobreviver em condições desfavoráveis de suprimento sanguíneo (BONO & CATANIA 1992). Assim, mesmo que células neoplásicas possam contaminar o trajeto da agulha (SACCHINI et al., 1989; FREITAS Jr., 1994), tem sido demonstrado que tanto a sobrevida total quanto a sobrevida livre da doença não são afetadas pela PAAF, quando comparadas a outros procedimentos diagnósticos para o câncer de mama (BERG & ROBBINS, 1962; TAXIN, TARTTER, ZAPETTI, 1997).

O hematoma é outro problema que pode advir com a PAAF (SCHÖNDORF, 1978; OERTEL, 1987). Apesar de não se tratar de uma complicação grave, ele pode levar a dificuldades no diagnóstico por imagem, uma vez que o extravasamento de sangue ao redor da lesão pode provocar distorções ou borramento das margens de lesões, causando confusão diagnóstica (SICKLES et al., 1983; HOROBIN et al., 1992).

O pneumotórax é a complicação mais severa, porém, rara, ocorrendo em 1:10.000 casos puncionados (CATANIA & CIATTO, 1992). Existe maior probabilidade de ocorrer em mulheres com mamas pequenas ou quando nódulos

mamários periféricos e linfonodos axilares são aspirados. Examinadores mais experientes podem ter uma chance maior de provocá-lo, uma vez que os principiantes na técnica tendem a ser mais cautelosos, não aprofundando a agulha em demasia (GATELEY, MADDOX, MANSEL, 1991; CATANIA & CIATTO, 1992; KAUFMAN et al., 1994).

Apesar de descritas, as complicações são muito pouco freqüentes, fazendo com que a PAAF possa ser executada ambulatorialmente, com tranqüilidade e segurança, por diferentes especialistas (OERTEL, 1987).

1.3.5. Acurácia da PAAF

Tanto a precisão quanto a confiabilidade da PAAF dependem de alguns aspectos relacionados ao tumor, tais como: o tamanho, a mobilidade e a localização (AZZARELLI et al., 1983). Esses fatores atribuem um certo grau de dificuldade na realização do exame, o que certamente pode influenciar sua precisão diagnóstica, não obstante, fundamentalmente, a acurácia estará diretamente relacionada à boa coleta do material, bem como à leitura citológica criteriosa. Ambos os passos devem ser realizados por profissionais experientes e afeitos ao método (AL-KAISI, 1994; FREITAS Jr. et al., 1995; ABELE et al., 1998).

Na mama, por exemplo, a ampla mobilidade de alguns tumores pode fazer com que o mesmo não seja atingido pela agulha. Isso também tem sido relatado para tumores pequenos ou localizados em regiões mais profundas da mama (AZZARELLI et al., 1983; BARROWS et al., 1986; PATEL et al., 1987).

Por outro lado, já foram bem documentadas a importância da curva de aprendizado do método, e sua interferência na acurácia do mesmo (FURNIVAL et al., 1975; BARROWS et al., 1986). Assim, a medida que ambos, o punccionador e o citologista ganham experiência, há uma melhora progressiva na acurácia e confiabilidade do exame.

A acurácia da PAAF, de acordo com diferentes séries, é mostrada na Tabela 1.

TABELA 1
Acurácia da PAAF de acordo com diferentes séries

Autor/ano	n	n Ca	Sensibilidade	Especificidade
FRANZEN & ZAJICEK, 1968	1.680	873	86	97
ZAJDELA et al., 1975	2.772	1.745	88	99
KLINE, JOSHI, NEAL, 1979	3.545	368	90	98
PILOTTI & RIKE 1982	1.173	534	67	98
ULANOW, GALBLUM, CANTER 1984	449	156	88	98
FRABLE, 1984	853	297	88	97
SOMERS & YOUNG, 1985	369	96	89	99
WANEBO & FELDMAN 1985	398	139	90	100
SMALLWOOD & HERBERT 1985	480	276	95	100
SMITH & BUTLER, 1988	590	133	85	100
PREECE et al., 1989	674	171	85	99
FREITAS Jr et al., 1996a	42	36	97	100
ROCHA, NADKARNI, MENEZES, 1997	600	106	94	98
FEICHTER et al., 1997	313	167	90	99
DOMINGUEZ et al., 1997	427	169	93	96
ARISIO et al., 1998	4110	860	94	99
MÉDIA			88	98

1.3.6. A citometria de fluxo utilizando aspirados da PAAF

A citometria de fluxo é, por definição, a medida (metria) das propriedades celulares (cito), feita quando as células dispersas em uma solução, após serem coradas com fluorocromos apropriados, são orientadas em um fluxo tubular e interceptadas, uma a uma, por um feixe de luz, geralmente raio laser. A luz dispersada é coletada por um sistema óptico, de lentes e espelhos, e dividido em vários componentes, caso mais de um corante seja utilizado. Através de detectores os componentes fluorescentes são convertidos em sinais eletrônicos, os quais são processados e transformados em dados para armazenamento e análise, gerados por programas de informática (MELAMED et al., 1990; ORMEROD, 1994). O grande número de dados gerados não pode ser processado adequadamente sem o auxílio de programas (*softwares*), desenhados especificamente para esse fim (ORMEROD, 1994).

O estudo celular realizado pela citometria de fluxo é fundamentado na capacidade do DNA ser marcado de forma estequiométrica pelo fluorocromo, ou seja, a quantidade do agente observado é diretamente proporcional à quantidade de DNA existente na célula (BARBOSA, 1995).

A importância da citometria de fluxo decorre da habilidade do método de medir vários parâmetros de milhares de células, individualmente, em poucos minutos. Desta maneira, ela pode ser utilizada para definir e enumerar adequadamente subpopulações celulares (ORMEROD, 1994). Outra grande

vantagem é o fato de não haver necessidade do uso de marcadores radioativos ou tóxicos (BARBOSA, 1995).

Dentro dos parâmetros que podem ser mensurados via citometria de fluxo estão o DNA, o RNA e o conteúdo total de proteínas, usando anticorpos monoclonais. Em adição, vários outros aspectos do metabolismo celular podem ser mensurados, como o pH intracelular, além do transporte de cálcio e enzimas cinéticas (MELAMED et al., 1990; ORMEROD, 1994; BARBOSA, 1995).

A mensuração de DNA foi uma das primeiras aplicações da citometria de fluxo e, ainda hoje, continua entre as mais usadas. Dois parâmetros principais podem ser extraídos dos histogramas de DNA, gerados pelo exame: o conteúdo do DNA e o estudo da cinética celular (ORMEROD, 1994; BARBOSA, 1995).

A análise do conteúdo do DNA envolve duas áreas fundamentais. A primeira permite a avaliação do estado da ploidia das populações celulares normais e anormais. As células normais têm, geralmente, um conteúdo de DNA igual a 2N (diploide). Em contrapartida, as células malignas, freqüentemente, apresentam uma quantidade de DNA diferente de 2N (aneuploide), refletindo a perda ou ganho de DNA, resultante de mutações cromossômicas, tanto por ampliações, quanto por deleções (ORMEROD, 1994; BARBOSA, 1995).

A segunda área de análise do DNA é dependente do estudo dinâmico da cinética celular, através da quantificação das células entre os vários estágios do ciclo celular, particularizando o percentual de células presentes na fase S, onde ocorre a replicação do DNA. Esse tipo de avaliação possibilita um melhor

conhecimento da atividade proliferativa da população celular estudada, permitindo informações a respeito do diagnóstico, prognóstico e monitorização da resposta do tumor à terapêutica, uma vez que, nem todas as células malignas apresentam-se no mesmo estágio proliferativo no ciclo celular (BARBOSA, 1995).

A técnica da citometria de fluxo é rápida, na qual de 100 a 10.000 células podem ser estudadas por segundo. Assim, as mensurações obtidas a partir do exame têm uma alta precisão estatística e podem ser produzidas rapidamente. Não obstante, um pré-requisito para a leitura do laser, em fluxo, é a suspensão de células isoladas. Dessa forma, no estudo de tumores sólidos, um dos passos mais importantes será a desagregação das células tumorais (ORMEROD, 1994).

Para a realização da citometria de fluxo, utiliza-se material coletado do próprio tumor. Inicialmente, utilizou-se material preparado a partir de tecido tumoral fresco, congelado em nitrogênio líquido (EWERS et al., 1991; BARBOSA, 1998). A seguir, uma série de estudos mostrou que era factível a utilização de material arquivado em parafina, o que facilitaria o estudo de sobrevivência de pacientes portadores de câncer, uma vez que seria possível examinar peças ressecadas há anos (HEDLEY et al., 1984; CAMPLEJOHN, MACARTNEY, MORRIS, 1989; NOGUCHI et al., 1991; WITZIG, GONCHOROFF, THERNEAU 1991).

Posteriormente, foram iniciadas as tentativas de se estabelecer o uso da citometria de fluxo a partir do uso de aspirados provenientes de PAAF. Após a tentativa com vários métodos, no final da década de 80, alguns estudos comparativos entre a utilização de material incluído em parafina, com aspirados

provenientes de PAAF, mostraram uma alta correlação e concluíram que os resultados obtidos pela citometria de fluxo, utilizando aspirados da PAAF, eram bastante confiáveis, tanto para verificação da ploidia quanto para a mensuração da fase S (LEVACK et al., 1987; KLEMI & JOENSUU, 1988).

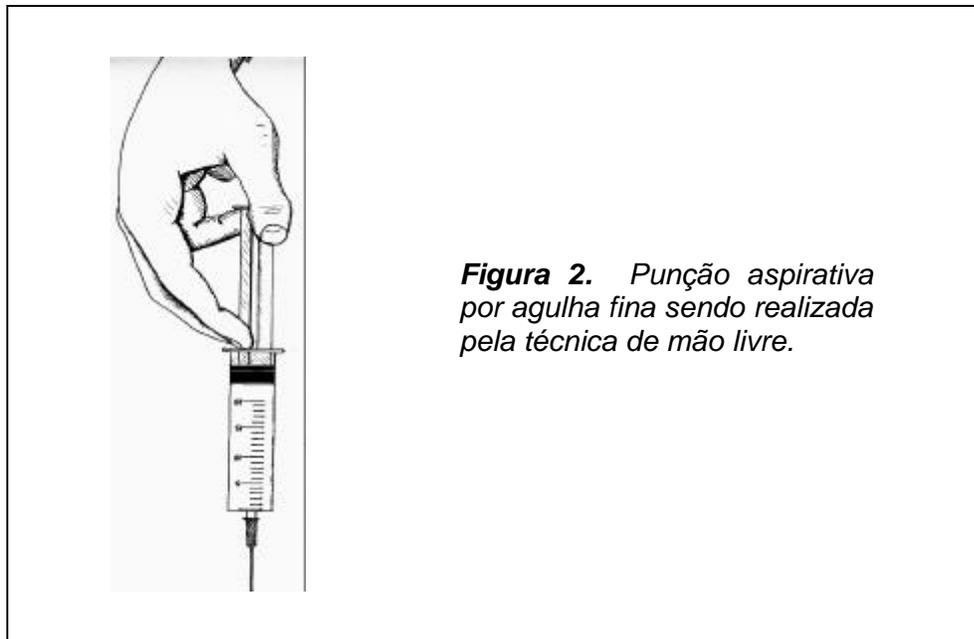
Na década de 90, já partindo do princípio de que os resultados da citometria de fluxo eram confiáveis a partir dos aspirados, os pesquisadores passaram a concentrar seus esforços na obtenção de resultados relacionados ao prognóstico do câncer e à possibilidade de resposta à terapia sistêmica neo-adjuvante (SPYRATOS et al., 1992; MARTELLI et al., 1993; BOZZETTI et al., 1997).

1.3.7. Métodos para a realização da PAAF

A punção aspirativa por agulha fina, apesar de prática e técnica simples, apresenta certas peculiaridades que devem ser consideradas durante sua realização (CATANIA & CIATTO, 1992).

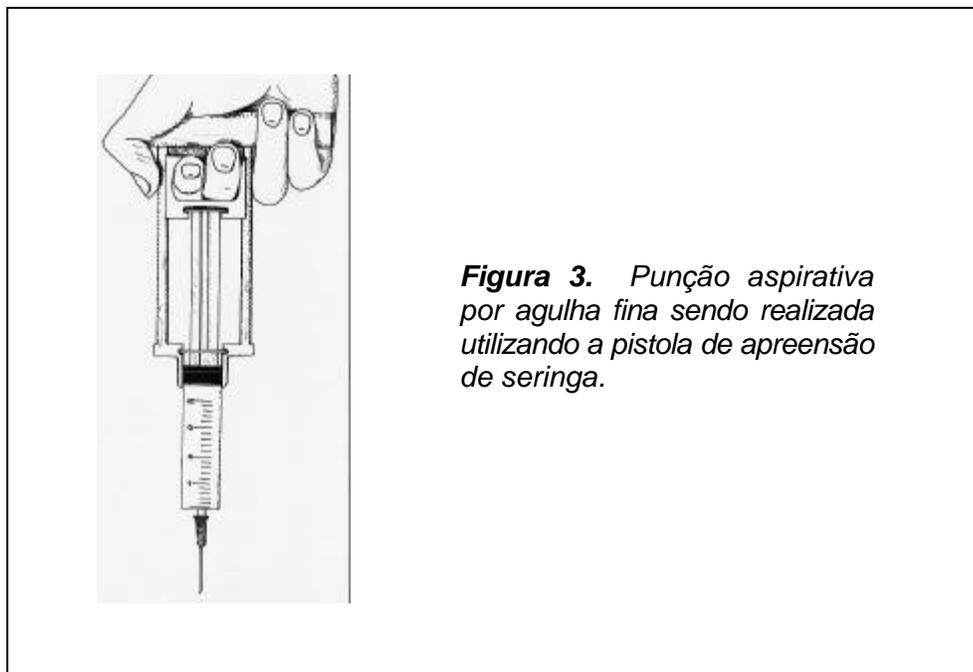
Na técnica à mão livre, a mobilidade dos tumores mamários exige que o examinador mantenha uma das mãos fixando o nódulo. Assim, ele contará com apenas uma mão para segurar a seringa, tracionar o êmbolo (gerando pressão negativa no interior da seringa) e fazer movimentos de vaivém em leque, na tentativa de atingir o tumor (Figura 2). Três manobras simples, se realizadas separadamente, contudo, quando em conjunto, ora a aspiração pode ser maior, ora menor, além de que a tração sobre o êmbolo, por vezes, poderá desviar a atenção do puncionador, desviando também o direcionamento da agulha. Estes

fatos podem diminuir a precisão do método (CATANIA & CIATTO, 1992; FREITAS Jr. et al., 1992b).



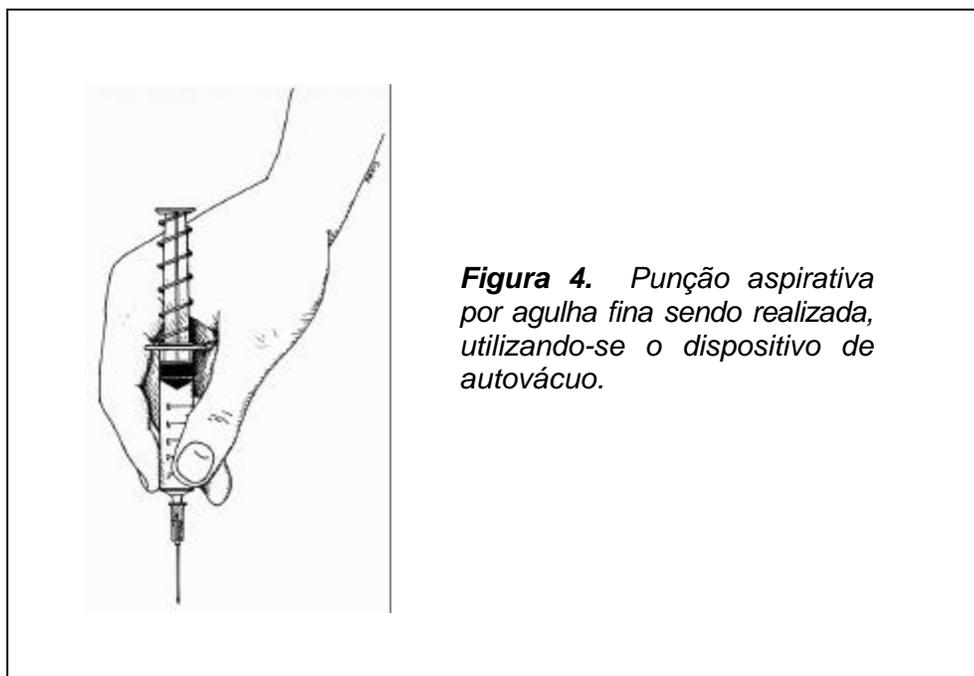
Para corrigir tal dificuldade, vários serviços têm se utilizado de uma pistola para apreensão da seringa, a qual foi inicialmente desenvolvida por Franzen e, posteriormente, modificada por várias indústrias (FRANZEN & ZAJICEK, 1968). Esta pistola facilitou a realização da PAAF; entretanto, o seu uso aumenta a distância entre o tumor e a mão que segura o dispositivo. Isso acaba por diminuir a sensibilidade tátil do examinador (SOUZA et al., 1995),

além de que, o tamanho do dispositivo montado, freqüentemente, assusta a paciente que, por sua vez, pode se tornar menos colaborativa com o procedimento (FREITAS Jr. et al., 1995) (Figura 3).



No início da década de 90, teve início o desenvolvimento de um novo dispositivo que pudesse facilitar ainda mais o procedimento da punção. A idéia surgiu interpondo-se uma mola entre as abas laterais de uma seringa descartável e seu êmbolo, de forma que a mola pudesse exercer uma força sobre o êmbolo tracionando-o distalmente e promovendo uma pressão negativa no interior da

seringa. Esse vácuo seria responsável pela sucção do material coletado para o interior da agulha (FREITAS Jr. et al., 1991). Com isso, o examinador não necessitaria fazer o vácuo, deixando que o próprio dispositivo o fizesse (Figura 4). Esse dispositivo foi denominado “Dispositivo de autovácuo” (FREITAS Jr. et al., 1992a).



1.3.8. Provas iniciais do funcionamento do dispositivo de autovácuo

Inicialmente, junto à Faculdade de Engenharia Mecânica da Universidade Estadual de Campinas, foram estudadas as características físicas de uma mola de aço que pudesse ser encaixada em uma seringa de 5ml. Após alguns testes, observou-se que o melhor seria a tentativa do procedimento usando uma mola com as características abaixo detalhadas (Figura 5).

Material: fio de aço

Número de espirais ativas = 7

Diâmetro do fio = 1mm

Diâmetro externo = 15 mm

Capacidade de compressão = 600g/cm

Força final = 1,5kg/f.



Figura 5. A mola testada na Faculdade de Engenharia Mecânica da Universidade Estadual de Campinas, e suas características.

