



Nº 631. Conferencia

Observação de Algumas Alterações Celulares Inflamatórias, Limítrofes, Pré-malignas e Malignas através dos Métodos de Citologia Convencional e Citologia de Base Líquida.

Maria Eugênia Furtado dos Santos Dos Santos^[1], Leonardo Gomes Caldas Caldas^[2], Arthur Silva Lourenço Godinho Godinho^[2], Lacy Cardoso de Brito Junior Brito Junior^[3]

(1) Departamento de Patologia Centro de Ciências Biológicas Universidade Federal do Pará BRASIL

(2) CESUPA - CENTRO UNIVERSITÁRIO DO PARÁ BRASIL

(3) Departamento de Patologia Centro de Ciências Biológicas Universidade Federal do Pará. BRASIL

Resumo

OBJETIVOS. Os critérios citológicos inflamatórios, limítrofes, de pré-malignidade e malignidade originalmente descritos por Papanicolaou e demais pesquisadores, nos últimos anos, vêm passando por intensas revisões graças ao surgimento de novas metodologias de diagnóstico citológico como a citologia de base líquida. Assim, o objetivo deste trabalho foi de apresentar (educação continuada), e divulgar, as diferenças citológicas relativas às alterações celulares inflamatórias, limítrofes, pré-malignas e malignas observadas em esfregaços de citologia convencional e citologia de base líquida. **MATERIAL E MÉTODOS.** Foram analisados, através de citologia convencional e citologia de base líquida (Sistema DNA-CITOLIQ - Digene), exames de Papanicolaou, corado e montados de forma convencional, para observação, e demonstração (educação continuada) das diferenças que podem ser encontradas em relação às alterações celulares inflamatórias, limítrofes, pré-malignas e malignas. **RESULTADOS.** Mostraram que o uso do método de citologia de base líquida reduziu a incidência de amostras limitadas por baixa celularidade; material ressecado ou mal corado; excesso de muco, polimorfonucleares, hemácias, ou mesmo processo inflamatório exuberante; em comparação com os observados na citologia convencional. Em relação à identificação das alterações celulares inflamatórias, limítrofes, pré-malignas e malignas pelos métodos supracitados, não houve diferenças significativas entre os métodos, exceto pela maior facilidade, e redução do tempo, para a observação das células alteradas. **CONCLUSÕES.** Estudo confirma dados da literatura que evidenciam que as maiores vantagens do método de citologia de base líquida, em comparação com a citologia convencional, são a melhor visualização das alterações celulares limítrofes, pré-malignas e malignas, o fundo da lâmina limpo e o tamanho da amostra a ser analisada na citologia de base líquida. Porém, mostrou também que as dimensões da escova ginecológica utilizada neste método pode oferecer alguma alteração nos resultados; e que o mesmo necessita que o seu operador seja previamente treinado antes de praticá-lo, tanto em relação à confecção dos imprints como da análise dos resultados citológicos.

Introdução

O exame citológico proposto por Papanicolaou na década de quarenta (1941), e conhecido como citologia convencional, ou citologia oncótica, baseia-se em uma metodologia de diagnóstico presuntivo e preventivo para a detecção primária de lesões precursoras, ou mesmo de lesões cancerígenas, de material cérvico-vaginal, que apresenta boa sensibilidade e especificidade. Porém, embora de grande importância para o fim que se propõem, esta metodologia tem como premissa, para o seu sucesso diagnóstico, a necessidade de que a coleta, fixação e coloração da amostra sejam bem feitas, garantindo material com celularidade adequada, boa preservação das características celulares, e a representação da zona de transformação (Junção Escamo Colunar – JEC); bem como a obtenção de dados clínicos da paciente: como idade, data da última menstruação ou menopausa, a existência de alterações citológicas em exames anteriores, ou terapêuticas em curso, são fatores indispensáveis para a interpretação correta da amostra (Koss, L G, 1997; HALBE, HW, 1993).

Com o passar dos anos, todavia, e os avanços tecnológicos nesta área, esta metodologia passou a sofrer contínuas críticas em relação à sensibilidade, e a sua capacidade de correlação com os achados histopatológicos para lesões pré-malignas e malignas. Principalmente em decorrência da quantidade significativa, e indesejável, de casos falso-negativos e falso-positivos associados a esta metodologia. A maioria dos quais atribuídos a erros de coleta e interpretação dos resultados (KOSS et. al, 1997) gerados por: (1) baixa celularidade da amostra em decorrência de mucosa ressecada após o uso de duchas ginecológicas; (2) presença de artefatos e ressecamento por de má fixação da amostra; e/ou (3) amostra muito espessa, em função da sobreposição celular por excesso de muco, cremes vaginais, hemorragia, citólise (restos celulares) ou infiltrado inflamatório (excesso de leucócitos ou material necrosado); que podem levar a uma interpretação errada da amostra ou mesmo obscurecer a presença de células pré-malignas e malignas. Contudo, outro fator relacionado a erros nesta metodologia que é a natureza altamente repetitiva do trabalho de rastreamento de muitos esfregaços de citologia convencional diariamente por uma mesma pessoa (Koss et. al, 1997; Brasil, Ministério da Saúde, 2002).

Neste sentido, vários estudos foram então realizados, na tentativa de reduzir estes interferentes no diagnóstico preventivo e presuntivo do câncer de colo de útero, e assim na década de noventa surgiu uma metodologia que se intitulava revolucionária neste sentido, era a citologia de base líquida, citologia de monocamada ou de camada fina. Mais específica que a citologia convencional com a finalidade de permitir a análise das amostras cervico-vaginais por métodos de automação (análise computadorizada), com menor quantidade de artefatos e sobreposições celulares (Pereira, SMM et al 2003; ACS Guideline, 2002).

Sendo conhecidas hoje, segundo a Food and Drug Administration (FDA), várias metodologias de citologia de monocamada, como por exemplo, AutoCyte PREP (AutoCyte, Burlington [NC], United States), ThinPrep Pap Test (Cytic Corp., Boxborough [Mass], United States), e DNA-CITOLIQ (DIGENE, Brasil) (Chang, A R, 1999).

Apresentando nestes casos três processos diferentes de preparação das amostras, a saber: centrifugação (Autocyte), a vácuo (Thinprep), ou por imersão (*"imprint"*) do material biológico em lâmina (DNA-CITOLIQ); com o mesmo objetivo que é, de um modo geral, à retenção e degradação de elementos indesejáveis em excesso (como por exemplo, hemácias, polimorfos e material degradado) no próprio meio líquido, permitindo que o fundo da lâmina fique limpo e as células mais isoladas sejam mais bem visualizadas (Agency for Health Care Policy and Research, 1999). Além é claro de: diminuir o tempo de análise de cada amostra por tratar-se de amostras contidas no centro da lâmina, em uma circunferência de aproximadamente 13mm de diâmetro; e permitir a repetição da amostra analisada sem a necessidade de nova coleta, ou a realização de outras metodologias como Captura híbrida e Reação em Cadeia Polimerase para o HPV com a mesma amostra (Pereira, SMM et al 2003; ACS GUIDELINE, 2002).

Como destaque negativo desta metodologia de citologia de base líquida, porém, podemos ressaltar o seu alto custo operacional, em função do material a ser adquirido para a sua realização como lâminas, meios líquidos específicos de conservação e fixação das células, filtros utilizados na metodologia e a substancial despesa com os equipamentos específicos para a realização das mesmas. Além é claro da necessidade de treinamento específico das pessoas que vão executar e analisar o material proveniente destas preparações, visto que, há leves alterações de conformações estruturais e de tamanhos celulares com utilização destas metodologias (Chang, AR, 1999).

Neste estudo, então, buscamos realizar um estudo comparativo para evidenciar e divulgar, em forma de educação continuada, alguns aspectos das diferenças citológicas relativas às alterações celulares inflamatórias, limitrofes, pré-malignas e malignas observadas em esfregaços de citologia convencional e citologia de base líquida (Sistema DNA-CITOLIQ - Digene).

ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE CITOLOGIA CONVENCIONAL E CITOLOGIA DE BASE LÍQUIDA

Coleta das Amostras

O material cérvico-vaginal deve ser coletado por profissional da área de saúde devidamente esclarecido e treinado sobre os aspectos da coleta para citologia convencional e para a citologia de base líquida. Neste estudo foram realizadas duas coletas consecutivas e imediatas para cada paciente, permitindo a utilização das duas metodologias para análise dos esfregaços. Utilizando-se primeiro espátula de Ayre, escova endocervical e lâmina para microscopia na citologia convencional, e posteriormente o quite de coleta do sistema DNA-CITOLIQ® para a coleta de material para citologia de base líquida, composto por um tubete com 1ml de solução Universal Collection Medium (UCM) e escova endocervical do quite, a qual era mantida no tubete até o posterior processamento do material.

É interessante observar, que os princípios de coleta das amostras não são alterados e/ou modificados em função da coleta para citologia de base líquida ou citologia convencional. Com a grande vantagem prática observada na coleta para citologia de base líquida sendo o fato de que o material proveniente desta metodologia é conservado na totalidade das células coletadas e fixado imediatamente após a introdução da escova ginecológica no líquido fixador do quite, e não distribuído diretamente em lâmina como na citologia convencional. Este procedimento, além de simplificador, evita o manuseio da lâmina de vidro e eventuais acidentes, assim como o acúmulo de interferentes (excesso de bactérias, hemácias, leucócitos e muco) e a conservação de grande quantidade de material celular para futuras análises ou repetições.

O método de citologia líquida (Sistema DNA-CITOLIQ - Digene), porém, teve como possível complicador na coleta de células endocervicais o tipo de escova ginecológica que vem no quite fornecido pelo fabricante, isto porque, a base desta escova é muito larga, em comparação com a escova ginecológica tradicional (Figura 1), impedindo assim a sua utilização adequada, que deveria permitir a introdução da mesma no canal do colo uterino em pelo menos em 2 cm. Gerando desta forma risco de não observação de lesões pré-malignas e malignas mais profundas no canal da colo uterino.