O passo seguinte foi saber se era possível obter material adequado com a utilização do dispositivo. Assim, foi conduzido um estudo-piloto em modelo experimental em ratos. Para esse estudo, tumores Walker e SP1 (neoplasias de consistência pétrea e macia, respectivamente) foram inoculados nas cobaias. Após o crescimento dos mesmos, os ratos eram anestesiados e o tumor puncionado com o dispositivo de autovácuo (Figura 6). Os resultados foram bastante animadores, uma vez que se conseguiu aspirados de ótima qualidade em todas as punções, tanto nos tumores pétreos (Walker) quanto nos macios (SP1) (FREITAS Jr. et al., 1991).



Figura 6. PAAF sendo realizada em um tumor Walker 256, no estudo inicial do dispositivo.

O entusiasmo com os resultados do primeiro trabalho levou os autores a conduzir, logo em seguida, uma comparação direta entre o dispositivo de autovácuo e a pistola de apreensão de seringa, uma vez que a pistola era mundialmente utilizada na realização da PAAF. Para esse segundo estudo, repetiu-se o modelo experimental em ratos, inoculando os mesmos tumores. De forma aleatória os tumores foram puncionados, utilizando-se o dispositivo de autovácuo ou a pistola de apreensão, montada em uma seringa de 20ml. Também nesse estudo os resultados mostraram claramente que, nos modelos experimentais, a chance de obtenção de uma boa amostragem era praticamente a mesma, conforme mostrado na Tabela 2 (FREITAS Jr. et al., 1992a).

TABELA 2

Resultados obtidos com a comparação do dispositivo de autovácuo com a pistola de apreensão de seringa, utilizando modelo experimental em ratos

Tumor	Citologia/ Celularidade	Autovácuo		Pistola		p
		n	(%)	n	(%)	
Walker 256	+++	10	(91)	9	(82)	Ns
	++/+	1	(9)	2	(18)	
Sp1	+++	11	(100)	9	(90)	Ns
	++/+	0	-	1	(10)	
TOTAL	+++	21	(95)	18	(86)	Ns
	++/+	1	(5)	3	(14)	

+++ alta celularidade; ++ celularidade moderada; + baixa celularidade

Já com a idéia de que talvez o dispositivo pudesse funcionar tão bem quanto a pistola, era necessário testá-lo nas punções de mamas femininas, uma vez que a

proporção entre o tamanho do tumor nos modelos animais, associado à diferença na mobilidade da lesão e à consistência dos tumores, poderia gerar resultados inesperados. Desta forma, foi então conduzido um estudo-piloto, puncionando nódulos sólidos de mulheres, que estavam em procedimentos diagnósticos para suas lesões. Nesse trabalho, todas as punções foram feitas por apenas um puncionador, utilizando o dispositivo de autovácuo, e as leituras citológicas também foram geradas por apenas uma citopatologista (FREITAS Jr. et al., 1996b).

Os resultados mostraram uma taxa de material inadequado de 14%. Depois de traçada a acurácia foi possível concluir que o dispositivo também funcionava adequadamente nas lesões sólidas da mama feminina, uma vez que a acurácia foi bastante alta (Tabela 3), e semelhante aos bons trabalhos publicados na literatura, anteriormente (FREITAS Jr. et al., 1996b). Outro ponto positivo que se observou foi a facilitação na execução do exame, visto que o dispositivo manteve, por si só, uma aspiração constante, permitindo que o examinador concentrasse toda a sua atenção no direcionamento da agulha.

TABELA 3
Acurácia da PAAF utilizando o dispositivo de autovácuo*

Teste	%
Sensibilidade	97
Especificidade	100
Valor preditivo positivo	100
Valor preditivo negativo	67
Acurácia total	97

* Excluídos os aspirados inadequados

Apesar dos bons resultados observados, até então, o dispositivo de autovácuo não havia sido comparado diretamente com a pistola de apreensão de seringa ou com outras técnicas de PAAF, nos tumores sólidos da mama feminina. A falta de evidências conclusivas a esse respeito despertou o interesse para saber qual a melhor opção de dispositivo a ser utilizado durante a realização do exame.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Comparar os aspirados gerados pelo dispositivo de autovácuo com os da pistola de apreensão de seringa, através de citometria de fluxo e de citologia oncológica.

2.2. Objetivos específicos

1. Comparar o coeficiente de variação, o índice de DNA, a percentagem de células na fase S e a percentagem de células aneuplóides, detectados através de aspirados provenientes da punção aspirativa por agulha fina, realizada pelo uso do dispositivo de autovácuo com aqueles gerados do dispositivo de apreensão de seringa, em tumores *ex vivo*.
2. Comparar o coeficiente de variação, o índice de DNA, a percentagem de células na fase S e a percentagem de células aneuplóides, detectados através de aspirados provenientes da PAAF, realizada pelo

uso do dispositivo de autovácuo e pelo dispositivo de apreensão de seringa, em tumores *ex vivo*, com aqueles gerados das peças cirúrgicas emblocadas em parafina.

3. Calcular e comparar a acurácia da punção aspirativa por agulha fina, para os esfregaços gerados pelo dispositivo de autovácuo com aqueles provenientes da pistola de apreensão de seringa, nos tumores palpáveis e sólidos da mama, utilizando a histologia da peça cirúrgica como padrão-ouro.
4. Comparar a taxa de falso negativo e de falso positivo da leitura citológica, entre o material coletado pelo dispositivo de autovácuo, com aquele proveniente da pistola de apreensão de seringa.
5. Comparar a taxa de aspirados insatisfatórios para leitura citológica entre o material coletado pelo dispositivo de autovácuo, com aquele proveniente da pistola de apreensão de seringa.
6. Comparar a celularidade dos aspirados, a hemorragia de fundo dos esfregaços e a distorção celular entre o material de leitura citológica, colhido pelo dispositivo de autovácuo, com aqueles obtidos pela pistola de apreensão de seringa.

3. Sujeitos e Métodos

Trata-se de um estudo para validação de teste diagnóstico, comparando duas diferentes técnicas de punção aspirativa por agulha fina no diagnóstico de tumores sólidos da mama.

O estudo foi dividido em duas partes distintas, sendo a primeira um ensaio em que a punção era realizada por ambos os métodos na peça cirúrgica fresca contendo tumor de mama, o qual foi chamado *ex vivo*. Para a segunda parte foi conduzido um estudo randomizado, onde pacientes com nódulos mamários eram submetidas à PAAF, utilizando-se a pistola de apreensão ou o dispositivo de autovácuo. A esse estudo deu-se a denominação de *in vivo*.

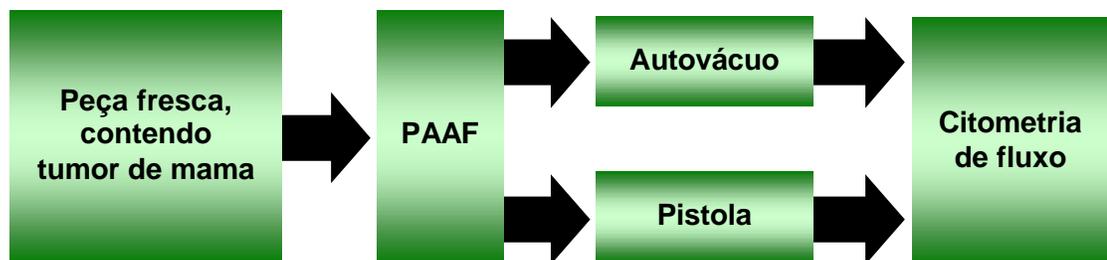
Os dois estudos são apresentados separadamente do ponto de vista metodológico, visando a uma facilitação na parte didática.

3.1. Estudo *ex vivo*

3.1.1. Tipo de estudo

Estudo comparativo entre duas técnicas de PAAF, conduzido em peças cirúrgicas frescas de tumores de mama, para validação do uso de método inovador.

3.1.2. Desenho do estudo



3.1.3. Caracterização da amostra

Foram utilizadas para esse estudo 44 peças mamárias frescas (recém-ressecadas), contendo tumor sólido de mama. As peças foram obtidas logo após sua ressecção, no centro cirúrgico do *Guy's Hospital* de Londres, a *United Dental and Medical Schools* da Universidade de Londres. Foram consideradas para o estudo tumorectomias amplas ou mastectomias, indistintamente, desde que contivessem tumores clinicamente palpáveis, independentes do tipo histológico.

Foram excluídas as peças de pacientes que estivessem utilizando terapia de reposição hormonal, ou endocrinoterapia e/ou quimioterapia para o câncer de mama, em um período inferior a três meses da data de realização de ressecção da lesão.

Todas as peças assim que ressecadas, eram submetidas à PAAF pelos dois métodos: dispositivo de autovácuo e pistola, sempre por um mesmo punçador, totalizando 88 punções. Para saber qual o dispositivo a ser utilizado em primeiro lugar, utilizou-se sistema de sorteio prévio, com o intuito de diminuir a chance de erros ou de artefatos que pudessem ser causados pela punção *ex vivo*.

Os aspirados eram armazenados exclusivamente para estudo de citometria de fluxo, não tendo nenhuma finalidade diagnóstica ou prognóstica nessa fase.

Após as punções, a peça cirúrgica era processada rotineiramente para o diagnóstico da neoplasia mamária e para o estudo dos fatores prognósticos, da maneira convencional, ou seja: cortada adequadamente, fixada em formol, emblocada em parafina, cortada por micrótomo e as lâminas coradas pela hematoxilina eosina, para estudo microscópico das mesmas. As características das peças punçoadas que fizeram parte do estudo podem ser vistas na Tabela 4, sendo que 39 casos (88,5%) corresponderam a tumores malignos e, cinco peças continham lesões benignas. Os tipos pouco freqüentes de tumores malignos corresponderam a um caso de carcinoma cribriforme, um de carcinoma tubular e um de carcinoma mucóide. Em relação aos tumores benignos, houve um caso de hamartoma, um fibroadenoma e um lipoma.

TABELA 4
Característica das peças e tumores puncionados

	n	%
Tipo de peça		
Mastectomia	13	30
Tumorectomia ampla	31	70
Tamanho do tumor		
11 a 20mm	21	48
21 a 30mm	10	23
31 a 40mm	9	20
41mm ou mais	4	9
Tipo do tumor		
Ca ductal invasor	29	66
Ca lobular invasor	5	11
Outros Ca invasores	3	7
Ca ductal in situ	2	4,5
Tumores benignos	3	7
AFBM	2	4,5
Total	44	100

3.1.4. PAAF por autovácuo

Material

- Agulha hipodérmica descartável 25x07mm
- Seringa descartável de 5ml
- Mola de aço, medindo 40mm de extensão, 1mm de diâmetro do arame, 15mm de diâmetro externo, com uma constante de 600g/cm.

Técnica

- Era retirado o êmbolo da seringa, colocada a mola envolvendo os dois terços proximais do mesmo, e então reintroduzido o conjunto na seringa, ficando a mola ancorada entre a parte final do êmbolo e as abas laterais da seringa.
- A punção foi realizada diretamente sobre o tumor, com a mão não dominante fixando a peça, enquanto a mão dominante manipulava o dispositivo. A mola era comprimida entre o êmbolo e a seringa, até que a ponta da agulha tivesse traspassado a pele. Após a penetração da agulha, a mola era aliviada retirando-se os dedos, permitindo que ela desenvolvesse uma pressão negativa constante no interior da seringa. Segurando-se gentilmente a seringa, foram feitos movimentos de vaivém em leque, objetivando várias áreas do tumor.
- Para cada caso foram utilizados 20 passes pela lesão. Assim que era interrompida a punção, a agulha era desconectada da seringa, de forma que fosse desfeita a pressão negativa no interior da seringa, evitando que o material colhido e acomodado no interior da agulha fosse sugado para o interior da seringa. Só então a agulha era retirada do tumor, e o material coletado era imediatamente preparado para fixação.

3.1.5. PAAF por pistola de apreensão de seringa

Material

- Pistola de Franzen modificada por Valeri
- Seringa descartável de plástico de 20ml
- Agulha hipodérmica descartável 25x7mm

Técnica

- Uma seringa de plástico de 20ml era montada na pistola de apreensão e conectada a agulha ao dispositivo. A punção foi sempre realizada sobre o tumor.
- Após a fixação do nódulo com a mão não dominante, o dispositivo empunhado pela mão dominante era introduzido na região do tumor. A seguir, através da retração do êmbolo da seringa, pelo tracionamento da pistola, provoca-se uma pressão negativa no interior da seringa, tentando-se manter uma aspiração tão constante quanto possível. Simultaneamente, eram realizados movimentos de vaivém em leque, de tal sorte que a agulha pudesse penetrar em vários pontos da área tumoral.
- O exame era interrompido após 20 movimentos de avanço e recuo. Para isto, relaxava-se a pressão sobre a pistola, desfazendo a pressão negativa no interior da seringa. A seguir, retirava-se todo o dispositivo da peça.
- Posteriormente, a agulha era desconectada da seringa. Já sem a agulha, a seringa era retirada da pistola, seu êmbolo recuado, a mesma conectada na agulha e através da propulsão do êmbolo o material era depositado adequadamente para fixação.

3.1.6. Fixação dos aspirados

Após a punção da lesão, o aspirado coletado no interior da agulha era expelido por propulsão do êmbolo da seringa dentro de pequenos tubos de silicone tipo NUNC, contendo 200µl de citrato tampão. Com o intuito de evitar o agregamento celular, todo o material no interior dos tubos, contendo as células, era passado várias vezes por dentro de uma agulha bastante fina (25G), também com a intenção de desfazer pequenos aglomerados celulares.

A seguir, 1ml de etanol frio a 70% era adicionado vagarosamente, enquanto o tubo era agitado manualmente, em movimentos circulares, evitando a formação de grumos celulares.

Todos os aspirados já fixados eram guardados sob a temperatura de 4°C, até sua utilização na citometria de fluxo.

3.1.7. Preparo dos aspirados e coloração do DNA

Inicialmente alíquotas de 4×10^5 células eram colocadas em tubos para centrifugação, contendo médium ou PBS. Cada espécime era centrifugado a 250g durante 10 minutos à temperatura de 4°C. Após, o sobrenadante era removido e nova suspensão era feita com 2ml de PBS, seguido de nova centrifugação. Cada nova suspensão era passada duas vezes por finas agulhas 25G, de forma que fosse diminuída a formação de agregados celulares. Posteriormente, era adicionado 6,6ml de etanol frio a 70%, ao mesmo tempo em que se agitava a solução. Esse material era então fixado por 30 minutos à temperatura de 4°C.

Na seqüência, era realizada nova centrifugação para remover o etanol e as células eram lavadas em PBS. Para finalizar, as células em suspensão eram coradas adicionando 250µg de iodine protídeo (PI), 1mg/ml RNAse e 1% triton X-100. A concentração final nas células em suspensão deveria ser de PI- 50µg/ml; RNAse 200µg/ml; Triton X-100 – 0,2%. As suspensões eram, então, bem agitadas e deixadas por 30 minutos à temperatura ambiente e protegidas da luz, para que pudessem atingir a coloração adequada.

3.1.8. Desparafinização do material histológico arquivado em parafina

Para a realização da desparafinização, utilizou-se a técnica padrão previamente estabelecida no Departamento de Pesquisa de Câncer Richard Dumbleby, da *United Medical and Dental School* (Hospital Saint Thomas) da Universidade de Londres, de acordo com os passos seguintes. Inicialmente, era separado um fragmento de cada tumor, de 50 μ m, sendo colocado isoladamente em um pequeno cassete de biópsia, com poros de 300 μ m, com identificação a grafite. A seguir, até 12 cassetes eram colocados em um recipiente para lavagem mecânica dos espécimes, em máquina apropriada de processamento tecidual (Histokinette), sendo que os espécimes eram agitados por 15 minutos seguindo o programa:

- a) xileno – três trocas
- b) álcool a 100% - duas vezes
- c) álcool a 90% - duas vezes
- d) álcool a 70% - duas vezes
- e) álcool a 50% - duas vezes

Esse processo era realizado durante a noite (durando 2h 45m). Posteriormente os cassetes eram lavados exaustivamente, deixando-os submersos por 10 minutos, em água destilada, a qual era trocada duas vezes. Na seqüência, permitia-se o escoamento da água, seguido da abertura de cada cassete e, utilizando-se uma pinça delicada, o tecido desparafinado era transferido para um tubo universal contendo solução de pepsina (0,5% de pepsina em 0,9% de

solução salina, com pH ajustado para 1.5, usando 2M HCL). Os tubos universais eram então levados ao banho maria a 37° C, durante 30 minutos. A seguir, eles eram centrifugados usando 2.000rpm por três minutos à temperatura ambiente. A partir daí, o sobrenadante era removido com a utilização de uma pipeta de Pasteur. Novas suspensões eram feitas com os fragmentos tissulares e liberação nuclear em 2ml de PBS, agitando-os vigorosamente com o auxílio de um misturador. Por fim, a suspensão era filtrada através de um filtro de nylon com poros de 35µm e ajustada à concentração de núcleos, conforme desejado.

3.1.9. Realização da citometria de fluxo

Após a realização de todas as punções e da coleta de todas as lâminas referentes à histologia dos tumores, todo o material foi levado ao Departamento de Pesquisa de Câncer Richard Dumbleby da *United Medical and Dental School* (Hospital Saint Thomas), da Universidade de Londres.

Para a realização da citometria de fluxo, foi utilizado um aparelho Becton Dickinson FACScan, sendo que para a produção de cada histograma, 10.000 células foram analisadas pelo aparelho.

Imediatamente antes da leitura dos aspirados, já previamente preparados e com a adequada coloração do DNA, cada suspensão era passada por uma agulha 25G, no sentido de reduzir os aglomerados de células.

Para o material submetido ao processo de desparafinização, a coloração do DNA, foi realizada também pela utilização do iodine protídeo (PI), de forma que feixes de 488nm de laser ion-argônico, pudessem ler os DNA em suspensão.

3.1.10. Análise do histograma de DNA

Atualmente, a interpretação dos histogramas de DNA gerados pela citometria de fluxo, pode ser feita de várias maneiras, por vezes conflitantes, conforme descrito na literatura. Não obstante, de uma forma geral, os dados são quase sempre analisados com o auxílio de algoritmos empregados via informática (MELAMED et al., 1990; ORMEROD, 1994; BARBOSA, 1995).

Para a análise dos dados gerados no presente estudo foram selecionadas quatro formas, as quais têm sido empregadas no Departamento de Pesquisa de Câncer Richard Dumbleby da *United Medical and Dental School* (Hospital Saint Thomas) da Universidade de Londres. A saber: coeficiente de variação, índice de DNA, estimativa da porcentagem de células na fase S e porcentagem de aneuploidia.

3.1.11. Cálculo do coeficiente de variação (CV)

O coeficiente de variação, geralmente representado pelo pico G₁ do DNA diplóide, é uma maneira bastante adequada de representar a qualidade dos dados do DNA. O CV foi calculado de acordo com a equação abaixo, baseado no fato do pico do G₁ poder ser representado por uma distribuição normal:

$$CV = W / (M \times 2,35)$$

onde

W = toda extensão do pico de G₁ na metade máxima da altura

e

M = número do canal do pico de G₁.

Histogramas mostrando alta qualidade do DNA costumam ter um baixo CV e um pico de G₁ aproximadamente muito perto da distribuição normal. Vários histogramas de DNA real não são tão bons e isso é importante no estudo clínico do DNA, mostrando que ambos, a média do CV e toda a variação do CV aparecem nas séries dos casos reportados. Isso permite, ao leitor, o julgamento da qualidade dos dados apresentados.