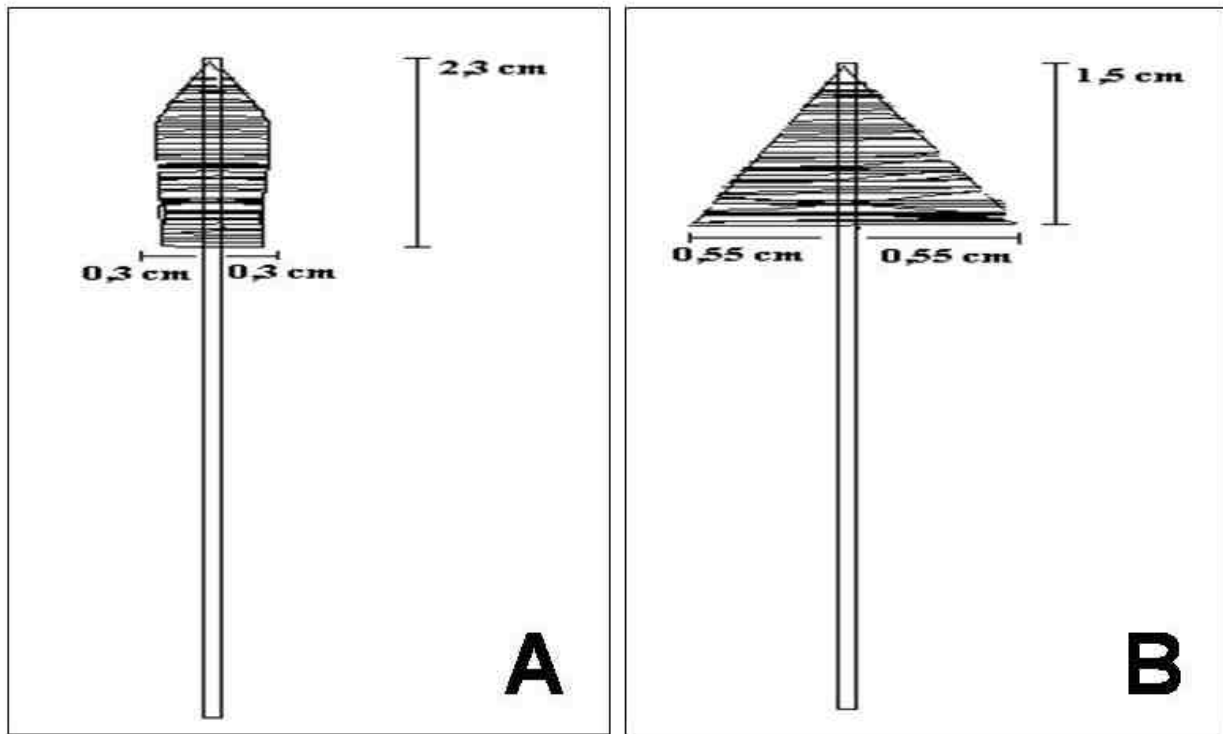
FIGURA 1

Figura 1. Comparação entre as escovas ginecológicas utilizadas para a coleta endocervical (canal do colo do útero), utilizadas nos métodos de: A. Citologia Convencional (CC) e, B. Citologia de Base Líquida (CBL).

Preparação, cuidados e análise de material proveniente da Citologia Convencional.

Como critérios de qualidade para a boa visualização e screening do exame de citologia convencional o material coletado deve ser espalhado sobre a lâmina de modo uniforme, sem ultrapassar os limites da lâmina, e fixado imediatamente após a coleta, e posteriormente, transportado ao laboratório, em suporte plástico de lâmina, onde são realizadas as colorações do mesmo pelo método de Papanicolaou, tradicional ou modificado.

O Exame de Papanicolaou convencional (Citologia Convencional), assim, é notoriamente um dos grandes sucessos diagnósticos de triagem já desenvolvidos para a prevenção do câncer de colo do útero em toda a história da humanidade, principalmente em função do baixo custo desta metodologia e de sua eficácia no diagnóstico de lesões precoces de câncer do colo do útero. Porém, eventualmente pode apresentar também limitações quanto à sensibilidade e reprodutibilidade, com altos índices de amostras insatisfatórias e limitadas por razões técnicas como: ressecamento (Figura 2B); baixa celularidade (Figura 2A); excesso de leucócitos (Figura 3A), bactérias (Figura 3B), hemácias (Figura 3C) ou muco (Figura 3D); impossibilidade de repetição do teste a partir de uma mesma coleta, além dos altos percentuais de falso-negativos associados a amostras inadequadas por ausência de representação da zona de transformação (JEC), material espesso (Figura 4A), mal corado ou fixado (Figura 4B), excesso de material fora dos limites de análise da lâmina (Figura 4C), e em relação ao número e tamanho das amostras para screenings (Michalas, 2001, Stoler, M H, 2000).

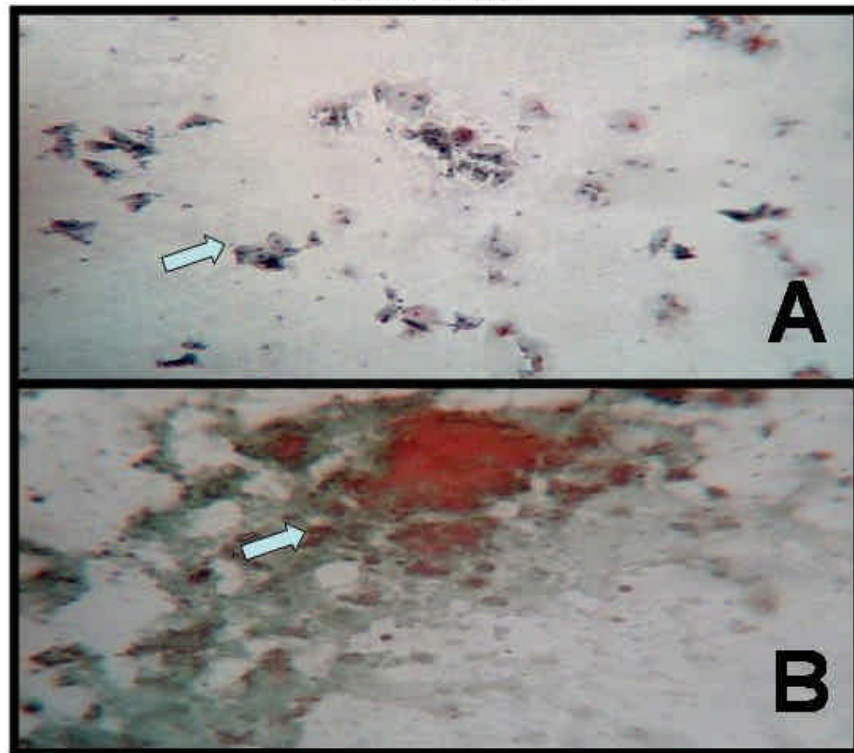
FIGURA 2

Figura 2. Limitações técnicas associadas ao Método de Citologia Convencional. A. Baixa celularidade na amostra. A. Ressecamento da amostra.

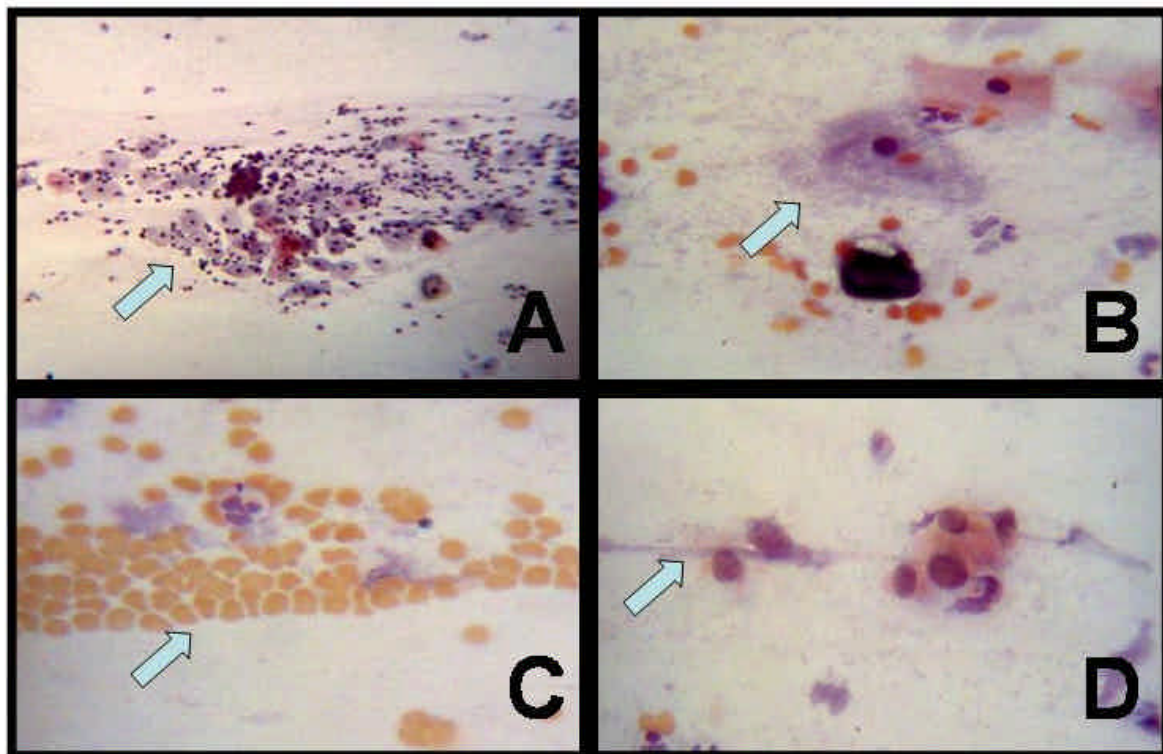
FIGURA 3

Figura 3. Limitações técnicas associadas ao Método de Citologia Convencional. A. Excesso de leucócitos na amostra. B. Excesso de bactérias na amostra. C. Excesso de hemácias na amostra. D. Excesso de muco na amostra.

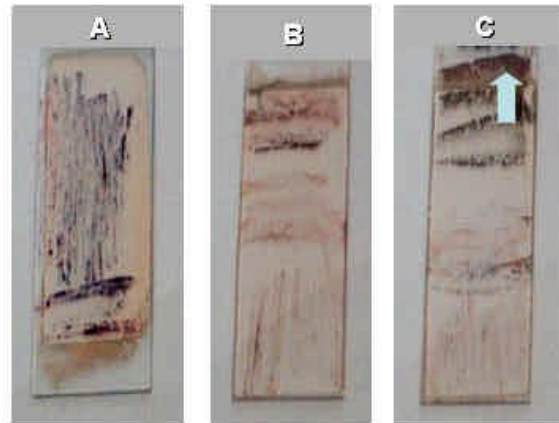
FIGURA 4

Figura 4. Limitações técnicas associadas ao Método de Citologia Convencional. A. Esfregaço espesso. B. Esfregaço mal corado ou mal fixado. C. Esfregaço de material fora dos limites de análise da lâmina.

Preparação, cuidados e análise do material proveniente da Citologia de base Líquida.

O material cervico-vaginal coletado pelo método de citologia de base líquida, que é armazenado junto com a escova ginecológica no tubete que contem o meio líquido de transporte desta metodologia, e conseqüentemente imediatamente fixado, por sua vez, só deve ser processado no laboratório. Quando da retirada, e desprezo em recipiente próprio de descarte biológico, da escova ginecológica do tubete de transporte e fixação da amostra, e homogeneização do material contido no mesmo, devidamente tampado, em vórtex por 20 segundos a 3.000 rpm; alíquotagem de 200µl da amostra e dispensação da mesma de maneira uniforme e rápida sobre a superfície central da membrana acomodada no sistema de *imprint* do quite DNA-CITOLIQU®, com capacidade para 12 lâminas. Ao qual a tampa do suporte do sistema é fechada com o conjunto lâmina/membrana e travado por 10 segundos, com posterior fixação das amostras em álcool 95% e coloração pelo método de Papanicolaou modificado.