3.1.12. O cálculo do índice de DNA

Os princípios básicos pelos quais a aneuploidia do DNA é reconhecida e, que se usa para o cálculo do índice de DNA, são utilizados internacionalmente (ORMEROD, 1994). Em histogramas que exibem dois ou mais picos de G₁ (Figura 7b) tanto o pico do índice de DNA quanto a aneuploidia do DNA, são calculados com referência na posição do pico G₁ de células diplóides. Por

exemplo, na figura 8b, o tumor com o pico de G_1 tem duas vezes a quantidade de DNA comparado com o pico de G_1 de células com DNA diplóide (Figura 7a) e, assim, tem o índice de DNA (DI) de 2,0. O índice de DNA de 1,5 pode significar um pico de DNA aneuplóide com 50% a mais de DNA que o normal. A aneuploidia do DNA só pode ser reconhecida nas peças, quando dois ou mais picos de G_1 são evidentes. Para os espécimes de tecido fresco, em que os dois picos estão próximos, o DNA padrão pode ser usado para confirmar qual dos picos G_1 é diplóide. Se apenas células com DNA diplóide estão presentes, o DI é descrito como sendo de 1,0.

Um problema muito comum é a mensuração da ploidia do DNA para linhas celulares que contenham pequena quantidade de células aneuplóides. Ainda mais difícil é o reconhecimento de pequenas quantidades de células tetraplóides, uma vez que essas células com G_1 aparecem na mesma posição que aquelas com o DNA diplóide em G_2 . Por vezes, houve confusão se isso seria apenas um pico tetraplóide, ou se um G_2 diplóide associado, talvez, com alguns grumos. Nesses casos, foram utilizados outros parâmetros existentes nos aparelhos, tais como o *light scatter* para a diferenciação.

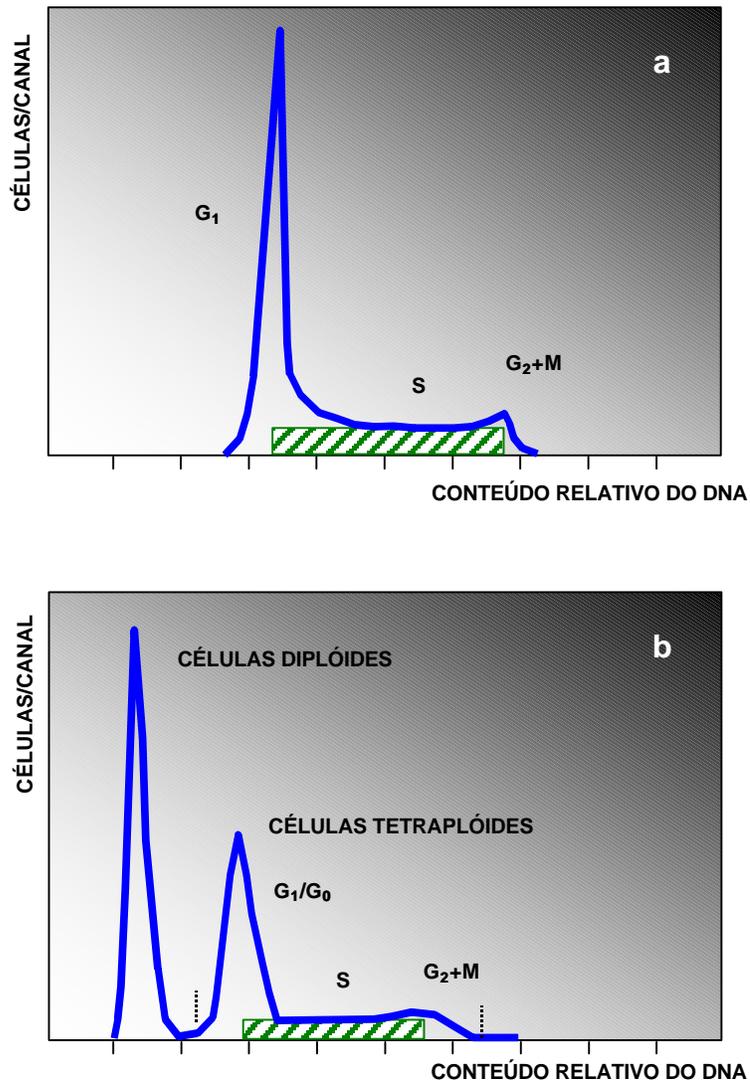


Figura 7

- a.** Histograma do DNA de um tumor diplóide. A fase S foi calculada, encaixando um retângulo para representar a fase S (parte hachurada).
- b.** Histograma do DNA de um tumor tetraplóide, no qual o pico de G_1 tem duas vezes mais a quantidade de DNA que o normal ($DI = 2,0$).

3.1.13. Cálculo da fase de síntese celular (fase S)

Para estimativa da fração da fase S, foi utilizado o método de BAISCH, GÖHDE, LINDEN (1975), para os histogramas com DNA diplóides e, uma modificação deste método, para os histogramas com DNA aneuplóides. Em resumo, isso envolve a colocação dos canais de pico de G_1 e G_2 em um retângulo (Figura 7a). A altura do retângulo é determinada olhando os números de células nos dez canais centrais da região da fase S e usando isso para calcular o número médio de células por canal. Para histogramas com DNA aneuplóide, a percentagem de células aneuplóides na fase S, pôde ser estimada de uma maneira semelhante, desde que a altura do retângulo (Figura 7b) fosse calculada, usando uma parte do histograma não sobreposto à distribuição do DNA diplóide.

3.1.14. Porcentagem de células aneuplóides

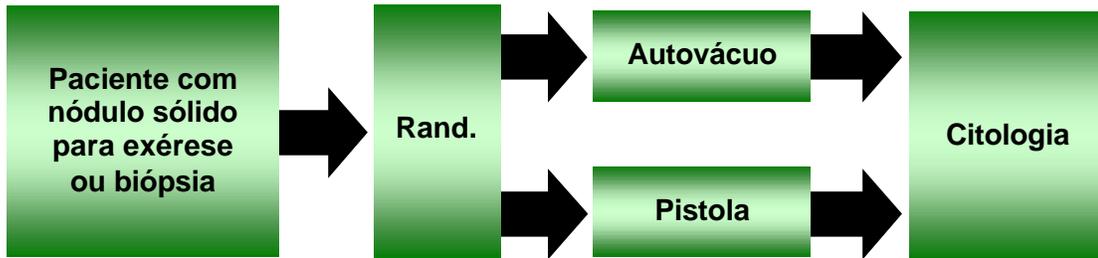
Foram considerados os valores percentuais das células com histogramas característicos de aneuploidia, em relação ao total dos demais histogramas encontrados pelos diversos canais da citometria de fluxo.

3.2. Estudo *in vivo*

3.2.1. Tipo de estudo

Estudo randomizado para validação de teste diagnóstico, comparando duas técnicas de PAAF, no diagnóstico de tumores sólidos da mama.

3.2.2. Desenho do estudo



3.2.3. Tamanho da amostra

Foram analisados através de citologia oncológica os esfregaços obtidos por PAAF de tumores sólidos da mama em 380 pacientes que procuraram o Setor de Mama do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás ou o Departamento de Ginecologia e Mama do Hospital Araújo Jorge da Associação de Combate ao Câncer em Goiás, por patologia mamária.

Admitindo-se como valores iniciais para a sensibilidade completa da PAAF, uma taxa de 80% (WELLS, 1995), o tamanho amostral foi definido utilizando-se como critério básico a probabilidade de 80% (poder do teste) de se detectar uma diferença de 9% entre os grupos, ao nível de significância de 5% de probabilidade.

Com base nos critérios citados, definiu-se como tamanho amostral um mínimo de 150 indivíduos em cada grupo, totalizando 300 indivíduos. Prevendo um descarte da ordem de 25%, estabeleceu-se um número de 380 pacientes necessárias, divididas uniformemente entre os dois grupos.

3.2.4. Critério de inclusão

Pacientes com nódulos sólidos de mama que pudessem ser submetidas à exérese ou biópsia incisional do mesmo.

3.2.5. Critério de exclusão

Uso de quimioterapia e/ou radioterapia previamente.

3.2.6. Randomização

Caso a paciente preenchesse o critério de inclusão do estudo, era convidada a participar do mesmo de forma voluntária. Para tal, foi utilizado um termo de consentimento (Anexo 1). Uma vez no estudo, seu registro era feito em um livro especial (*Log-book*), o qual continha o sorteio previamente estabelecido, indicando, de forma aleatória, qual deveria ser a técnica utilizada para a punção do tumor.

Após a alocação da paciente no grupo previamente sorteado, era procedida a punção do nódulo mamário, de acordo com uma das técnicas propostas e, o procedimento transcrito no formulário próprio (Anexo 2). Os formulários eram arquivados em pasta própria até o preenchimento completo (incluindo histologia), até serem analisados.

3.2.7. PAAF por autovácuo

Material

- Agulha hipodérmica descartável 25x07mm
- Seringa descartável de 5ml
- Mola de aço, medindo 40mm de extensão, 1mm de diâmetro do arame, 15mm de diâmetro externo, com uma constante de 600g/cm
- Duas lâminas de vidro

Técnica

- O êmbolo da seringa era retirado; a mola era colocada envolvendo os dois terços proximais do êmbolo, e então o conjunto reintroduzido na seringa, ficando a mola ancorada entre a parte final do êmbolo e as abas laterais da seringa.
- Após assepsia com algodão embebido com álcool, a punção era realizada diretamente sobre o tumor, com a mão não dominante fixando a lesão, enquanto a mão dominante manipulava o dispositivo. A mola era comprimida entre o embolo e a seringa, até que a ponta da agulha tivesse traspassado a pele. Após a penetração da agulha, a mola era aliviada retirando-se os dedos, permitindo que ela recuasse e, conseqüentemente, desenvolvendo uma pressão negativa constante no interior da seringa. Segurando-se gentilmente a seringa eram feitos movimentos de vaivém em leque, objetivando várias áreas do tumor, associados a movimentos de rotação, simultaneamente.
- Após a realização de dez a 15 passes, ou quando da presença de material na canopla da agulha, os movimentos eram interrompidos. A seguir, a agulha era desconectada da seringa, de forma que a pressão negativa

no interior da seringa fosse desfeita, evitando que o material que estivesse no interior da agulha pudesse ser aspirado inadvertidamente para o interior da seringa. Imediatamente após, a agulha era reconectada na seringa e todo o dispositivo retirado da lesão.

- A seguir, o material coletado no interior da agulha era depositado sobre as lâminas de vidro (no mínimo duas) pressionando-se o êmbolo da seringa, bruscamente. Com o aspirado sobre as lâminas, era realizado o esfregaço, espalhando, com o auxílio de uma lâmina limpa colocada a 45°, o material, de forma que o esfregaço fosse tão fino quanto possível. De imediato, as lâminas contendo os esfregaços eram fixadas em álcool a 70%, previamente colocado em um recipiente de plástico próprio para o transporte.

3.2.8. PAAF por pistola de apreensão de seringa

Material

- Pistola de Franzen modificada por Valeri
- Seringa descartável de plástico de 20ml
- Agulha hipodérmica descartável 25x7 mm
- Duas lâminas de vidro

Técnica

- A seringa de plástico de 20ml, era montada na pistola de apreensão de seringa e conectada a agulha ao dispositivo. A assepsia e a escolha do local da punção foram feitas conforme descrito na técnica anterior.
- Após a fixação do nódulo com a mão não dominante, o dispositivo empunhado pela mão dominante penetrava na pele. A seguir, era feita

pressão na pistola e conseqüente tração do êmbolo, provocando uma pressão negativa no interior da seringa. Tentando-se manter uma aspiração tão constante quanto possível, eram realizados movimentos de vaivém em leque interessando a área tumoral, concomitantes a movimentos de rotação.

- O exame era interrompido após dez a 15 movimentos de avanço e recuo, ou quando houvesse material coletado na canopla da agulha. Para isto, relaxava-se a tração sobre a pistola, desfazendo a pressão negativa no interior da seringa, para que o material não fosse aspirado para o interior da seringa. O dispositivo era então retirado do tumor e, só posteriormente, desconectava-se a agulha da seringa. Já sem a agulha, a seringa era retirada da pistola, seu êmbolo recuado, e a agulha remontada na seringa. Através da propulsão do êmbolo, o material era depositado sobre as lâminas de vidro.
- A confecção do esfregaço e a fixação do material foram procedidas como no método anterior.

3.2.9. O exame citológico

As lâminas de cada caso foram coradas pelo método de Papanicolaou (PAPANICOLAOU, 1942). Já a leitura citológica foi feita sob microscopia óptica, por uma única citologista, afeita à patologia mamária, sendo ela do Departamento de Anatomia Patológica do Hospital das Clínicas (HC) da Universidade Federal de Goiás (UFG).

Para o exame, a citologista não tinha conhecimento do tipo de dispositivo que havia sido utilizado, nem do resultado do exame anatomopatológico. Durante o exame, a citologista preenchia os campos do laudo citológico, descrevendo o

diagnóstico, a celularidade, a presença ou não de fundo hemático e a distorção celular ou não de acordo com a definição das variáveis, sempre que possível (Anexo 3). Os laudos citológicos e as lâminas ficaram arquivados com a citologista, até serem digitados.

3.2.10. O exame anatomopatológico

Após a ressecção da lesão ou da biópsia incisional, as peças eram fixadas no formol a 10%, cortadas adequadamente e depois emblocadas em parafina. Posteriormente, através da utilização de micrótomos, os blocos eram recortados, com espessura de aproximadamente 6 micra. Esse material era então colocado em lâminas e corados pela hematoxilina-eosina.

Depois de preparados, as lâminas eram levadas para leitura histológica sob microscopia óptica. A classificação das lesões foi dada de acordo com a Organização Mundial de Saúde (AZZOPARDI et al., 1982).

3.2.11. Definição das variáveis

- **Idade da paciente:** Em anos completos, na época da entrada no estudo.
- **Tamanho do tumor:** Mensurado por paquímetro, no maior diâmetro tumoral, no dia da punção.
- **Estadiamento:** Estádio clínico do tumor pela classificação TNM da União Internacional de Combate ao Câncer (UICC, 1987).
- **Diagnóstico Histológico:** Classificação histológica dos tumores segundo a Organização mundial da Saúde (AZZOPARDI et al., 1982).

- **Diagnóstico Citológico:**

- Maligno
- Suspeito
- Benigno
- Material insuficiente

Era considerado "maligno" quando houvesse a presença de várias células isoladas ou mesmo agregados celulares com núcleo hiper Cromático, nucléolo proeminente e desproporção núcleo/citoplasma. O critério para "suspeito" incluiu a presença de células com fatores citomorfológicos similares aos malignos, porém, com um número inadequado de células para se fechar o diagnóstico. O "benigno" constituiu-se de material representado por células sem alterações citomorfológicas. "Material insuficiente" era considerado para aquele que não continha células (GELABERT et al., 1990).

- **Celularidade:**

- Intensa
- Moderada
- Escassa

Era considerada "intensa" a presença de 15 ou mais células por um campo de maior aumento (400x), na área de maior celularidade; "moderada" a presença de cinco a 14 células e, "escassa" a presença de menos de cinco células.

- **Fundo hemorrágico:**

- Presente, interferindo na leitura citológica
- Presente, porém sem interferir na leitura citológica
- Ausente

Foi considerado como atrapalhando a leitura, quando o número de hemácias era tão intenso que interferiu no laudo citológico. "Presente, porém sem interferir na leitura" foi empregado nos casos em que apesar de haver um grande número de hemácias, as mesmas não atrapalharam a identificação dos demais tipos celulares. "Ausente" era utilizado para os casos em que não havia hemácias, ou em que houvesse apenas uma pequena quantidade.

- **Distorção celular:**

- Presente
- Ausente

Era relatado como "Presente", quando houvesse a de distorção das células (alongamento, destruição, etc.) vistas através da citologia e, "Ausente" quando não houvesse.

3.3. Coleta dos dados

Para o estudo *ex vivo*, os dados referentes a PAAF, foram coletados em um *log-book* e arquivados com o pesquisador. Já, os dados relacionados com a citometria de fluxo foram gerados pelo Departamento de Pesquisa de Câncer Richard Dimpleby da *United Medical and Dental School* (Hospital Saint Thomas) da Universidade de Londres.

Para o estudo "in vivo", os dados foram coletados nos formulários próprios (Anexos 2 e 3), e arquivados em uma pasta, até o processamento dos mesmos.

3.4. Processamento dos dados

Os dados foram processados, criando-se dois bancos de dados. O primeiro referente ao estudo *ex vivo* e o segundo relacionado ao estudo *in vivo*, ambos utilizando o programa Dbase III +. Os dados foram cuidadosamente checados no sentido de evitar erros que pudessem ter ocorrido durante a digitação e, caso houvesse dúvidas, o arquivo era cruzado com o formulário original de coleta.

3.5. Análise Estatística

Para a análise, foram tiradas freqüências das variáveis pelo programa PCSS-PC+, utilizando-se separadamente cada um dos arquivos dos estudos.

Em relação ao estudo *ex vivo*, utilizou-se o teste qui-quadrado de McNemar para comparar a taxa de aspirados adequados para mensuração da citometria de fluxo. A análise das médias do coeficiente de variação, do índice de DNA, da porcentagem de células na fase S e da porcentagem de células aneuplóides foram comparadas entre os grupos de aspirados utilizando o dispositivo de autovácuo com o grupo de aspirados advindos da pistola de apreensão, através do teste t de Student para amostras pareadas (ROUQUAYROI, 1988). Os dois grupos foram também comparados, separadamente, com os achados produzidos pela citometria para o material obtido com a desparafinização das peças histológicas.

Em relação ao estudo randomizado *in vivo*, a caracterização da amostra foi comparada entre os dois grupos de punção, utilizando-se tabelas de contingência, sendo que as diferenças foram avaliadas pelo teste qui-quadrado. Já, as médias das variáveis quantitativas foram comparadas através do teste t de Student para amostras independentes (ROUQUAYROL, 1988).

Para determinar a acurácia dos métodos, foram montadas tabelas cruzadas de contingência e calculadas a sensibilidade absoluta, a sensibilidade completa, a especificidade, os valores preditivos positivo e negativo, a acurácia total para casos diagnósticos, a acurácia total completa, a taxa de falso negativo e a taxa de falso positivo para cada método, conforme definido abaixo e, de acordo com as fórmulas estabelecidas para tal fim (Anexo 5), modificado dos modelos apresentados para citologia no programa de *screening* do Reino Unido (Cytology sub-group NCCFBSP/NHSBSP, 1993; WELLS, 1995). O resultado do exame anatomopatológico da peça operatória foi considerado como o padrão-ouro.

- **Sensibilidade absoluta:** Número de casos diagnosticados como “malignos”, sobre o total de casos de câncer (histológico), expresso em percentagem.
- **Sensibilidade completa:** Número de casos “malignos”, somados aos casos “suspeitos” à citologia, sobre o número total de casos de câncer (histológico), expresso em percentagem.
- **Especificidade:** Número de casos “verdadeiros negativos”, sobre o número de total de benignos (histológico), expresso em percentagem.