O uso da citologia de base líquida, porém, como tem sido observado na literatura, apresenta uma série de vantagens em relação ao esfregaço tradicional, como a redução da área a ser analisada (Figura 5A) e do tempo de screening de cada amostra; e dos interferentes como ressecamento da amostra, pedido de repetição da amostra em caso de amostra inadequada para a análise citológica, em função do excesso de muco, hemácias, leucócitos, restos celulares e agentes infecciosos, que são nesta metodologia removidos da amostra, graças à ação química do meio de transporte, e assim permite que todas as amostras apresentem-se com fundo de lâmina limpo. Permitindo assim ao citopatologista a interpretação e leitura das células atípicas, pré malignas, ou malignas no esfregaço com maior clareza; e de forma mais segura e eficaz. Porém, esta citologia de base líquida requer também que o citopatologista esteja bem treinado, e familiarizado, com o processamento da amostra impedindo assim falhas metodológicas como amostras com baixa celularidade (Figura 5B), excesso de material fora dos limites de análise da lâmina (Figura 5C) ou impedindo a análise do material (Figura 5D).

E também esteja bem treinado e familiarizado com as alterações celulares, proveniente desta metodologia (Sawaya, G. F. & Grimes, D.A., 1999; Pitolli, J. E. *et al*, 2003; Pereira, SMM *et al* 2003), visto que pelo método de citologia de base líquida as células endocervicais (Figura 6) e metaplásicas (Figura 7) tendem a ser vistas isoladas, de tamanho menor e de aspecto mais redondo em comparação com estes tipos celulares observados na citologia convencional; a flora coco bacilar é melhor observada, e quase que exclusivamente, quando associada ao citoplasma das células escamosas (sendo menos evidente o habitual fundo "arenoso" dos esfregaços de vaginose bacterianas) (Figura 8) em comparação com o observado na citologia convencional; os *Trichomonas vaginalis* que são menores e menos visíveis (Figura 9) em comparação com o observado na citologia convencional; porém, os esporos de *Candida sp.* (Figura 10) na citologia de base líquida se apresentam com morfologia semelhante a observada na

citología convencional.

FIGURA 5

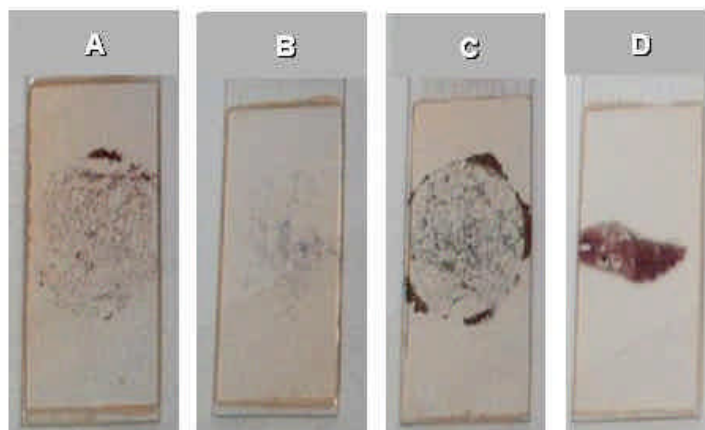


Figura 5. Limitações técnicas associadas ao Método de Citologia de Base Líquida. A. Esfregaço ideal para análise. B. Esfregaço com baixa celularidade. C. Esfregaço com material fora dos limites de análise da lâmina. D. Esfregaço muito espesso impedindo a análise do material.

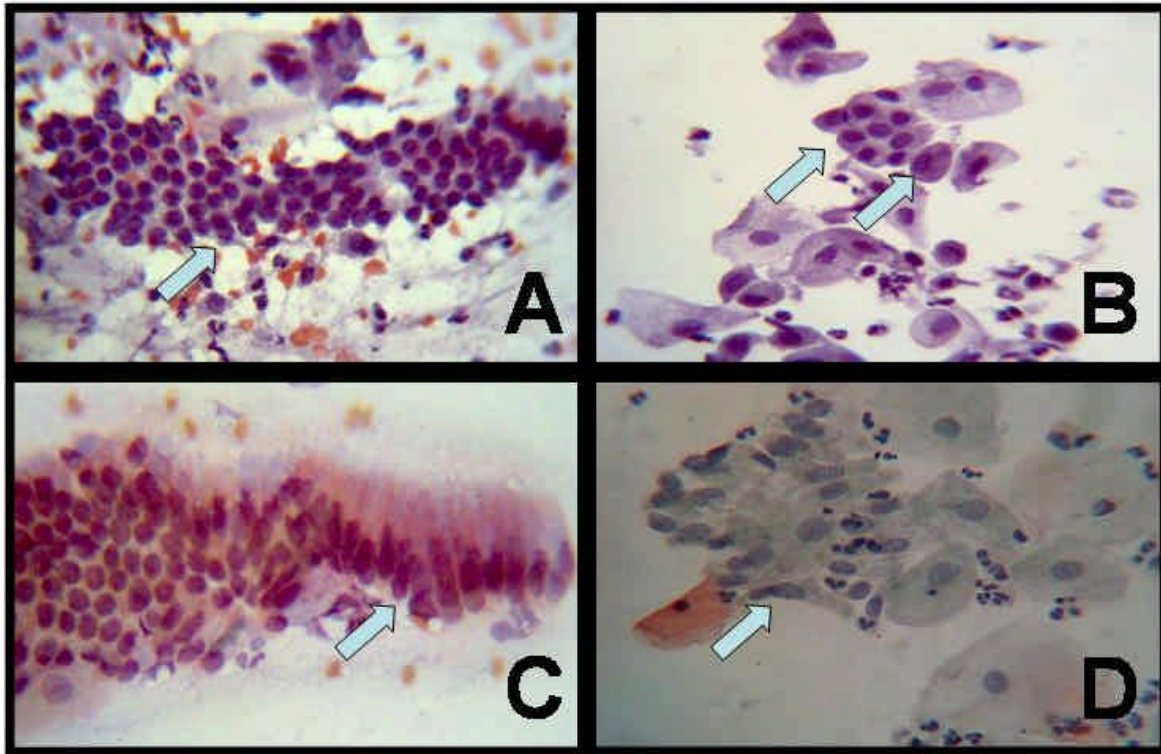
FIGURA 6

Figura 6. Fotomicrografias mostrando as diferenças possíveis de serem observadas em relação às células endocervicais, em seus aspectos em favo de mel ou empalhçadas, pelos métodos de Citologia Convencional (A e C) ou de Citologia de Base Líquida (B e D).

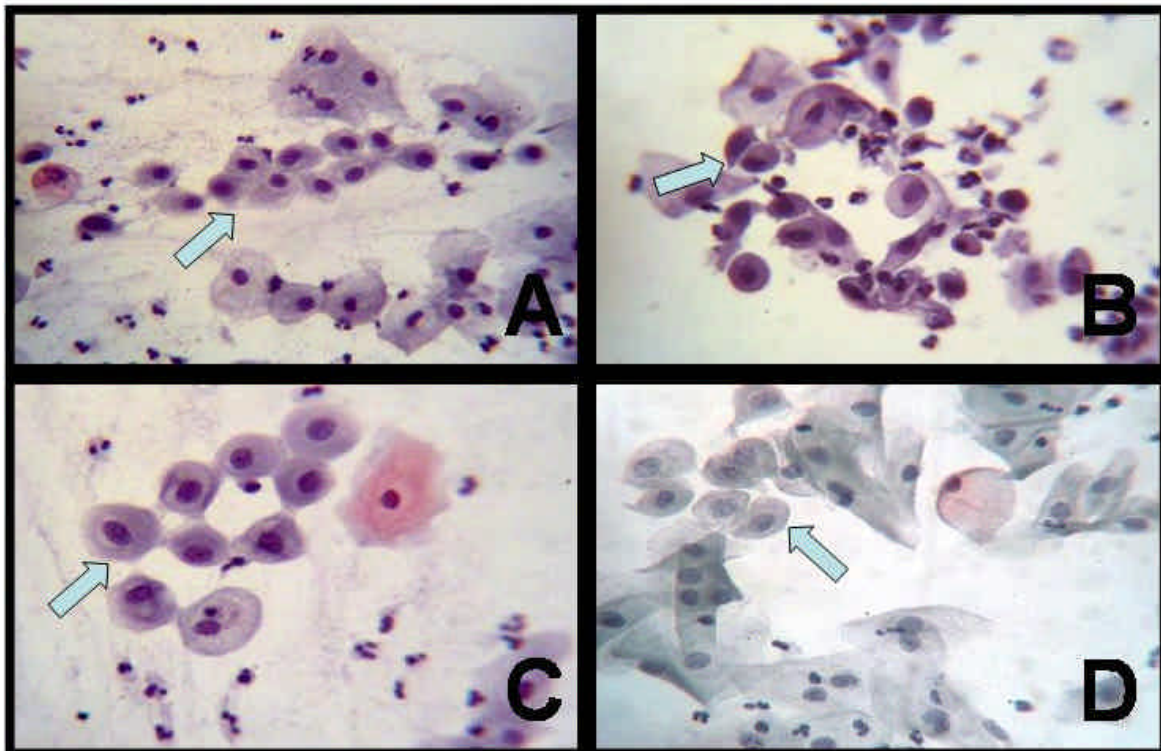
FIGURA 7

Figura 7. Fotomicrografias mostrando as diferenças possíveis de serem observadas em relação às células metaplásicas pelos métodos de Citologia Convencional (A e C) ou de Citologia de Base Líquida (B e D).