- **Valor preditivo positivo (maligno):** Número de casos diagnosticados como “verdadeiros positivos”, sobre o total de aspirados “malignos”, expresso em percentagem.
- **Valor preditivo negativo:** Número de casos “verdadeiros negativos”, sobre o número de casos diagnosticados como “benignos” pela citologia, expresso em percentagem.
- **Acurácia total para casos diagnósticos:** Soma dos casos “verdadeiros positivos” com os “verdadeiros negativos”, sobre a soma dos “verdadeiros positivos”, “verdadeiros negativos”, “falsos positivos” e “falsos negativos”, expressa em percentagem.
- **Acurácia total completa:** Soma dos casos “verdadeiros positivos”, “suspeitos” confirmados como cânceres e “verdadeiros negativos”, sobre a soma de todos os casos aspirados, expressa em percentagem.
- **Taxa de falso negativo:** Número de “falsos negativos”, sobre o total de casos de câncer (histológico) aspirados, expresso em percentagem.
- **Taxa de falso positivo:** Número de “falsos positivos”, sobre o total de casos de câncer (histológico) aspirados, expresso em percentagem.
- **Taxa de material insuficiente:** Número de casos com citologia insuficiente, sobre o número total de casos aspirados, expresso em percentagem.

A comparação das sensibilidades, especificidades e acurácias totais, foram feitas através do teste qui-quadrado, utilizando as fórmulas de comparação para amostras independentes, conforme descrito por GALEN & GAMBINO (1975).

Na presença de valores inferiores a 10, utilizou-se o fator de correção da continuidade.

As taxas de falso negativo, de falso positivo e de material insuficiente, foram calculadas conforme as descrições acima referidas. A análise da diferença entre os grupos foi feita pelo teste qui-quadrado (ROUQUAYROL, 1988).

Quanto aos dados referentes a celularidade, fundo hemorrágico e distorção celular, as diferenças foram analisadas a partir do teste qui-quadrado (ROUQUAYROL, 1988).

Em todas as análises, o nível de significação estabelecido foi de 5%, sendo considerado estatisticamente significativo, quando o p valor foi inferior a 0,05.

3.6. Aspectos Éticos

Para o estudo *ex vivo*, foram mantidas de forma anônima as identidades de todas as pacientes, além de ter se obtido o consentimento de todas, para que pudesse ser procedida a punção nas peças cirúrgicas.

Já, em relação ao estudo *in vivo*, o projeto de pesquisa foi submetido para apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás, tendo sido aprovado, para a sua execução em abril de 1998 (Anexo 4). Deve ser ressaltado que só foram incluídas pacientes voluntárias, após a apresentação do consentimento informado, contendo todas as explicações cabíveis referentes ao desconforto da punção e aos possíveis

benefícios que pudessem advir com o procedimento. Foram respeitados os princípios para pesquisa humana enunciado pela DECLARAÇÃO DE HELSINK, 1990. Após as explicações escritas e verbais, a paciente era convidada de maneira voluntária a tomar parte no estudo.

A paciente que não desejou participar do estudo foi conduzida pelos membros dos dois Centros, sem nenhuma distinção em relação àquelas que entraram no estudo, não acarretando nenhum problema a ela, desde o diagnóstico até o tratamento da lesão.

Foi mantida durante toda a pesquisa a confidencialidade sobre as pacientes, obedecendo à declaração de Helsinque em todos os pontos do estudo.

4. Resultados

4.1. ESTUDO *ex vivo*

Em 41 (93%) dos 44 casos aspirados pelo dispositivo de autovácuo foi possível mensurar o coeficiente de variação e o índice de DNA. Para a mensuração da fase S e da ploidia, conseguiu-se 28 (64%) e 27 (61%), respectivamente.

Para os aspirados da pistola de apreensão de seringa, conseguiu-se mensurar o coeficiente de variação em 37 casos (84%), o índice de DNA em 36 (82%), a fase S em 29 (66%) e a ploidia em 24 casos (55%). A possibilidade de se conseguir aspirados adequados, para mensuração dos parâmetros avaliados pela citometria de fluxo, não foi influenciada pela forma de punção, conforme observado na Tabela 5.

TABELA 5

Avaliação da taxa percentual de aspirados adequados para mensuração pela citometria de fluxo nos 44 casos puncionados

Tipo de avaliação	Autovácuo		Pistola		p valor*
	n	(%)	n	(%)	
Coeficiente de variação	41	(93)	37	(84)	0,3
Índice de DNA	41	(93)	36	(82)	0,1
Fase S	28	(64)	29	(66)	1
Ploidia	27	(61)	24	(55)	0,7

* Análise pelo teste do qui-quadrado de McNemar

Para o coeficiente de variação (CV), observou-se que a média foi de 6,05 (DP \pm 1,55, com variação de 3,2 a 9,3) para o material obtido com o dispositivo de autovácuo, de 6,06 (DP \pm 1,62, com variação de 3,5 a 11) para aqueles obtidos com a pistola de apreensão de seringa e de 6,96 (DP \pm 2,13, com variação de 3,9 a 11), para os da peça cirúrgica.

Em relação ao índice de DNA, a média para o material obtido com o dispositivo de autovácuo foi de 1,60 (DP \pm 0,5, com variação de 1 a 2,5), de 1,59 (DP \pm 0,49, com variação de 1 a 2,3) para o material da pistola de apreensão de seringa e, de 1,49 (DP \pm 0,42, com variação de 1 a 2) para os provenientes da peça cirúrgica.

Na análise da porcentagem de células na fase S, observou-se uma média 7,01 (DP \pm 4,70, com variação de 1,10 a 16,70) nos aspirados do dispositivo de autovácuo, de 7,26 (DP \pm 6,34, com variação de 0,6 a 29) para os aspirados da pistola de apreensão de seringa e de 5,85 (DP \pm 4,73, com variação de 0 a 14) para o material produzido da peça cirúrgica.

Quanto à porcentagem de células aneuplóides, a média produzida pelos aspirados do dispositivo de autovácuo foi de 37,8 (DP \pm 24,6, com variação de 6 a 83). Para os aspirados da pistola de apreensão de seringa a média foi de 39,8 (DP \pm 24,7, com variação de 7 a 89) e, para a peça cirúrgica, a média foi de 29,8 (DP \pm 20, com variação de 6 a 75). A análise com o teste t pareado, comparando as médias das variáveis estudadas pela citometria de fluxo, de acordo com o método de dispositivo utilizado na coleta do material, não mostrou diferenças entre os grupos (Tabela 6).

TABELA 6

Análise das médias das variáveis estudadas pela citometria de fluxo, de acordo com o tipo dispositivo utilizado na coleta do material

Variável	Material	Autovácuo	Pistola	p valor Teste t pareado
CV		5,99	6,12	0,4
Índice de DNA		1,56	1,57	0,4
Fase S		7,03	7,22	0,7
% Aneuploidia		38,59	39,86	0,5

A Tabela 7 mostra a análise das médias das variáveis produzidas pela citometria de fluxo, de acordo com o teste t pareado, comparando o material arquivado em parafina com os aspirados colhidos pelo dispositivo de autovácuo (A) e pela pistola de apreensão de seringa (B). Observou-se uma diferença significativa na média de células aneuploides entre o material proveniente do autovácuo quando comparado àquele obtido da peça cirúrgica .

TABELA 7

Análise das médias das variáveis estudadas pela citometria de fluxo, comparando o dispositivo de autovácuo com a peça cirúrgica (A) e a pistola de apreensão de seringa com a peça cirúrgica (B)

Variável	Material (A)	Autovácuo	Peça cirúrgica	p valor Teste t pareado
CV		6,31	6,99	0,1
Índice de DNA		1,66	1,52	0,1
Fase S		7,27	5,74	0,2
% Aneuploidia		43,4	27,9	0,04

Variável	Material (B)	Pistola	Peça cirúrgica	p valor Teste t pareado
CV		6,27	6,85	0,3
Índice de DNA		1,65	1,57	0,2
Fase S		7,61	5,78	0,2
% Aneuploidia		44,33	31,86	0,2

4.2. ESTUDO *in vivo*

Das 380 pacientes puncionadas, 191 (50,3%) foram alocadas no grupo de punção pelo dispositivo de autovácuo e 189 (49,7%) no grupo de pistola de apreensão de seringa. Dois terços das pacientes foram provenientes do Hospital das Clínicas da FM/UFG (70%) e as demais do Hospital Araújo Jorge (ACCG).

A média de idade das pacientes que tomaram parte no estudo foi de 38 anos, variando de 12 a 82 anos ($DP \pm 14$). Já, a média do tamanho dos tumores puncionados foi de 27mm, variando entre 5 e 170mm ($DP \pm 20$). Em 68 casos os tumores mediam até 10mm (18%), em 136 (36%) até 20mm e em 176 pacientes (46%), a mensuração clínica era maior que 20mm.

Dos 380 casos puncionados, 295 foram submetidas a exérese da lesão, posteriormente (78%). As demais 85 pacientes (22%) não foram submetidas à ressecção da lesão, ou a fizeram em outros centros. Dessas 85 pacientes que não tiveram a confirmação histológica, 30 foram seguidas por mais de um ano, sem crescimento ou qualquer outra alteração clínica de suas lesões.

Das 295 pacientes que foram submetidas à exérese do nódulo, a histologia revelou tratar-se de neoplasia maligna em 91 casos (31%) e, as demais 204 pacientes (69%) apresentaram lesões benignas. O tipo de lesão observada na histologia é mostrado na Tabela 8.

TABELA 8**Distribuição dos casos estudados de acordo com o achado histológico**

Tipo histológico	n	%
Carcinoma ductal invasor	82	27,6
Carcinoma lobular invasor	4	1,3
Carcinoma cribriforme invasor	1	0,4
Carcinoma papilífero in situ	1	0,4
Tumor filóides maligno	1	0,4
Metástase de melanoma	1	0,4
Linfoma	1	0,4
Fibroadenoma	132	44,6
Fibroadenose (AFBM)	46	15,5
Lipoma	10	3,3
Cicatriz radial	1	0,4
Adenoma	4	1,3
Processo inflamatório crônico	3	1,0
Ginecomastia	2	0,7
Necrose gordurosa	1	0,4
Linfoadenopatia reacional	1	0,4
Hamartoma	1	0,4
Papiloma	2	0,7
Tumor filóides benigno	1	0,4
Total	295	100

Com a finalidade de certificar que os grupos eram homogêneos e comparáveis, foi feita a distribuição numérica e percentual dos casos puncionados, com as várias categorias, de acordo com o método de punção. Tais números são apresentados na Tabela 9, onde pode ser notado que, para nenhuma das variáveis de controle, houve diferença estatisticamente significativa, mostrando a homogeneidade dos grupos. Para uma das pacientes puncionadas pelo dispositivo de autovácuo, não se preencheu o dado referente ao estadiamento do tumor.

TABELA 9

Distribuição das pacientes, conforme as variáveis de controle, de acordo com o tipo de dispositivo usado para a PAAF

Variável	Categoria	Autovácuo		Pistola		p
		n	(%)	n	(%)	
Centro	HC/FM/UFG	134	(70)	134	(71)	0,9
	HAI/ACCG	57	(30)	55	(29)	
Idade (anos)	Média	38,0		38,5		0,7
Idade (anos)	Até 20	25	(13)	27	(14)	0,8
	21-40	87	(46)	84	(45)	
	41-60	60	(31)	63	(33)	
	61 ou mais	19	(10)	15	(8)	
Tamanho Tumor (mm)	Média	27,6		27,0		0,8
Tamanho tumor (mm)	Até 20	101	(53)	103	(54)	0,4
	21-40	60	(31)	60	(32)	
	> 40	30	(16)	26	(14)	
Estádio clínico*	I	7	(4)	16	(8)	0,3
	II	29	(15)	32	(17)	
	III/IV	22	(12)	20	(11)	
	Benigno	132	(69)	121	(64)	
Histologia	Câncer	39	(21)	52	(27)	0,1
	Benigno	104	(54)	100	(53)	
	Sem AP	48	(25)	37	(20)	

* Uma paciente sem informação sobre essa variável.

As variáveis qualitativas foram analisadas pelo χ^2 e, as médias pelo teste t.

As lâminas de 29 casos dos 380 que entraram no estudo (7,6%), foram extraviadas. Desses, 25 aspirados tiveram seu material examinado na rotina do Hospital Araújo Jorge, com laudo do diagnóstico e, desprezadas a seguir.

Essas lâminas não foram vistas pela citologista do estudo e, os casos não foram incluídos na análise de acurácia. Os esfregaços de quatro outros casos foram levados, erroneamente, pela paciente para outros laboratórios da cidade. Apesar de contato telefônico e pessoal, não conseguimos recuperá-los, sendo então também excluídos da análise de acurácia. A leitura do diagnóstico citológico dos 351 casos remanescentes é mostrada na Tabela 10.

TABELA 10
Distribuição do diagnóstico citológico de acordo com o dispositivo utilizado para a punção

Categoria	Autovácuo		Pistola	
	n	(%)	n	(%)
Maligno	24	(14)	25	(15)
Suspeito	8	(4)	7	(4)
Benigno	119	(66)	101	(59)
Insuficiente	29	(16)	38	(22)
TOTAL	180	(100)	171	(100)

χ^2 para material insuficiente = 1,7 (p = 0,18)

Assim, a Tabela 10 mostra que a taxa de material insuficiente foi de 16% no grupo aspirado pelo dispositivo de autovácuo e de 22% no grupo da pistola de apreensão de seringa. A comparação da taxa de material insuficiente pelo teste qui-quadrado mostrou não haver diferença significativa entre eles (p=0,18).

Para a análise da acurácia, além dos 29 casos em que foram extraviados os esfregaços, também foram excluídos outros 85 casos que não foram submetidos à exérese da lesão, ou o fizeram em outra instituição.

Das 295 pacientes com confirmação histológica, 22 tiveram seus esfregaços extraviados, conforme comentado no parágrafo anterior (das 29 extraviadas, sete não tiveram histologia). Assim, 273 pacientes com citologia e histologia (padrão-ouro), serviram como base para a análise dos testes de acurácia. Para um melhor entendimento, esses números são apresentados esquematicamente na Figura 8.

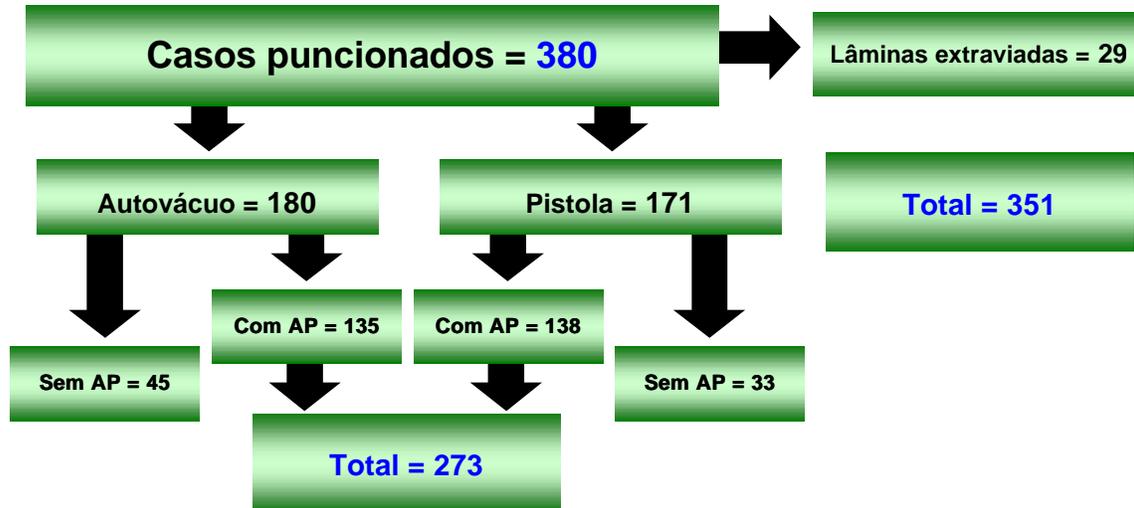


Figura 8. Distribuição esquemática dos casos incluídos no estudo in vivo. O total de 351 casos foi utilizado para as análises de material insuficiente, celularidade, fundo hemorrágico e distorção celular. O total de 273 casos com AP (pacientes que tiveram a confirmação histológica posterior da lesão previamente puncionada) foram incluídas na análise de acurácia.

Para que se pudesse facilitar o entendimento da análise de acurácia, inicialmente foram cruzados os resultados da histologia (se câncer ou se benigno), com os resultados da citologia, de acordo com cada dispositivo de punção utilizado, conforme pode ser visto na Tabela 11 (dispositivo de autovácuo) e na Tabela 12 (pistola de apreensão de seringa).

TABELA 11

Distribuição dos casos de acordo com o resultado da histologia conforme o resultado da citologia, no grupo de pacientes puncionados pelo dispositivo de autovácuo

Citologia	Histologia	
	Câncer	Benigno
Maligno	22 (a)	1 (e)
Suspeito	3 (b)	4 (f)
Benigno	3 (c)	77 (g)
Insuficiente	7 (d)	18 (h)

TABELA 12

Distribuição dos casos de acordo com o resultado da histologia conforme o resultado da citologia, no grupo de pacientes puncionados pela pistola de apreensão de seringa

Citologia	Histologia	
	Câncer	Benigno
Maligno	25 (a)	0 (e)
Suspeito	5 (b)	2 (f)
Benigno	4 (c)	74 (g)
Insuficiente	9 (d)	19 (h)

Assim, como pode ser visto nas Tabelas 11 e 12, quando foram analisados somente os casos conclusivos pela citologia (caselas a, c, e, g), houve 22 casos de verdadeiros positivos no grupo de autovácuo e 25 no grupo da pistola (casela a). Em relação aos verdadeiros negativos, foram 77 e 74 para os grupos de autovácuo e pistola, respectivamente (casela g). Houve apenas um caso de falso positivo que ocorreu no grupo do dispositivo de autovácuo (casela e) e, em relação aos falsos negativos, ocorreram três no grupo de autovácuo e quatro no grupo da pistola (casela c).

Quando os casos suspeitos foram incluídos na análise, houve 25 verdadeiros positivos no grupo de autovácuo e 30 no da pistola (caselas a, b). Também houve um aumento dos casos de falsos positivos, que passaram a corresponder a cinco casos no grupo de autovácuo e a dois casos no de pistola (caselas e, f). Quanto aos verdadeiros negativos e falsos negativos, mantiveram-se inalterados.

Após a aplicação das fórmulas de acurácia, conforme descritas no Anexo 5, compararam-se todas as medidas entre os grupos puncionados pelo dispositivo de autovácuo com aquele puncionado com a pistola de apreensão de seringa, conforme o método sugerido por GALEN & GAMBINO (1975). Observou-se que ambos os dispositivos de punção produziram resultados de alta precisão e, bastante semelhantes, sob os vários aspectos da acurácia, não tendo sido verificada nenhuma diferença significativa entre os grupos (Tabela 13).

TABELA 13**Indicadores de acurácia da PAAF de acordo com o tipo de punção**

Teste	Autovácuo %	Pistola %	p valor
Sensibilidade absoluta	63	58	0,7
Sensibilidade completa (malig/susp)	71	70	0,8
Especificidade	77	78	0,9
Valor preditivo positivo (maligno)	96	100	0,8
Valor preditivo negativo	96	95	0,8
Acurácia total p/ casos diagnósticos	73	72	0,8
Acurácia total completa (malig/susp)	76	75	0,9
Taxa de falso negativo	8,6	9,3	0,7
Taxa de falso positivo	2,9	0	0,1

Em relação à celularidade dos aspirados, observou-se que houve um maior número de lâminas com material abundante e moderado no grupo puncionado pelo dispositivo de autovácuo. Não obstante, essa diferença não foi estatisticamente significativa ($p = 0,4$), conforme mostrado na Tabela 14.

TABELA 14**Distribuição dos aspirados, em relação a celularidade das amostras, de acordo com o tipo de dispositivo usado**

Celularidade dos aspirados	Autovácuo		Pistola	
	n	(%)	N	(%)
Abundante	61	(34)	50	(29)
Moderada	57	(32)	51	(30)
Escassa/ausente	62	(34)	70	(41)

$X^2 = 1,68$; $p = 0,4$.

Em relação à distorção das células, observou-se que esse artefato ocorreu em poucos casos, sendo bastante semelhante entre os dois grupos, conforme mostra a Tabela 15, não havendo diferença entre eles ($p = 0,7$).

TABELA 15
Distribuição dos aspirados, em relação à distorção celular das amostras, de acordo com o tipo de dispositivo usado

Distorção celular	Autovácuo		Pistola	
	n	(%)	n	(%)
Presente	31	(17)	26	(15)
Ausente	149	(83)	145	(85)

$X^2 = 0,14$; $p = 0,7$.

Quando analisado o artefato de fundo hemorrágico, observou-se que houve uma grande quantidade de aspirados hemorrágicos em ambos os grupos de punção. Porém, apenas 3% dos esfregaços puncionados pelo dispositivo de autovácuo e 5% daqueles colhidos com a pistola de apreensão de seringa, é que interferiram na leitura citológica, atrapalhando sua interpretação. Deve ser salientado que o fundo hemorrágico não foi diferente entre os grupos estudados (Tabela 16).

TABELA 16**Distribuição dos aspirados, em relação ao fundo hemorrágico das amostras, de acordo com o tipo de dispositivo usado**

Fundo hemorrágico	Autovácuo		Pistola	
	n	(%)	n	(%)
Presente, interferindo na leitura citológica	5	(3)	9	(5)
Presente, não interfere na leitura citológica	58	(32)	45	(26)
Ausente	117	(65)	117	(69)

 $\chi^2 = 2,55; p = 0,27$

5. Discussão

Em 1933, STEWART afirmava que o valor da punção aspirativa era estritamente dependente tanto do clínico quanto do patologista. Passados 68 anos, parece que essa afirmação é óbvia. Não obstante, foi necessário um longo caminho para que houvesse uma acomodação conceitual, até seu entendimento e utilização nos dias de hoje.

A PAAF, na verdade, nada mais é que uma variedade da tradicional biópsia aberta, em que a lesão é completamente identificada através do exame de vários cortes histológicos. Na PAAF, apenas uma pequena parte da lesão é amostrada. De uma forma geral, segundo Masood, o diagnóstico citológico, analogamente, pode ser comparado ao fato de se olhar pelo buraco de uma fechadura e querer ver todo o cômodo (MASOOD, 1998).

Por isso, a PAAF requer uma combinação de precisão, experiência e imaginação, sendo que os dois pontos cruciais são a coleta do material e a interpretação do mesmo. A precisão estará ligada, principalmente, ao primeiro

enquanto a imaginação ao segundo. Quanto à experiência, ela é fundamental em ambos os processos.

Parte da precisão está relacionada com a curva de aprendizado do método, de forma que, iniciantes na técnica costumam gerar grande quantidade de material insatisfatório e de material inadequado para a leitura citológica (FURNIVAL et al., 1975). Por outro lado, o dispositivo que se usa para a PAAF também pode alterar a acurácia e, principalmente, a taxa de material insatisfatório. Como exemplo, pode-se citar um outro estudo *ex vivo*, onde foi demonstrado que o calibre da agulha é fundamental para a punção, de forma que, agulhas com o diâmetro interno mais grosso, podem gerar um material contendo vários aglomerados celulares que, ao serem espalhados nas lâminas, permanecem em camadas, dificultando a interpretação citológica. Nesse mesmo estudo, os autores também concluíram que o número de passes pelo tumor é importante, sendo que um mínimo de dez passes deva ser realizado para que se possa maximizar os benefícios da citopunção (HARTLEY et al., 1988).

Desde a descrição da PAAF, vários métodos para executá-la têm sido descritos e empregados, através dos anos. O mais simples, onde uma seringa é montada em uma agulha (mão livre), ainda é utilizado. Entretanto, essa forma foi amplamente substituída pela pistola de apreensão de seringa, descrita inicialmente por FRANZÉN, GIERTZ, ZAJICEK (1960).

Com a utilização das pistolas de apreensão, a técnica em si foi muito facilitada, permitindo que o examinador concentrasse, de maneira mais adequada,

sua atenção no direcionamento da agulha e mantendo uma aspiração de forma mais uniforme para a coleta adequada do material.

Os pontos negativos advindos com a utilização da pistola de apreensão se encontram nos fatos de o dispositivo montado ser grande e de certo peso. Isso faz com que o examinador perca um pouco da sensibilidade tátil, dificultando a sensação da ponta da agulha passando pelo tumor. Deve ser lembrado que essa sensibilidade é uma forma complementar de avaliação do exame e deve ser sempre considerada, junto ao exame clínico, na suspeita de um nódulo mamário maligno (ROBERTS & RAINSBURY, 1994; SOUZA et al., 1995). Outro ponto negativo é que a paciente pode ficar tensa e menos colaborativa ao ver o dispositivo de apreensão montado, devido ao seu tamanho.

Para facilitar ainda mais a punção, outros dispositivos têm sido apresentados por diferentes pesquisadores (FREITAS JR et al., 1991; HENDERSON, McCREADY, STANISICH, 1994; SASAKI & IZU, 1998; TAO & SMITH, 1999).

O dispositivo de autovácuo vem sendo desenvolvido e testado desde 1990, sendo que a publicação dos primeiros resultados ocorreu em 1991 (FREITAS Jr. et al., 1991).

HENDERSON et al. (1994), em uma nota prévia, descreveram uma maneira fácil, simples e barata de se obter os aspirados, através da interposição da capa plástica da agulha descartável utilizada, entre a aba da seringa e o seu êmbolo. Apesar de não terem demonstrado números, eles referiram que esse

pequeno truque facilitou o método de punção, evitando o desconforto e dor dos dedos do puncionador (HENDERSON et al., 1994).

Em 1998, SASAKI & IZU, descreveram a utilização de um novo dispositivo, idealizado por eles, no qual ligas de borracha eram disparadas por gatilhos fazendo a pressão negativa necessária para a aspiração. Os autores apresentaram os resultados da utilização do dispositivo em 458 nódulos de tireóide e observaram que foi possível confirmar 84% de casos de câncer de tireóide, comparado a uma taxa de 76% quando o grupo utilizava a pistola de FRANZÉN. Nesse trabalho, eles descrevem a facilitação do método, principalmente nos nódulos de pequeno tamanho.

Um dispositivo, chamado “Aspirador de Tao”, foi recentemente colocado no mercado, e, em 1999, seus inventores publicaram os resultados advindos do seu uso em diferentes tumores. No “Aspirador de Tao”, uma seringa descartável de 5ml é montada em um dispositivo plástico. Um gatilho dispara uma pequena mola que, por sua vez, retrai o êmbolo da seringa, formando a pressão negativa. O dispositivo também possui um mecanismo de graduação da aspiração, o que pode ser uma outra vantagem. Para esse dispositivo, os autores apresentaram os resultados de 150 punções aspirativas por agulha fina, conduzidas em diferentes tumores, incluindo 34 lesões mamárias. O principal fato foi que não tiveram nenhum aspirado inadequado para leitura citológica (TAO & SMITH, 1999).

É importante observar que todos esses novos dispositivos, permitem que o examinador mantenha uma curta distância entre a mão que empunha o aparelho e

o tumor. Também deve ser notado que a maneira de segurar os dispositivos em muito se assemelha com o dispositivo de autovácuo (como se empunhasse uma caneta), mostrando que a idéia, cada vez mais, parece se generalizar em diferentes partes do globo.

As vantagens da utilização de aparelhos que possam ser empunhados como canetas, em relação às pistolas de apreensão de seringa, foram recentemente bem descritas e incluem menor distância entre a mão do examinador e a lesão, maior sensibilidade táctil e aspiração constante. Esses fatores, segundo os autores, levariam a uma facilitação na coleta do material (TAO & SMITH, 1999).

Especificamente em relação ao dispositivo de autovácuo, desde 1991, já descrevíamos as facilidades do seu uso em relação às pistolas de apreensão de seringa (FREITAS Jr. et al., 1991). Posteriormente, em 1992 e 1996, voltamos a comentar as vantagens do dispositivo de autovácuo em relação à facilitação do exame. Nesses trabalhos, descrevemos que a redução do peso, o menor tamanho, a menor distância entre a mão do puncionador e a lesão e, principalmente, a aspiração automática do dispositivo, beneficiavam todo o procedimento, deixando-o ainda mais simples (FREITAS Jr. et al., 1992; FREITAS Jr. et al., 1996).

Não obstante, as publicações envolvendo esses novos métodos não os compararam adequadamente a alguma técnica já consagrada pelo uso (ex: mão livre ou pistola de apreensão de seringa). Assim, o grande benefício do presente trabalho foi estabelecer adequadamente uma comparação direta entre

um dispositivo empunhado como caneta com a clássica e consagrada pistola de apreensão de seringa na realização da punção.

Uma vez que o objetivo do estudo era o de avaliar a coleta através de diferentes métodos, acreditava-se, ao desenhar o projeto, que os dados deveriam ser reproduzidos com facilidade. A partir desse pensamento, foi feita a opção de que a punção devesse ser executada por vários profissionais, incluindo os médicos residentes do Serviço, os quais estão em formação. Certamente, isso poderia reproduzir fielmente as situações que ocorrem no dia-a-dia em relação à punção por agulha fina.

Por outro lado, a leitura citológica deveria ser o mais estrito possível, de forma que a experiência e capacidade de interpretação fossem homogêneas em todos os aspirados, evitando dessa forma, a possibilidade de viés na leitura citológica. Por esse fato, apenas uma citopatologista foi responsável pela leitura de todo o material do estudo.

Também era importante que a citopatologista não tivesse conhecimento do tipo de dispositivo que havia sido utilizado em cada caso, evitando que pudesse ser influenciada por um ou outro método, motivo que levou à confecção da ficha de laudo citológico com poucos informes clínicos e não constando nela o método de punção (Anexo 3).

A acurácia da PAAF pode estar também relacionada com fatores ligados ao tumor, tais como o tamanho, a localização, a mobilidade e o tipo histológico (AZZARELLI et al., 1983; PATEL et al., 1987; FEICHTER et al., 1997; ARÍSIO

et al., 1998). Assim, tumores pequenos e de maior mobilidade, têm maior chance de não serem penetrados pela agulha (ZAJDELA et al., 1975; PATEL et al., 1987; FEICHTER et al., 1997). As lesões mais profundas requerem uma prática maior do puncionador, visto que a possibilidade iminente de um pneumotórax, pode levar o examinador inexperiente a não introduzir a agulha na lesão. Já, em relação à consistência, para alguns tumores pétreos, a agulha consegue tocar e até penetrar no tumor; porém, as células não se soltam, deixando o aspirado insatisfatório para leitura citológica (PATEL et al., 1987).

Para que fossem evitadas as possibilidades de viés, em relação aos fatores relacionados ao tumor e à subjetividade da leitura citológica, alguns cuidados foram tomados.

O estudo *ex vivo* foi conduzido com a finalidade de se obter aspirados de um mesmo tumor pelos dois métodos, o que não seria eticamente adequado na mesma paciente. Isso permitiu que ambos os dispositivos fossem testados em lesões de características iguais (ex: mesmo tamanho, mobilidade e consistência). Também deve ser ressaltado que se buscava, neste estudo, ausentar a subjetividade da leitura citológica, uma vez que o processo de leitura pela citometria de fluxo é eletrônico e objetivo, não podendo ser influenciado pela preferência de um ou outro dispositivo.

Nos resultados apresentados no presente trabalho, observamos que a utilização de aspirados de PAAF para estudo através da citometria de fluxo é bastante confiável, uma vez que foi possível obter histogramas em mais de 90%

das amostras para determinação do índice de DNA e, em aproximadamente 60%, para análise da fase S e da porcentagem de células aneuplóides. Quando comparados ao estudo da citometria, produzido pelas peças cirúrgicas, após o processo de desparafinização, não houve diferença significativa do número de materiais analisáveis.

Há de se ressaltar que não houve uma diferença significativa observada entre a média do coeficiente de variação em ambos os grupos de PAAF (autovácuo e pistola), em relação ao grupo de peça cirúrgica. Isso reflete que os aspirados a fresco podem ser tão adequados para a citometria de fluxo quanto o tecido desparafinado.

Outros autores estudando aspirados de PAAF para uso na citometria de fluxo, também conseguiram bons resultados e salientaram a possibilidade do seu uso na prática clínica (LEVACK et al., 1987; KLEMI & JOENSUU, 1988; SPYRATOS et al., 1992; DAVEY et al., 1993; MARTELLI et al., 1993).

Deve-se notar que o material aspirado para a citometria, na presente série, foi proveniente de punções realizadas após a ressecção do tumor (*in vitro*), em que o número de hemácias é bem menor, se comparado às punções quando realizadas na paciente (*in vivo*). Ratificando a boa qualidade do material obtido através de aspirados, KLEMI & JOENSUU (1988) fizeram uma comparação direta entre os aspirados e a peça cirúrgica arquivada em parafina. Eles observaram (*in vivo*) que o coeficiente de variação do material proveniente das punções foi menor que os obtidos com a suspensão desparafinizada.

A citometria de fluxo, por mais de década, tem sido reconhecida como um poderoso método no estudo do prognóstico do câncer de mama. Com a utilização de tecido arquivado em parafina ou mesmo de fragmentos congelados, vários estudos mostram que, tanto o estudo do DNA quanto à proliferação celular (fase S) correlaciona-se independentemente com o comportamento dos carcinomas mamários (BAILDAM et al., 1987; O'REILLY, CAMPLEJOHN, BARNES, 1990; NOGUCHI et al., 1991; WITZIG et al., 1991; BERGERS, VAN DIEST, BAAK, 1995; BARBOSA, 1998).

Na presente série observou-se que as médias do índice de DNA, da aneuploidia e da porcentagem de células na fase-S foram similares entre os dois grupos de punção, mostrando que ambas as técnicas são similares na obtenção de aspirados adequados para a mensuração desses fatores de prognóstico.

Ao se comparar os aspirados com o material desparafinado das peças cirúrgicas, notou-se uma diferença significativa entre a média de células aneuploides do grupo do dispositivo de autovácuo (43,43 DP \pm 23,26) em relação ao grupo das peças cirúrgicas (27,93 DP \pm 17,39). Não conseguimos explicar o motivo dessa diferença. Porém deve ser considerado que ela possa ter acontecido apenas por viés, uma vez que a variação e o desvio padrão foram grandes.

Na última década, novas perspectivas têm surgido para os aspirados da PAAF. Assim, BOZZETTI et al. (1997) após estudarem a associação da dosagem do KI-67 com a fração de células na fase S, utilizando aspirados de PAAF, passaram a recomendar que essa associação fosse utilizada na abordagem

pré-operatória de pacientes que serão submetidas à quimioterapia neo-adjuvante (BOZZETTI et al., 1997). A realização de punções seriadas durante a quimioterapia neo-adjuvante, com o intuito de verificar o comportamento tumoral através da cinética celular e conseqüente monitorização de resposta, foi aventada por LEVACK et al. (1987) e, posteriormente confirmada por SPYRATOS et al. (1992).

Sistemas mais modernos, como a citometria automatizada por imagem, têm permitido a mensuração da ploidia da proliferação celular, com números relativamente pequenos de células (1000), potencializando ainda mais a possibilidade adequada do uso de aspirados provenientes de PAAF (TRUONG et al., 1998).

Outro campo que vem chamando a atenção é a imuno-histoquímica, na qual os aspirados e esfregaços da PAAF podem ser utilizados na busca de fatores de prognóstico e de avaliação de resposta. Nessa linha, a dosagem de receptores de estrogênio e de progesterona tem sido utilizada por vários Serviços na condução e decisão de terapêuticas sistêmicas neo-adjuvantes e de adjuvantes (CRAWFORD et al., 1985; MAGDELENAT et al., 1987; HORSFALL et al., 1989; SKOOG et al., 1991; NIZZOLI et al., 1994; LEUNG & BEDARD, 1999).

Em outro trabalho, conduzido no Instituto Curie (Paris), os autores observaram que o mesmo aspirado utilizado para determinação dos receptores por imuno-histoquímica, pode ser aproveitado para a citometria de fluxo (VIELH et al., 1992). Na Universidade de São Paulo, PESTANA et al. (1991) observaram a possibilidade de se utilizar o mesmo esfregaço para determinação de receptores

de estrogênio e da ploidia, nos carcinomas ductais. Os esfregaços citológicos também já foram utilizados para a determinação do c-erbB-2, com resultados mostrando uma boa confiabilidade (SUTHIPINTAWONG et al., 1997). No corrente ano, foi desenvolvida uma técnica de imuno-ensaio para dosagem quantitativa de receptores hormonais, tão sensível que apenas 1 fmol/ml de proteína citosólica presente nos aspirados da PAAF permite quantificar adequadamente os receptores de estrogênio e progesterona (SUN et al., 2001).

A realização do estudo *in vivo*, foi necessária para que pudessem ser validados os achados do estudo *ex vivo*, uma vez que, apesar de ser uma forma bastante objetiva de comparar dois métodos distintos, o tumor após sua remoção perde parte de suas propriedades. Isso impede que se possa aplicar os resultados do primeiro, sem uma confirmação adequada em humanos.

Ressaltamos que o estudo foi conduzido obedecendo aos aspectos éticos, incluindo a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do HC/UFG (Anexo 4). Chamamos a atenção que não houve quaisquer complicações sérias para todas as participantes do estudo. Foram observadas apenas pequenas equimoses em algumas pacientes. Também deve ser observado que o fato de não terem sido localizados os aspirados de 29 pacientes, não significa que as mesmas tenham sido conduzidas inadequadamente. Todos esses aspirados foram vistos na rotina do HAJ ou do HC e, as pacientes foram submetidas à ressecção da lesão ou seguidas posteriormente.