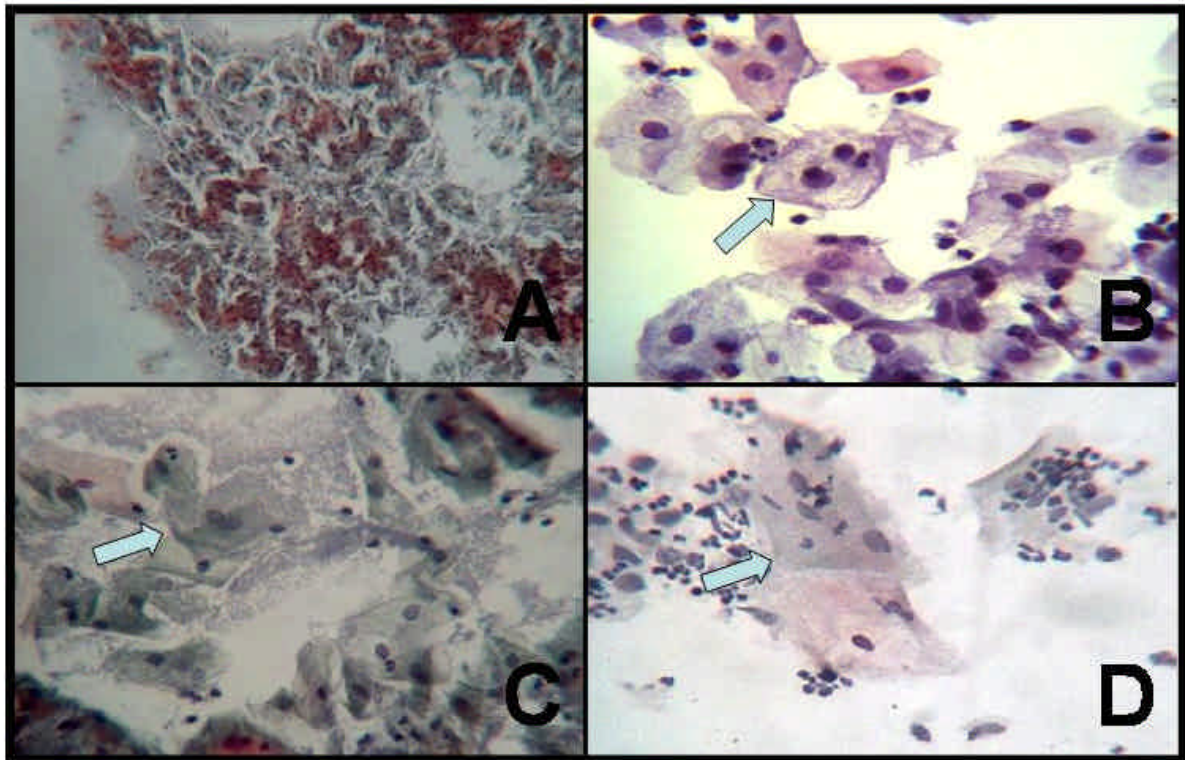
FIGURA 8

Figura 8. Fotomicrografias mostrando as diferenças possíveis de serem observadas em relação à identificação da *Gardnerella vaginalis* pelos métodos de Citologia Convencional (A. fundo "arenoso" e aspecto em mosaico e C. clue cell), ou de Citologia de Base Líquida (B e D), melhor observada, quase exclusivamente, quando associada ao citoplasma das células escamosas (clue cell).

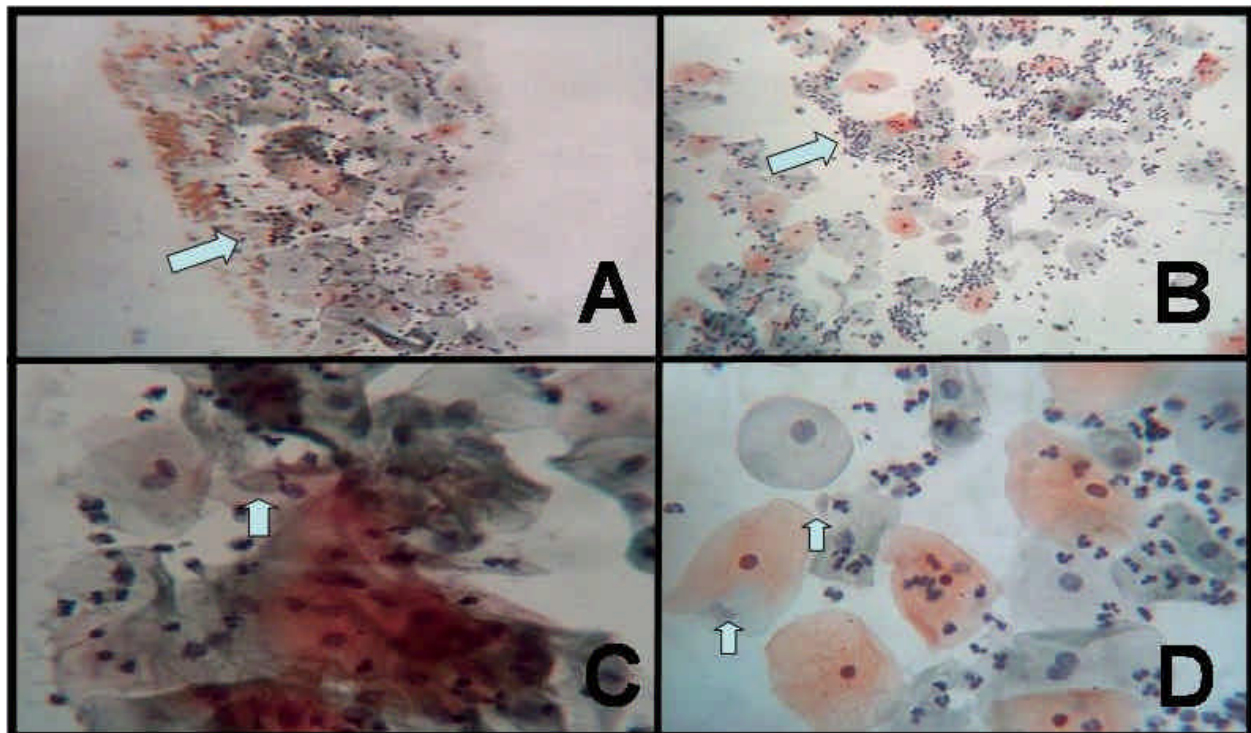
FIGURA 9

Figura 9. Fotomicrografias mostrando as diferenças possíveis de serem observadas em relação à identificação do *Trichomonas vaginalis* pelos métodos de Citologia Convencional (A e C), mostrando o efeito de aglomerados de leucócitos próximos às células infectadas ou mesmo do agente próximos aos aglomerados celulares (setas); ou de Citologia de Base Líquida (B e D), mostrando o mesmo efeito de aglomerados de leucócitos, porém, com o agente de tamanho menor e menos visível, próximo as células.