Do ponto de vista metodológico, deve ser salientado que a randomização funcionou de maneira adequada. Isso pode ser notado na Tabela 9, a qual mostra uma boa homogeneidade entre os grupos, para todas as variáveis de controle, incluindo: idade, tamanho do tumor, estágio clínico e a histologia. A semelhança entre os grupos faz com que eles sejam estatisticamente comparáveis.

Durante a fase de montagem do projeto de pesquisa, a definição mais difícil esteve relacionada com a interpretação e qualificação da leitura citológica. Alguns pesquisadores têm se baseado na contagem de células para definir a categoria em que se enquadra determinado aspirado, principalmente para definir se o aspirado teria um número adequado de células que pudessem representar a lesão (LAYFIELD et al., 1997). Outros preferem recorrer à associação dos dados clínicos, radiológicos e citológicos para definir o diagnóstico citológico e a adequabilidade do material (ABELE et al., 1998; ECKERT & HOWELL, 1999).

Por ocasião do início da pesquisa, optamos pela categorização dos aspirados em maligno, suspeito e benigno, conforme preconizado por outros autores (GELABERT et al., 1990). Aqui dois aspectos devem ser comentados. O primeiro é que, do ponto de vista estatístico, a utilização de uma classe intermediária (suspeito) dificulta seu enquadramento para a especificação dos testes de acurácia (por exemplo: considerá-la como positivo, como negativo ou não considerá-la). Em segundo, para o citologista a interpretação citológica em apenas maligno ou benigno é inadequada além de perigosa, pois a amostragem, muitas vezes, não segue os critérios para inclusão em um ou outro grupo (CASEY et al., 1992; TEAGUE et al., 1997). Daí a necessidade da utilização de classes

intermediárias. Ocasionalmente, a dificuldade pode ser de tal monta que o uso de programas de informática para análise da imagem pode auxiliar o citologista na interpretação do aspirado (TEAGUE et al., 1997).

Mais recentemente, o *Cytology Sub-Group of the National Coordinating Committee for Breast Screening Pathology*, do Reino Unido, publicou um guia combinando esses dois pontos acima citados (WELLS, 1995). Esse grupo classificou a leitura citológica em cinco classes:

C1 = material inadequado

C2 = benigno

C3 = atipia provavelmente benigna

C4 = suspeito de malignidade

C5 = maligno

Além da classificação, eles sugeriram formas alternativas na construção das tabelas 2 x 2 para a análise da acurácia, criando alguns termos adicionais (ex: sensibilidade completa e sensibilidade absoluta). Isso permitiu que o material insuficiente não fosse considerado para a análise, uma vez que esses aspirados não são diagnósticos. Para as categorias C3 e C4, elas poderiam ser consideradas ou não se a análise for completa ou absoluta, respectivamente (Cytology sub-group NCCFBSP/NHSBSP, 1993). Essa classificação em cinco categorias foi também preconizada pela reunião de consenso organizada pelo National Câncer Institute, nos Estados Unidos (NCI, 1997), e referendada por grupos de grande peso no contexto da patologia mamária (PAGE, JOHNSON, DUPONT, 1997).

Para o presente estudo foi mantida apenas uma classe intermediária (suspeito), uma vez que já havíamos iniciado o estudo quando da publicação do NHSBSP. Não obstante, foi aproveitada a metodologia de análise da acurácia, aproveitando ou retirando os casos classificados como suspeitos à citologia, de acordo com o preconizado pelo *Cytology Sub-Group of the National Coordinating Committee for Breast Screening Pathology* do Reino Unido (NCCFBSP/NHSBSP, 1993; WELLS, 1995).

Deve ser salientado, conforme mostrado na Tabela 13, que a acurácia foi boa nos casos do presente estudo, sendo que foram semelhantes, para todos os testes de acurácia, em ambos os grupos, não havendo diferença estatística da acurácia entre os aspirados provenientes da pistola, quando comparados aos do dispositivo de autovácuo. Isso mostra que a acurácia não foi influenciada pelo método de punção.

Comparando os dados da acurácia oriundos de nossa série, com os de outros autores (Tabela 1), observamos que as sensibilidades aqui apresentadas por ambos os métodos, estiveram abaixo daquelas mostradas na tabela. Isso se deveu ao fato de que as fórmulas para acurácia sugeridas pelo NCCFBSP/NHSBSP (1993), incluem os casos de câncer confirmados pela histologia e que tinham aspirados classificados como material suspeito ou ainda como material inadequado. Entretanto, todos os parâmetros estudados no presente trabalho estiveram acima do mínimo exigido como um padrão adequado dentro das próprias normas do NCCFBSP/NHSBSP.

Conforme dados apresentados em outros trabalhos, a taxa de material insuficiente pode variar de 3% a 41% (PATEL et al., 1987; ABELE et al., 1998), porém, a maioria dos trabalhos reporta taxas consideradas aceitáveis, que variam de 6% a 20% (ZAJDELA et al., 1975; LAYFIELD & DODD, 1996; FEICHTER et al., 1997; ARISIO et al., 1998).

Entre os motivos descritos que podem interferir na taxa de material insuficiente estão: o tipo de lesão puncionada, sendo que carcinomas lobulares e alterações funcionais apresentam maior possibilidade de aspirados acelulares ou paucicelulares (PATEL et al., 1987; PREECE et al., 1989; ABELE et al., 1998); o tamanho do tumor, sendo que tumores pequenos ou muito grandes aumentam a chance de material insuficiente (ZAJDELA et al., 1975; BARROWS et al., 1986; FEICHTER et al., 1997); e a experiência individual do puncionador (BARROWS et al., 1986; PREECE et al., 1989). Alguns pesquisadores referem que quando a punção é executada e lida pelo citologista, os resultados podem ser mais adequados com uma menor taxa de material inadequado (ROCHA et al., 1997). Não obstante, na grande maioria dos Serviços especializados em abordar a patologia mamária, os cirurgiões são os responsáveis pelo ato da punção (LAYFIELD, MOONEY, COOGAN, 1998).

Conforme pode ser observado, a taxa de material insuficiente foi alta no presente estudo (19%). Apesar de haver um maior número de aspirados insuficientes no grupo puncionado pela pistola (22% versus 16%), essa diferença não foi significativa (Tabela 10), mostrando que essa taxa não foi influenciada pelo método de punção.

Acreditamos que a alta taxa de material insuficiente possa ter sido decorrente de dois fatores. O primeiro pela PAAF ter sido executada por profissionais em treinamento, e que ainda estão vivendo suas curvas de aprendizado com a técnica. O segundo motivo está relacionado com o grande número de lesões benignas, incluindo 44 casos de fibroadenose (AFBM), 28 de outros benignos (lipomas, hamartomas, etc.), além de 85 casos que não foram submetidos à ressecção (possíveis AFBM). Esses 157 casos totalizam 44,7% de todos os aspirados estudados, e representam alterações que por si apresentam baixa celularidade.

Para certificar esse pensamento realizou-se o teste qui-quadrado entre o achado citológico e o tipo de lesão ressecada. Foi possível confirmar os dados encontrados por outros autores e justificando, em parte, o motivo da nossa alta taxa de material insuficiente, uma vez que ela representou 12% dos fibroadenomas puncionados, 20% dos carcinomas e 31% das AFBM e outros benignos ($X^2 = 10,3$; $p = 0,005$).

Na tentativa de diminuir o número de aspirados inadequados, estamos conduzindo, no presente, um novo estudo com o exame citológico rápido, no qual após a realização da PAAF por um dos médicos residentes do Serviço, o aspirado é imediatamente submetido ao exame citológico, na tentativa de dizer se aquele aspirado apresenta celularidade adequada ou não. Caso o aspirado não apresente uma celularidade satisfatória, a paciente é submetida a uma nova punção por um docente, ainda na mesma consulta. Nesta fase, ainda não estamos incluindo o diagnóstico citológico definitivo, uma vez ainda estamos no período da curva de aprendizado com o diagnóstico rápido.

A experiência com o diagnóstico imediato tem sido documentada por outros autores, os quais têm observado altas taxas de concordância entre ele e o tradicional diagnóstico citológico tardio (DIXON et al., 1987; GIARD & HERMANS, 1993; HIRSCHOWITZ et al., 1994). O grupo de Rotterdam, estudando 503 aspirados de nódulos mamários, obteve concordância entre os diagnósticos imediato e tardio em 95,8% dos casos, correspondendo a uma altíssima pontuação de Kappa de 0,92 (GIARD & HERMANS, 1993). O grupo da Universidade de Oxford, também reportou uma ótima experiência com o diagnóstico citológico imediato. Com esse método eles conseguiram reduzir a taxa de biópsia cirúrgica aberta em lesões benignas de 74% para 23% (DIXON et al., 1987).

Na literatura, a taxa de falso negativo varia de 1% a 35% (FEICHTER et al., 1997; ARISIO et al., 1998). Ela pode ser influenciada pelos mesmos motivos que foram discutidos para a sensibilidade do exame. Assim, quando a agulha não penetra na lesão ou ao penetrar não consegue remover células da mesma, a representação se fará de maneira inadequada, gerando os falsos negativos. Essa falha também pode ocorrer na punção de carcinomas bem diferenciados, nos quais a dificuldade está em se reconhecer pequenas alterações da morfologia celular, que se confundem com os tumores benignos (PREECE et al., 1989; O'MALLEY et al., 1993; FEICHTER et al., 1997).

No presente estudo, a taxa de falso negativo foi relativamente baixa, quando comparada a outros trabalhos (8,6% no grupo de autovácuo e 9,3% no grupo de pistola de apreensão). Essa semelhança mostrou que os resultados falsos negativos não foram influenciados pelo método de punção. Não obstante,

para a redução da taxa de falso negativo e aumento da sensibilidade, o Grupo de Torino utilizou a técnica de inclusão de células em parafina (*cell block*). Nesse trabalho os autores conseguiram reduzir a taxa de falso negativo de 3,9% para 1,4% (ARISIO et al., 1998).

Já, a taxa de falsos positivos costuma ser bem baixa, variando de 0 a 9% (ARISIO et al., 1998), e está relacionada diretamente à interpretação dos aspirados pelo citologista (PREECE et al. 1989). Algumas lesões podem ser confundidas com os carcinomas, tais como nódulos em gestantes, fibroadenomas, adenose esclerosante e hiperplasias (KLINE et al., 1979; PREECE et al., 1989; MATSUDA et al., 1993; AL-KAISI, 1994).

KLINE et al. (1979), após revisão de 3.545 casos, observaram que a taxa de falso positivo reduziu de 4,6% para 1,2%, à medida que os citologistas foram ganhando experiência. A partir daí, alterações fibrocísticas, hiperplasia lobular e fibroadenomas foram os responsáveis pela persistência da taxa no patamar de 1,2%.

Dentre as lesões mamárias, o fibroadenoma costuma ser a que provoca o maior número de falsos positivos. Na tentativa de evitar confusão diagnóstica com os carcinomas mucinosos, MATSUDA et al. (1993), chamaram a atenção para uma melhor observação do muco, uma vez que, um grupo de células estromais envoltas em muco ou a presença de células ductais dissociadas do muco, sugerem fibroadenoma e não um carcinoma colóide (MATSUDA et al., 1993). Ainda nesse sentido, SACK (1994), diante da dúvida, preconizou o uso da

coloração de mucicarmina, o que facilitaria ainda mais o estudo adequado do muco (SACK, 1994).

No presente estudo houve apenas um caso de falso positivo, puncionado pelo dispositivo de autovácuo. A histologia revelou que se tratava de um fibroadenoma. Outros seis casos em que citologia foi suspeita, porém não conclusiva, tratavam-se de quatro fibroadenomas e duas fibroadenoses (AFBM), estando de acordo com o descrito em vários outros trabalhos (KLINE et al., 1979; PREECE et al., 1989; MATSUDA et al., 1993; AL-KAISI, 1994; LAYFIELD & DODD, 1996; KLIJANIENKO et al., 2001).

Na tentativa de se estabelecer um parâmetro de comparação entre os dois dispositivos utilizados para a PAAF, procuramos definir a celularidade em três categorias: intensa, moderada e escassa, conforme o número de células por um campo de maior aumento na área de maior celularidade. Esse dado não serviu como base para o diagnóstico citológico e, simplesmente, para comparar os dispositivos testados.

Apesar de os trabalhos, em geral, não se referirem a respeito da hemorragia durante a punção, os aspirados hemorrágicos podem promover uma diluição natural das células aspiradas, aumentando a chance de obtenção de material insuficiente para análise (CATANIA & BONO, 1992). Por outro lado, durante a leitura citológica, a hemorragia de fundo pode dificultar o exame, com conseqüente diminuição da acurácia.

Como acreditávamos que a variação de intensidade da aspiração pudesse interferir na hemorragia durante a punção, observamos a hemorragia de fundo, criando categorias que pudessem nos auxiliar, em decorrência da inexistência dessa observação na literatura. Como parâmetro, observamos na leitura citológica se havia a presença de hemorragia de fundo ou não e, caso existisse, se a mesma estaria interferindo na leitura do aspirado. Os resultados apresentados mostraram que houve hemorragia de fundo em 35% dos casos aspirados com o dispositivo de autovácuo e em 31% dos aspirados com a pistola. Felizmente, em apenas uma pequena proporção de casos o fundo hemorrágico interferiu na leitura do aspirado, 3% e 5% para o grupo aspirado por autovácuo e pistola, respectivamente. Tal semelhança de resultados mostra que o tipo de dispositivo utilizado para a punção das lesões, não interferiu na hemorragia de fundo.

Ao iniciar o projeto, um outro fator que acreditávamos que poderia ser influenciado pela aspiração, durante a punção, é a distorção celular, Também por falta de dados na literatura, qualificamos essa variável em presente e ausente. Apesar de haver um considerável número de aspirados com distorção celular, 17% e 15% nos grupos de autovácuo e pistola, respectivamente, o método de punção não influenciou a celularidade das amostras.

À medida que os tumores mamários são diagnosticados com tamanhos cada vez menores, aumenta o número de lesões não palpáveis clinicamente e, que ao serem vistas pelo ultra-som, podem apresentar alguma característica de câncer, que deva ser investigada. Nos últimos anos vários autores têm apresentado suas séries, mostrando uma grande valia do uso da PAAF dirigida

pela ultra-sonografia (KLIJANIENKO et al., 1998; BOERNER et al., 1999; KEMP et al., 2001).

Uma vez que boa parte dos examinadores realizam o ultra-som e ao mesmo tempo a punção, possivelmente o dispositivo de autovácuo teria um grande valor nesses casos, uma vez que o ultra-sonografista não necessitaria de fazer a pressão negativa, mas simplesmente posicionar a agulha dentro da lesão, monitorizando a punção pelo transdutor sonoro.

Corroborando a experiência de outros pesquisadores, a utilização de dispositivos empunhados como caneta propicia um maior conforto ao examinador, tornando a PAAF ainda mais fácil. Este estudo valida o método e permite que os profissionais que lidam com a patologia mamária tenham mais uma opção, seguramente testada, ao seu alcance.

6. Conclusões

1. Os aspirados gerados tanto pelo dispositivo de autovácuo quanto pela pistola de apreensão de seringa produziram resultados semelhantes na citometria de fluxo (coeficiente de variação, do índice de DNA, da percentagem de células na fase S e da percentagem de células aneuplóides).
2. O coeficiente de variação, o índice de DNA e a percentagem de células na fase-S foram semelhantes entre os aspirados gerados por ambas as técnicas citológicas, quando comparados ao material obtido com tecido arquivado em parafina. A média de células aneuplóides foi significativamente maior nos aspirados provenientes do dispositivo de autovácuo do que no material proveniente de tecido histológico armazenado em parafina.
3. A acurácia da PAAF foi semelhante para os grupos puncionados, tanto pelo dispositivo de autovácuo quanto pela pistola de apreensão de seringa, nos nódulos palpáveis e sólidos da mama.

4. As taxas de falsos negativos e de falsos positivos foram baixas e semelhantes entre os dois grupos.
5. Houve uma alta taxa de aspirados insatisfatórios para leitura citológica, porém ela foi semelhante entre os dois grupos de punção.
6. A celularidade dos aspirados, a hemorragia de fundo e a distorção celular foram semelhantes na leitura citológica dos aspirados gerados tanto pelo dispositivo de autovácuo quanto pela pistola de apreensão de seringa.

7. Referências Bibliográficas

ABELE, J. STANLEY, M.W.; ROLLINS, S.D.; MILLER, T.R. - What constitutes an adequate smear in fine-needle aspiration cytology of the breast? ***Cancer Cytopathol.*, 84:57-60, 1998.**

ADYE, B.; JOLLY, P.C.; BAUERMEISTER, D.E. - The role of fine needle aspiration in the management of solid breast masses. ***Arch. Surg.*, 123: 37-9, 1988.**

AL-KAISI, N. - The spectrum of the "gray zone" in breast cytology. A review of 186 cases of atypical and suspicious cytology. ***Acta Cytol.*, 38:898-908, 1994.**

ALVARENGA, F.R.; SILVA, A.S.; TAIA, L.; SOARES, V.F.; FREITAS Jr., R. - Campanha de exame físico da mama: uma meta a ser alcançada. In: XXV JORNADA GOIANA DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA. Goiânia, 1998. **Anais**. Goiânia, 1998.

ANAN, K.; MORISAKI, T.; KATANO, M.; IKUBO, A.; TSUKAHARA, Y.; KOJIMA, M.; UCHIYAMA, A.; KUROKI, S.; TORISU, M.; TANAKA, M. - Assessment of c-erbB2 and vascular endothelial growth factor mRNA expression in fine-needle aspirates from early breast carcinomas: pre-operative determination of malignant potential. ***Eur. J. Surg. Oncol*, 24:28-33, 1998.**

- ARISIO, R.; CUCCORESE, C.; ACCINELLI, G.; MANO, M.P.; BORDON, R.; FESSIA, L. - Role of fine-needle aspiration biopsy in breast lesions: analysis of a series of 4,110 cases. *Diagn. Cytopathol.*, **18**:462-7. 1998.
- AZZARELLI, A.; GUZZON, A.; PILOTTI, S.; QUAGLINODO, V.; BONO, A.; DI PIETRO, S. - Accuracy of breast cancer diagnosis by physical, radiologic and cytologic combined examinations. *Tumori*, **69**:137-41, 1983.
- AZZOPARDI, J.G.; CHEPICK, O.F.; HARTMANN, W.H.; JAFAREY, N.A.; LLOMBART-BOSCH, A.; OZZELLO, L.; RILKE, F.; SASANO, N.; SOBIN, L.H.; SOMMERS, S.C.; STALSBERG, H.; SUGAR, J. - The World Health Organization histological typing of breast tumors. *Am. J. Clin. Pathol.*, **78**: 806-16, 1982.
- BAILDAM, A.D.; ZALOUDI, J.; HOWELL, A.; BARNES, D.M.; MOORE, M.; SELLWOOD, R.A. - Effect of tamoxifen upon cell DNA analysis by flow cytometry in primary carcinoma of the breast. *Br. J. Cancer*, **55**:561-6, 1987.
- BAISCH, H.; GÖHDE, W.; LINDEN, W.A. - Analysis of PCP-data to determine the fraction of cells in the various phases of cell cycle. *Radiat. Environ. Biophys*, **12**:31-9, 1975.
- BARBOSA, E.M. - **Análise da DNA ploidia e porcentagem de células em fase S, determinada por citometria de fluxo e de outras variáveis prognósticas em carcinomas primários de mama.** São Paulo, 1995. [Dissertação – Mestrado – Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo].
- BARBOSA, E.M. - Análise da porcentagem da DNA ploidia e de células em fase S, determinada por citometria de fluxo e por outras variáveis prognósticas em carcinomas primários da mama. *Rev. Bras. Cancerol.*, **44**:25-34, 1998.

- BARROWS, G.H.; ANDERSON, T.J.; LAMB, J.L.; DIXON, J.M. - Fine-needle aspiration of breast cancer. Relationship of clinical factors to cytology results in 689 primary malignancies. **Cancer**, **58**:1493-8, 1986.
- BASO BREAST SPECIALTY GROUP. The British Association of Surgical Oncology guidelines for surgeons in the management of symptomatic breast disease in the UK (1998 revision). **Eur. J. Surg. Oncol.**, **24**:464-76, 1998.
- BECKER, N. - Cancer mortality and prevention in the European Union. **Eur. J. Surg. Oncol.**, **24**:370-4, 1998.
- BENNETT, I.C.; FREITAS Jr.; FENTIMAN, I.S. - Diagnosis of breast cancer in young women. **Aust. NZ J. Surg.**, **61**:284-9. 1991.
- BERG, J.W. & ROBBINS, G.F. - A late look at the safety of aspiration biopsy. **Cancer**, **15**:826-7, 1962.
- BERGERS, E.; VAN DIEST, P.J.; BAAK, J.P.A. - Cell cycle analysis of 932 flow cytometry DNA histograms of fresh frozen breast carcinoma material. Correlations between flow cytometry, clinical, and pathologic variables. **Cancer**, **77**:2258-66, 1996.
- BIASUZ, J.A.C.; FREITAS Jr., R.; CURADO, M.P.; FERNANDES, M.V.R. - Melhoria no perfil diagnóstico do câncer de mama em Goiânia .In: I FÓRUM NACIONAL DE PESQUISAS DA ESCOLA BRASILEIRA DE MASTOLOGIA, Goiânia, 1991. **Anais**. Goiânia, 1999.
- BOERNER, S.; FORNAGE, B.D.; SINGLETARY, E.; SNEIGE, N. - Ultrasound-guided fine-needle aspiration (FNA) of nonpalpable breast lesions. A review of 1885 FNA cases using the National Cancer Institute-supported recommendations on the uniform approach to breast FNA. **Cancer Cytopathol.**, **87**:19-24, 1999.

- BONO, A & CATANIA, S. – The hazards of fine-needle aspiration. In: CATANIA, S & CIATTO, S. **Breast cytology practice**. Martin Dunitz, Londres, 1992. p.114-8.
- BOZZETTI, C.; NIZZOLI, R.; CAMISA, R.; GUAZZI, A.; CECI, G.; COCCONI, G.; MAZZINI, G.; NALDI, N. - Comparison between Ki-67 index and S-phase fraction on fine-needle aspiration samples from breast carcinoma. **Cancer Cytopathol., 81:287-92, 1997.**
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Estatísticas de mortalidade Brasil 1979**. Brasília, Centro de Documentação do Ministério da Saúde, 1979, 93p.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Estatísticas de mortalidade Brasil 1980**. Brasília, Centro de Documentação do Ministério da Saúde, 1980, 98p.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE – Secretaria Nacional de Prevenção e Vigilância do Câncer. **Estimativa da incidência e mortalidade por câncer no Brasil 1999**. Rio de Janeiro, INCA, 1999.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER – INCA. **Estimativas da incidência e mortalidade por câncer**. Rio de Janeiro, INCA, 2001.
- CALDEIRA, J.R.F. & BUDIN, R.M.A. - Aspectos epidemiológicos do câncer de mama em Jaú – SP e a alta incidência de casos avançados em mulheres idosas. **Rev. Bras. Cancerol., 41:15-7, 1995.**
- CAMPLEJOHN, R.S.; MACARTNEY, J.C; MORRIS, R.W. - Measurement of S-phase fractions in lymphoid tissue comparing fresh versus paraffin-embedded tissue and 4' 6' –diamidino-2 phenylindole dihydrochloride versus propidium iodide staining. **Cytometry, 10:410-6. 1989.**

- CANT, P.J.; LEARMONTH, G.M.; DENT, D.M. - When may fibroadenomas be managed conservatively? **Br. J. Clin. Pract.**, **42**(suppl): 62-6, 1988.
- CASEY, T.T.; RODGERS, W.H.; BAXTER, J.W.; SAWYERS, J.L.; REYNOLDS, V.H.; PAGE, D.L. - Stratified diagnostic approach to fine needle aspiration of the breast. **Am. J. Surg.**, **163**:305-11, 1992.
- CATANIA, S. & BONO, A. - Side-effects and complications of aspiration. In: CATANIA, S. & CIATTO, S. - **Breast cytology in clinical practice**. Martin Dunitz, Londres, 1992. p.103-13.
- CATANIA, S. & CIATTO, S. - Breast cytology: instruments and technique. In: CATANIA, S. & CIATTO, S. - **Breast cytology in clinical practice**. Martin Dunitz, Londres, 1992. p.11-60.
- CEZAR Jr., O.P. - Carcinoma de mama em Bragança Paulista – Experiência de uma década. **Ginec. Obstet. Atual**, **5**:9-13, 1996.
- CHAGAS, C.R. - Aspectos populacionais do câncer de mama. **Rev. Bras. Mastol.**, **4**:11-6, 1994.
- CRAWFORD, D.J.; LOPE-PIHIE, A.; COWAN, S.; GEORGE, W.D.; LEAKE, R.E. - Pre-operative determination of oestrogen receptor status in breast cancer by immunocytochemical staining of fine needle aspirates. **Br. J. Surg.**, **72**:991-3, 1985.
- CURADO, M.P. - Registro de Câncer de Base Populacional de Goiânia. **Rev. Bras. Cancerol**, **36**:43-4, 1990.
- CYPRIANO, A.F.; CYPRIANO, M.C.G.; FARAH, M.C.; AZAMBUJA, K.V. - Casuística do ambulatório de mastologia da FAMECA (estudo retrospectivo de 264 casos de patologia mamária). **Ginec. Obstet. Bras.**, **11**:35-8, 1988.

CYTOLOGY SUB-GROUP OF THE NATIONAL COORDINATING COMMITTEE FOR BREAST SCREENING PATHOLOGY. Guidelines for cytology procedures and reporting in breast cancer screening. National Health System Breast Screening Program, Londres, 1993.

DAVEY, DD; BANKS, ER; JENNINGS, D; POWELL, DE. Comparison of nuclear grade and DNA cytometry in breast carcinoma aspirates to histologic grade in excised cancers. *Am J Clin Pathol*, 1993; 99: 708-713.

DECLARAÇÃO DE HELSINK – Recomendaciones para guiar los medicos en la investigacion biomedical em seres humanos. *Bol. Of. Sanit. Panam.*, **108**(5-6):626-37, 1990.

DIXON, J.M.; CLARKE, P. J.; CRUCIOLI, V.; DEHN, T.C.B.; LEE, E.C.G.; GREENALL, M.J. - Reduction of the surgical excision rate in benign breast disease using fine needle aspiration cytology with immediate reporting. *Br. J. Surg.*, **74**:1014-6, 1987.

DOMINGUEZ, F.; RIERA, J.R.; TOJO, S.; JUNCO, P. - Fine needle aspiration of the breast masses. An analysis of 1,398 patients in a community hospital. *Acta Cytol.*, **4**:341-7, 1997.

ECKERT, R. & HOWELL, L.P.- Number, size, and composition of cell clusters as related to breast FNA adequacy. *Diagn. Cytopathol.*, **21**:105-11, 1999.

EWERS, S.B.; ATTEWELL, R.; BALDETORP, B.; BORG, A.; LANGSTROM, E.; KILLANDER, D. - Prognostic potential of flow cytometric S-phase and ploidy prospectively determined in primary breast carcinomas. *Breast Cancer Res. Treat.*, **20**:93-108, 1991.

FABIAN, C.J.; KIMLER, B.F.; ZALLES, C.M.; KLEMP, J.R.; KAMEL, S.; ZEIGER, S.; MAYO, M.S. - Short-term breast cancer prediction by random periareolar fine-needle aspiration cytology and the Gail risk model. *J. Natl. Cancer Inst.*, **92**:1217-27, 2000.

- FEICHTER, G.E.; HABERTHÜR, F.; GOBAT, S.; DALQUEN, P. - Breast cytology. Statistical analysis and cytohistologic correlations. **Acta Cytol.**, **41**:327-32, 1997.
- FERNANDES, P.C.; OLIVEIRA, D.F.; FERNANDES, M.L.J. - Análise de 118 casos de câncer de mama nos seis anos de Serviço de Mastologia do Hospital Universitário de Uberlândia. **Ginec. Obstet. Bras.**, **11**:9-12, 1988.
- FRABLE, W.J. - Needle aspiration of the breast. **Cancer**, **53**:671-6, 1984.
- FRANZÉN, S.; GIERTZ, G.; ZAJICEK, J. - Cytological diagnosis of prostatic tumours by transrectal aspiration biopsy: a preliminary report. **Br. J. Urol.**, **32**:193-6. 1960;
- FRANZÉN, S. & ZAJICEK, J. - Aspiration biopsy in diagnosis of palpable lesions of the breast. **Acta Radiol. Ther. Phys. Biol.**, **7**:241-62, 1968.
- FREITAS Jr., F.; FAGNANI, M.M.P.; STERBLITCH, G. - Diagnóstico citológico de mastite tuberculosa. Relato de caso e revisão da literatura. **Rev. Paul. Méd.**, **107**:125-8, 1989.
- FREITAS Jr., R.; GIRALDO, P.C.; RETTORI, O.; MATOS, A.N.V.; TAMBASCIA, J. - Um novo dispositivo no auxílio da punção aspirativa por agulha fina nos tumores sólidos de origem mamária: Estudo piloto em ratos. **Rev. Col. Bras. Cir.**, **18**:1-5, 1991.
- FREITAS, Jr., R.; GIRALDO, P.C.; RETTORI, O.; VIEIRA-MATOS, A.N.; TAMBASCIA, J.K. - Fine needle aspiration biopsy of solid tumors by auto-vacuum system: A study in rats. **Eur. J. Surg. Oncol.**, **18**:605-7, 1992.

- FREITAS Jr, R.; HAMED, H.; FENTIMAN, I. - Fine needle aspiration cytology of palpable breast lesions. **Br. J. Clin. Pract.**, **46**:187-90, 1992.
- FREITAS Jr., R.; RAMOS, F.J.F.; FREITAS, I.D.C. - Punção de cistos mamários sob ultra-som. **Rev. Imagem**, **15**:15-8, 1993.
- FREITAS Jr, R. - Penetração de células neoplásicas no trajeto da agulha pós PAAF – relato de caso. **J. Bras. Ginec.**, **104**:239-40, 1994.
- FREITAS Jr, R.; FREITAS, M.E.D.C.; MOREIRA, M.A.R.; SOUZA, J.A. - Punção aspirativa por agulha fina em lesões palpáveis da mama. **Ginecol. Oncol. Atuais**, **4**:11-5, 1995.
- FREITAS Jr, R.; SOARES, V.F.; MELO, N.F.; ANDRADE, M.L.; PHILOCREON, G.R. - Fatores determinantes do conhecimento e prática do auto-exame de mama. **Rev. Bras. Ginec. Obstet.**, **18**:387-91, 1996.
- FREITAS Jr, R.; HAMED, H.; MILLIS, R.R.; TOMAZ, N.M.A.; FENTIMAN, I.S. - Punção aspirativa por agulha fina de lesões mamárias usando dispositivo de autovácuo. **Rev. Bras. Mastol.**, **6**:126-8, 1996.
- FREITAS Jr, R.; OLIVEIRA, E.L.C.; MARINHO, E.R.; CATÃO, R.; PEREIRA, R.J. - Conhecimento do diagnóstico do câncer de mama entre os ginecologistas do Estado de Goiás. In: XXVII JORNADA GOIANA DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA. Goiânia, 2001. **Anais**. Goiânia, 2001.
- FURNIVAL, C.M.; HUGHES, H.E.; HOCKING, M.A.; REID, M.M.W.; BLUMGART, L.H. - Aspiration cytology in breast cancer. **Lancet**, **2**:446-8, 1975.
- GALEN, R.S. & GAMBINO, S.R. - **Beyond normality: the predictive value and efficiency of medical diagnoses**. New York, John Wiley, 1975.

- GATELEY, C.A.; MADDOX, P.R.; MANSEL, R.E. - Pneumothorax: complication of fine needle aspiration of the breast. *Br. Med. J.*, **303**:627-8, 1991.
- GELABERT, H.A.; HSIU, J.G.; MULLEN, J.T.; JAFFE, A.H.; D'AMATO, N.A. - Prospective evaluation of the role of fine-needle aspiration biopsy in the diagnosis and management of patients with palpable solid breast lesions. *Am. Surg.*, **56**:263-7, 1990.
- GIARD, R.W.M. & HERMANS, J. - Fine needle aspiration cytology of the breast with immediate reporting of the results. *Acta Cytol.*, **37**:358-60, 1993.
- GUPTA, D.K.; MOONEY, E.E.; LAYFIELD, L.J. - Fine-needle aspiration cytology: a survey of current utilization in relationship to hospital size, surgical pathology, and institution type. *Diagn. Cytopathol.*, **23**:59-65, 2000.
- HAAGENSEN, C.D. - **Diseases of the Breast**. 3^a ed, Saunders, Philadelphia, 1986.
- HALL, P.A.; RAY, A.; LEMOINE, N.R.; MIDGLEY, C.A.; KRAUSZ, T.; LANE, D.P. - p53 immunostaining as a marker of malignant disease in diagnostic cytopathology. *Lancet*, **338**:513-4, 1991.
- HARDY, E.; PINOTTI, J.A.; FAUNDES, A. - Variações internacionais da incidência e da mortalidade por câncer de mama. *Femina*, **11**:106-15, 1983.
- HARTLEY, M.N.; TUFFNELL, D.J.; HUTTON, J.L.; PALMER, M.; AL-JAFARI, M.S. - Fine needle aspiration cytology: na in vitro study of cell yield. *Br. J. Surg.*, **75**:380-1, 1988.
- HEDLEY, D.W.; FRIEDLANDER, M.L.; TAYLOR, I.W.; RUGG, C.; MUSGROVE, E.A. - DNA flow cytometry of paraffin-embedded tissue. *Cytometry*, **5**:660-1, 1984.

- HENDERSON, I.C.- Risk factors for breast cancer development. **Cancer, 71** (suppl)2127-40, 1993.
- HENDERSON, M.A.; McCREADY, D.R.; STANISICH, V. - A simple technique for fine needle aspiration cytology. **J. Am. Coll. Surg., 179**:471-3, 1994.
- HIRSCHOWITZ, S.L.; MANDELL, D.; NIEBERG, R.K.; CARSON, K. - The alcohol-fixed diff-quickstain. A novel rapid stain for the immediate interpretation of fine needle aspiration specimens. **Acta Cytol., 38**:499-501, 1994.
- HOLM, H.H. & HANCKE, S. - Is there a risk of spreading cancer by percutaneous fine needle aspiration biopsy? In: HOLM, H.H. & KRISTEN, J.K. - **Ultrasonically guided puncture technique**. Munksgaard, Copenhagen, 1980. p.105-8.
- HOROBIN, J.M.; MATTHEW, B.M.; PREECE, P.E.; THOMPSON, A.J. - Effects of fine needle aspiration on subsequent mammograms. **Br. J. Surg., 79**: 52-4, 1992.
- HORSFALL, D.J.; JARVIS, L.R.; GRIMBALDESTON, M.A.; TILLEY, W.D.; ORELL, S.R. - Immunocytochemical assay for oestrogen receptor in fine needle aspirates of breast cancer by video image analysis. **Br. J. Cancer, 59**:129-34, 1989.
- HOWE, H.L.; WINGO, P.A.; THUN, M.J.; RIES, A.G.; ROSENBERG, H.M.; FEIGAL, E.G.; EDWARDS, B.K. - Annual Report to the Nation on the status of cancer (1973 through 1998), featuring cancers with recent increasing trends. **J. Natl. Cancer Inst., 93**:824-42, 2001.

- KATO, I.; TONIOLO, P.; KOENIG, K.L. - Comparison of active and cancer registry-based follow-up for breast cancer in a prospective cohort study. **Am. J. Epidemiol.**, **149**:372-8, 1999.
- KAUFMAN, Z.; SHPITZ, B.; SHAPIRO, M.; DINBAR, A. - Pneumothorax a complication of fine needle aspiration of breast tumors. **Acta Cytol.**, **38**:737-8, 1994.
- KEMP, C.; ELIAS, S.; BORRELLI, K.; NARVAIZA, D.G.; KEMP, C.G.M.; SCHOR, A.P. - Punção aspirativa por agulha fina orientada por ultra-sonografia em lesões não palpáveis. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.**, **23**: 321-7, 2001.
- KERLIKOWSKE, K.; GRADY, D.; RUBIN, S.M.; SANDROCK, C.; ERNSTER, V.L. - Efficacy of screening mammography. A meta analysis. **JAMA**, **273**: 149-54, 1995.
- KEYS, H.M.; BAKEMEIER, R.F.; SAVLOV, E.D. Breast cancer. In : American Cancer Society. **Clinical Oncology**. 6^a ed., New York, 1983. p.120-40.
- KLEMI, P.J. & JOENSUU, H. - Comparison of DNA ploidy in routine fine needle aspiration biopsy samples and paraffin-embedded tissue samples. **Anal. Quant. Cytol. Histol.**, **10**:195-9, 1988.
- KLIJANIENKO, J.; CÔTÉ, J.F.; THIBAUT, F.; ZAFRANI, B.; MEUNIER, M.; CLOUGH, K.B.; ASSELAIN, B.; VIELH, P. - Ultrasound-guided fine-needle aspiration cytology of nonpalpable breast lesions. Institut Curie experience with 198 histologically correlated cases. **Cancer Cytopathol.**, **84**:36-41, 1998.
- KLIJANIENKO, J.; ZAJDELA, A.; LUSSIER, C.; VOILLEMOT, N.; ZAFRANI, B.; THIBAUT, F.; CLOUGH, K.B.; VIELH, P. - Critical clinicopathologic analysis of 23 cases of fine-needle breast sampling initially recorded as false-positive. The 44-year experience of the Institut Curie. **Cancer Cytopathol.**, **93**:132-9, 2001.

- KLINE, T.S.; JOSHI, L.P.; NEAL, H.S. - Fine-needle aspiration of the breast: diagnoses and pitfalls – a review of 3545 cases. **Cancer**, **44**:1458-64, 1979.
- LAYFIELD, L.J. & DODD, L.G. - Cytologically low grade malignancies: an important interpretative pitfall responsible for false negative diagnoses in fine-needle aspiration of the breast. **Diagn. Cytopathol.**, **15** 250-9, 1996.
- LAYFIELD, L.J.; MOONEY, E.E.; GLASGOW, B.; HIRSCHOWITZ, S.; COOGAN, A. - What constitutes an adequate smear in fine-needle aspiration cytology of the breast? **Cancer Cytopathol.**, **81**:16-21, 1997.
- LAYFIELD, L.J.; MOONEY, E.; COOGAN, A. - What constitutes an adequate smear in fine-needle aspiration cytology of the breast? Author reply. **Cancer Cytopath.**, **84**:60-1, 1998.
- LEUNG, S.W. & BÉDARD, Y.C. - Estrogen and progesterone receptor contents in thinprep-processed fine needle aspirates of breast. **Am. J. Clin. Pathol.**, **112**:50-6, 1999.
- LEVACK, P.A.; MULLEN, P.; ANDERSON, T.J.; MILLER, W.R.; FORREST, A.P.M. - DNA analysis of breast tumour fine needle aspirates using flow cytometry. **Br. J. Cancer**, **56**:643-6, 1987.
- LEVI, F.; LUCCHINI, F.; NEGRI, E.; LA VECCHIA, C. - The fall in breast cancer mortality in Europe. **Eur. J. Cancer**, **37**:1409-12, 2001.
- MAGDELENAT, H.; LAINE-BIDRON, C.; MERLE, S.; ZAJDELA, A. - Estrogen and progestin receptor assay in fine needle aspirates of breast cancer: methodological aspects. **Eur. J. Cancer Clin. Oncol.**, **23**:425-31, 1987.
- MARTELLI, G.; PILOTTI, S.; LEPERA, P. - Fine needle aspiration cytology in superficial lymph nodes: an analysis of 266 cases. **Eur. J. Surg. Oncol.**, **15**:13-6, 1989.

- MARTELLI, G.; DAIDONE, M.G.; MASTORE, M.; GABRIELLI, G.M.; GALANTE, E.; PILOTTI, S.; SILVESTRINI, R. - Combined analysis of ploidy and cell kinetics on fine-needle aspirates from breast tumors. **Cancer**, **71:2522-7**, 1993.
- MARTIN, H.E.; ELLIS, E.B. - Biopsy by needle puncture and aspiration. **Ann. Surg.**, **92:169-91**, 1930.
- MASOOD, S. - Fine-needle aspiration of the breast: A practical approach to diagnosis of carcinoma. **Acta Cytol.**, **42:283-4**, 1998.
- MATSUDA, M.; WADA, A.; NAGUMO, S.; ICHIDA, K. - Pitfalls in fine needle aspiration cytology of breast tumors. A report of two cases. **Acta Cytol.**, **37:247-51**, 1993.
- MAYGARDEN, S.J.; McCALL, J.B.; FRABLE, W.J. - Fine needle aspiration of breast lesions in women aged 30 and under. **Acta Cytol.**, **35:687-94**, 1991.
- MELAMED, M.R.; LINDMO, T.; MENDELSON, M.L. - **Flow cytometry & sorting**. 2^a ed, Wiley-Liss, New York, 1990.
- MOORE, J.G.; TO, V.; PATEL, S.J.; SNEIGE, N. - Her-2/neu gene amplification in breast imprint cytology analyzed by fluorescence in situ hybridization: direct comparison with companion tissue sections. **Diagn. Cytopathol.**, **23:299-302**, 2000.
- NATIONAL CANCER INSTITUTE SPONSORED CONFERENCE. The uniform approach to breast fine-needle aspiration biopsy. **Diagn. Cytopathol.**, **16:295-311**, 1997.
- NIZZOLI, R.; BOZZETTI, C.; SAVOLDI, L.; MANOTTI, L.; NALDI, N.; CAMISA, R.; SORESI, A.P.; GUAZZI, A.; COCCONI, G. - Immunocytochemical assay of estrogen and progesterone receptors in fine needle aspirates from breast cancer patients. **Acta Cytol.**, **38:933-8** 1994.

- NOGUCHI, M.; TANIYA, T.; OHTA, N.; KOYASAKI, N.; MIYASAKI, N.; MIZUKAMI, Y. - Lymph node metastases versus DNA ploidy as prognostic factors for invasive ductal carcinoma of the breast. ***Breast Cancer Res. Treat.***, **19**:23-31, 1991.
- OERTEL, Y.C. - **Fine needle aspiration of the breast**. Butterworth Publishers, Boston, 1987.
- O'MALLEY, F.; CASEY, T.T.; SAWYERS, J.; PAGE, D.L. - Clinical correlates of false-negative fine needle aspirations of the breast in a consecutive series of 1005 patients. ***Surg. Gynecol. Obstet.***, **176**:360-4, 1993.
- O'REILLY, S.M.; CAMPLEJOHN, R.S.; BARNES, D.M. - DNA index, s-phase fraction, histological grade and prognosis in breast cancer. ***Br. J. Cancer***, **61**:671-4, 1990.
- ORMEROD, M.G. - **Flow cytometry**. Bios, Oxford, 1994.
- PAGE, D.L.; JOHNSON, J.E.; DUPONT, W.D. - Probabilistic approach to the fine-needle aspiration cytology of the breast. *Cancer Cytopathol.*, 81:6-9, 1997.
- PAPANICOLAOU, G.N. - A new procedure for staining vaginal smears. ***Science***, **95**:438-9, 1942.
- PATEL, J.J.; ROYLE, G.T.; GARTELL, P.C.; BUCHANAN, R.; SMALLWOOD, J.A.; TAYLOR, I.; HERBERT, A. - Fine needle aspiration cytology of breast masses: an evaluation of its accuracy and reasons for diagnostic failure. ***Ann. Royal Coll. Surg. Eng.***, **69**:156-9, 1987.
- PAULINELLI, R.R.; FREITAS Jr., R.; MOREIRA, M.A.R. - Punção por agulha fina no diagnóstico de nódulos mamários palpáveis: Descrição das diferentes técnicas e sua importância. ***Rev. Bras. Mastol.***, **8**:157-63, 1998.

- PESTANA, C.B.; DONOZO, N.; PINTO, A.J.; ALMEIDA, P.C.C.; MACHADO-SANTELLI, G.M. - Sequential determination of immunocytochemical estrogen receptor and nuclear DNA content in fine needle biopsies from breast carcinoma. **Breast Cancer Res. Treat.**, **19**:39-46, 1991.
- PILOTTI, S. & RIKE, F. - Problems in fine needle aspiration biopsy cytology of clinically uncertain breast tumors. **Tumori**, **68**:407-12, 1982.
- PINOTTI, J.A.; HARDY, E.E.; FAUNDES, A. - Ciclos menstruales ovulatorios y cancer de mama. **Bol. Acad. Nac. Med. Buenos Aires**, **61**:117-20, 1984.
- PLUCHINOTTA, A. - Historical introduction. In: CATANIA, S & CIATTO, S. - **Breast cytology in clinical practice**. Martin Dunitz, Londres, 1992. p.1-7.
- PREECE, P.E.; HUNTER, S.M.; DUGUID, H.L.D.; WOOD, R.A.B. - Cytodiagnosis and other methods of biopsy in the modern management of breast cancer. **Semin. Surg. Oncol.**, **5**:69-81, 1989.
- ROBERTS, J.C.; RAINSBURY, R.M. - "Tactile sensation": A new clinical sign during fine needle aspiration of breast lumps. **Ann. Coll. Surg. Eng.**, **76**:136-8, 1994.
- ROCHA, P.S.; NADKARNI, N.S.; MENEZES, S. - Fine needle aspiration biopsy of breast lesions and histopathologic correlation. An analysis of 837 cases in four years. **Acta Cytol.**, **41**:705-12, 1997.
- ROHAN, T.E. & BAIN, C.J. - Diet in the etiology of breast cancer. **Epidemiol. Rev.**, **9**: 120-45, 1987.
- ROUQUAYROL, M.Z. - **Epidemiologia e saúde**. 3^a ed. Rio de Janeiro. MEDSI-Editora Científica, 1988.

- RUSSO, J. & RUSSO, I.H. - Development pattern of human breast and susceptibility to carcinogenesis. *Eur. J. Cancer Prev.*, 2(suppl 3):85-100, 1993.
- SACCHINI, V.; GALIMBERTI, V.; MARCHINI, S.; LUINI, A. - Percutaneous transthoracic needle aspiration biopsy: a case report of implantation metastasis. *Eur. J. Surg. Oncol.*, 15:179-83, 1989.
- SACK, M.J. - Two cases of fibroadenoma cytologically misdiagnosed as mucous carcinoma. *Acta Cytol.*, 38:669-70, 1994.
- SANT, M.; CAPOCACCIA, R.; COLEMAN, M.P.; BERRINO, F.; GATTA, G.; MICHELI, A.; VERDECCHIA, A.; FAIVRE, J.; HAKULINEN, T.; COEBERGH, J.W.W.; MARTINEZ-GARCIA, C.; FORMAN, D.; ZAPPONE, A. - Cancer survival increases in Europe, but international differences remain wide. *Eur. J. Cancer*, 37:1659-67, 2001.
- SASAKI, J. & IZU, K. Automatic fine needle aspiration pistol specially designed for small tumors. *Acta Cytol.*, 42:829-30, 1998.
- SCHONDORF, H. - **Aspiration cytology of the breast.** Wb Saunders, Philadelphia, 1978.
- SICKLES, E.A.; KLEIN, D.; GOODSON, W.H.; HUNT, T.K. - Mammography after needle aspiration of palpable masses. *Am. J. Surg.*, 145:395-7, 1983.
- SILVEIRA Jr., L.P.; FREITAS Jr., R.; CARNEIRO, A.B.; RIBEIRO, L.F.J.; QUEIROZ, G.S. - Fatores sócio-demográficos associados com o estadiamento das pacientes com câncer de mama. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.*, 18:411-5, 1996.
- SKOOG, L.; WILKING, N.; HUMLA, S.; STENKVIST, B.; RUTQVIST, L.E. - Estrogen and progesterone receptors and modal DNA value in tumor cells obtained by fine-needle aspiration from primary breast carcinomas during tamoxifen treatment. *Diagn. Oncol.*, 1:282-7, 1991.

- SMALLWOOD, J. & HERBERT, A. - Accuracy of aspiration in the diagnosis of breast disease. *Br. J. Surg.*, **72**:841-3, 1985.
- SMITH, C. & BUTLER, J. - Fine needle aspiration cytology in the diagnosis of primary breast cancer. *Surgery*, **103**:178-83, 1988.
- SOMERS, R.G. & YOUNG, G.P. - Fine needle aspiration biopsy in the management of solid breast tumours. *Arch. Surg.*, **120**:673-7, 1985.
- SONDIK, E.J. - Breast cancer trends: incidence, mortality, and survival. *Cancer* **74**(suppl):995-9, 1994.
- SOUZA, J.A.; FREITAS Jr., R.; MOREIRA, M.A.R.; PHILOCREON, G.R. - Acurácia da sensação tátil da PAAF no diagnóstico de lesões mamárias. *Rev. Bras. Mastol.*, **5**:7-10, 1995.
- SPYRATOS, F.; BRIFFOD, M.; TULIANA-HULIN, M.; ANDRIEU, C.; MAYRAS, C.; PALLUD, C.; LASRY, S.; ROUËSSÉ, J. - Sequential cytopunctures during preoperative chemotherapy for primary breast carcinoma. *Cancer*, **69**:470-5, 1992.
- STEWART, F.W. - The diagnosis of tumors by aspiration biopsy. *Am. J. Pathol.*, **9**:801-12, 1933.
- STOLL, B.A. - Quantifying the risk of breast cancer. *Eur. J. Surg. Oncol.*, **17**:36-41, 1991.
- SUN, C.F.; WU, T.L.; TSAO, K.C.; WU, J.T. - Development of two ELISA for estrogen and progesterone receptor with sufficient sensitivity for fine needle aspirate and core biopsy. *J. Clin. Lab. Ann.*, **15**:138-43, 2001.
- SUTHIPINTAWONG, C.; LEONG, A.S.Y.; CHAN, K.W.; VINYUVAT, S. - Immunostaining of estrogen receptor, progesterone receptor, MIB1 antigen, and c-erbB-2 oncoprotein in cytologic specimens: a simplified method with formalin fixation. *Diagn. Cytopathol.*, **17**:127-33, 1997.

- TAO, L.C. & SMITH, J.W. - Fine needle aspiration biopsy using a newly-developed pencil-grip syringe holder. **Diagn. Cytopathol.**, **20**:99-104, 1999.
- TAXIN, A.; TARTTER, P.I.; ZAPETTI, D. - Breast cancer diagnosis by fine needle aspiration and excisional biopsy – recurrence and survival. **Acta Cytol.**, **41**:302-6, 1997.
- TEAGUE, M.W.; WOLBERG, W.H.; STREET, W.N.; MANGASARIAN, O.L.; LAMBREMONT, S.; PAGE, D.L. - Indeterminate fine-needle aspiration of the breast. Image analysis-assisted diagnosis. **Cancer Cytopathol.**, **81**:129-35, 1997.
- TRUONG, K.; VIELH, P.; MALFOY, B.; KLIJANIENKO, J.; DUTRILLAUX, B.; BOURGEOIS, C.A. - Fluorescence-based analysis of DNA ploidy and cell proliferation within fine-needle samplings of breast tumors. A new approach using automated image cytometry. **Cancer Cytopathol.**, **84**:309-16, 1998.
- UICC. INTERNATIONAL UNION AGAINST CANCER. **TNM classification of malignant tumors**. 4^a. Ed, Berlin, Springer-Verlat, 1987. p.93-9.
- ULANOW, R.M.; GALBLUM, L.; CANTER, J.W. - Fine needle aspiration in the diagnosis and management of solid breast lesions. **Am. J. Surg.**, **148**:653-7, 1984.
- VETTO, J.; POMMIER, R.; SCHMIDT, W.; WACHTEL, M.; DUBOIS, P.; JONES, M.; THURMOND, A. - Use of the “triple test” for palpable breast lesions yields high diagnostic accuracy and cost savings. **Am. J. Surg.**, **169**:519-22, 1995.
- VETTO, J.T.; POMMIER, R.F.; SCHMIDT, W.A.; EPPICH, H.; ALEXANDER, P.W. - Diagnosis of palpable breast lesions in younger women by the modified triple test is accurate and cost-effective. **Arch. Surg.**, **131**:967-74, 1996.

- VIELH, P.; MAGDELENAT, H.; MOSSERI, V.; REMVIKOS, Y.; BONITO, L. - Immunocytochemical determination of estrogen and progesterone receptors on 50 fine-needle samples of breast cancer. A prospective study including biochemical correlation and DNA flow cytometric. **Am. J. Clin. Pathol.**, **97**:254-61, 1992.
- WANEBO, H.J. & FELDMAN, P.S. - Fine needle aspiration cytology ilieu of open biopsy in management of primary breast cancer. **Ann. Surg.**, **55**:569-78, 1985.
- WANG, H.H. & DUCATMAN, B.S. - Fine needle aspiration of the breast. A probabilistic approach to diagnosis of carcinoma. **Acta Cytol.**, **42**:285-289, 1998.
- WARD, G.R. - **Bedside haematology**. WB Saunders, Philadelphia, 1914.
- WELLS, C.A. - Quality assurance in breast cancer screening cytology: A review of the literature and a report on the U. K. National Cytology Scheme. **Eur. J. Cancer**, **31**:273-80, 1995.
- WITZIG, T.E.; GONCHOROFF, N.J.; THERNEAU, T. - DNA content flow cytometry as a prognostic factor for node-positive breast cancer. **Cancer**, **68**:1781-8, 1991.
- ZAJDELA, A.; GHOSSEIN, N.A.; PILLERON, J.P.; ENNUYER, A. - The value of aspiration cytology in the diagnosis of breast cancer: experience at the Foundation Curie. **Cancer**, **35**:499-506, 1975.
- ZAJICEK, J. - The aspiration biopsy smear. In: KOSS, L.G. - **Diagnostic cytology and its histopathologic bases**. 3^a ed, Lippincott Co, Philadelphia, 1979. p.1001-4.

8. Bibliografia de Normatizações

FRANÇA, J.L.; BORGES, S.M.; VASCONCELLOS, A.C.; MAGALHÃES, M.H.A.
– **Manual para normatização de publicações técnico-científicas**. 4^a ed.,
Editora UFMG, Belo Horizonte, 1998. 213p.

HERANI, M.L.G. - Normas para apresentação de dissertações e teses.
BIREME, São Paulo, 1991. 45p.

Normas e procedimentos para publicação de dissertações e teses. Faculdade
de Ciências Médicas, UNICAMP. Ed. SAD – Deliberação CCPG-001/98.

9. Anexos

9.1. Anexo 1

TERMO DE CONSENTIMENTO

Eu, após ter ouvido as explicações dos possíveis desconfortos da punção na mama, e também todo o benefício que ela poderá trazer, concordo em participar como voluntária do "Estudo Sobre Citopunção de Nódulos Sólidos". Estou ciente de que caso não deseje participar do estudo, terei o mesmo tratamento dispensado as demais pacientes.

Goiânia, de de 199....

Paciente

Examinador

9.4. Anexo 4

APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA MÉDICA HUMANA E ANIMAL
HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO

PROCOLO N º 00136/98.

AUTOR (ES): Dr. Ruffo de Freitas Júnior

TÍTULO: Estudo Randomizado Comparando dois Diferentes Métodos de Punção por Agulha Fina no Diagnóstico de Tumores Sólidos da Mama.

Comunicamos-lhe (s) que o seu Protocolo de Pesquisa foi considerado em acordo com os princípios éticos vigentes, tendo sido, portanto, aprovado por este Comitê para sua realização.

Goiânia, 16 de Abril de 1.998


PROF. DR. HEITOR ROSA
Presidente

“Comitê de Ética em Pesquisa Médica Humana e Animal do Hospital das Clínicas da UFG”

PRIMEIRA AVENIDA S/Nº SETOR UNIVERSITÁRIO
CEP - 74 605 040 FONE (062) 202 18 00
GOIÂNIA - GOIÁS

9.5. Anexo 5

FÓRMULAS PARA CÁLCULO DA ACURÁCIA Distribuição dos casos de acordo com o resultado da histologia conforme o resultado da citologia

Citologia \ Histologia	Câncer	Benigno
	Maligno	a
Suspeito	b	f
Benigno	c	g
Insuficiente	d	h

$$\text{Sensibilidade absoluta} = a / (a + b + c + d) \times 100$$

$$\text{Sensibilidade completa} = (a + b) / (a + b + c + d) \times 100$$

$$\text{Especificidade} = g / (e + f + g + h) \times 100$$

$$\text{Valor preditivo positivo (maligno)} = a / (a + e) \times 100$$

$$\text{Valor preditivo negativo} = g / (c + g) \times 100$$

$$\text{Acurácia total p/ casos diagnósticos} = (a + g) / (a + c + e + g) \times 100$$

$$\text{Acurácia total completa} = (a + b + g) / (a + b + c + d + e + f + g + h) \times 100$$

$$\text{Taxa de falso negativo} = c / (a + b + c + d) \times 100$$

$$\text{Taxa de falso positivo} = e / (a + b + c + d) \times 100$$