FIGURA 10

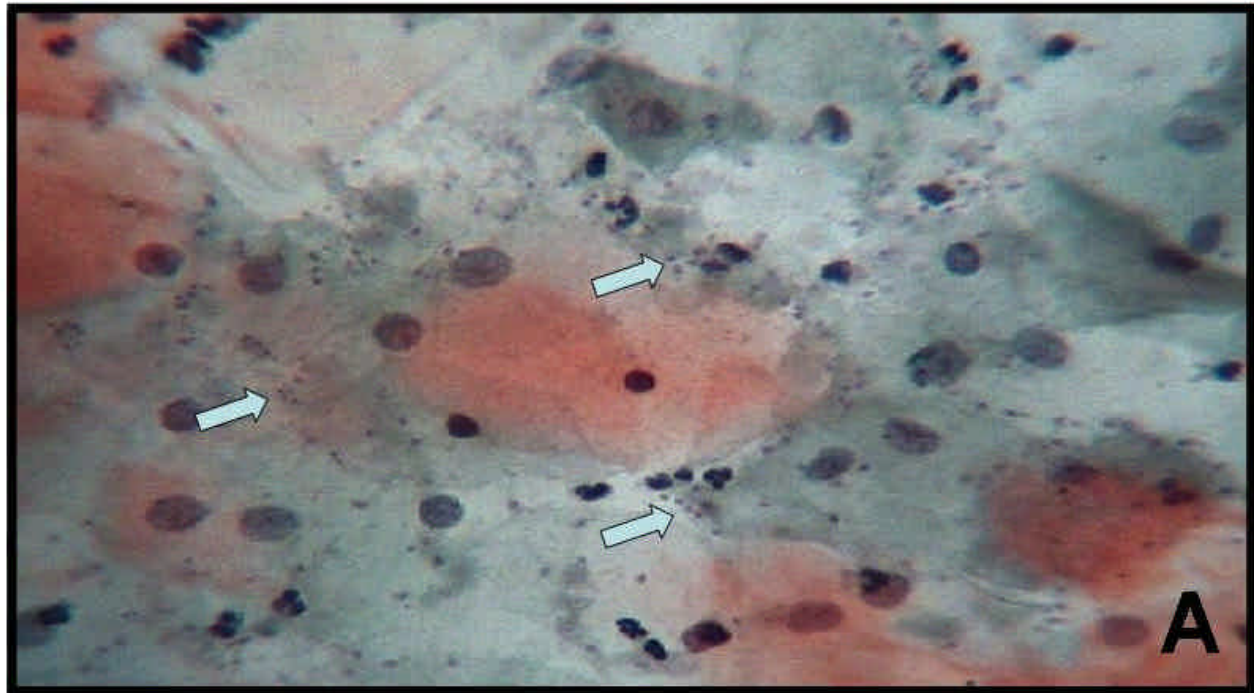


Figura 10. Fotomicrografia mostrando a presença de esporos de *Candida sp.* pelo método de Citologia de Base Líquida (setas). Não tendo sido observadas diferenças entre os métodos de Citologia Convencional ou de Citologia de Base Líquida para este agente.

Comparação das Alterações Celulares Inflamatórias, Pré-malignas, de Significado Indeterminado e Malignas Observadas nos Métodos de Citologia Convencional e Citologia de Base Líquida.

O reconhecimento das alterações celulares inflamatórias em material cervico-vaginal coletado pelo método de citologia de base líquida, ou citologia convencional, passa pela observação de vários critérios citológicos inflamatórios como: a presença e a quantificação dos polimorfonucleares presentes na amostra (Figura 12B); presença ou ausência do agente agressor biológico (bactérias, fungos, protozoários, helmintos e vírus); a presença de vacuolizações citoplasmáticas; halo perinuclear (Figura 11); condensação da cromatina nuclear e disceratose (Figura 12); apagamento ou dobramento das bordas citoplasmáticas (Figura 13); pseudo-eosinofilia (policromasia) (Figura 14A); aumento do volume nuclear (Figura 15B); cariorex (Figura 14B); multinucleação ou bi-nucleação (Figura 15A); dentre outras (CARVALHO, 1999; SCHINEIDER, 1998; SILVA Filho, 2000). Nossa experiência, neste sentido, tem mostrado que, independente da metodologia, as alterações e os critérios citológicos inflamatórios são facilmente observados, e preservados com as mesmas características, tanto na citologia de base líquida como na citologia convencional.

A detecção de células com características que definem lesões pré-cancerígenas, associadas ou não ao HPV (Figura 16), de significado indeterminado, sem excluir malignidade, e cancerígenas, passa pela definição e caracterização dos Critérios de Malignidade, e que são associados a observação da presença de células em fibra, em girino (Figura 19A), em raquete, ovais ou elípticas; pleomorfismo (tamanho e formas variáveis das células) (Figura 17); vacuolizações celulares atípicas; ceratinização (Figura 12); cariomegalia (núcleo de tamanho acima do usual); hiper Cromasia (maior afinidade tintorial do núcleo) (Figura 17); multinucleação ou bi-nucleação (Figura 15A); irregularidade da membrana nuclear (Figura 17 e 19A); cromatina grosseira e irregular; espaços vazios no núcleo; e presença de nucléolos múltiplos, proeminentes (Figura 19B) e irregulares. Podendo, porém, estas atipias celulares serem encontradas em uma grande variedade de entidades patológicas do trato genital feminino, que vão desde os processos reacionais benignos, metaplasias associadas à inflamação, até Atipias de células escamosas (ASC) de significado indeterminado (ASC-US) (Figura 18), não podendo excluir lesão de alto grau (ASC-H); Lesões intra-epiteliais escamosas de baixo grau (LSIL) (Figura 16); Lesões intra-epiteliais escamosas de alto grau (HSIL) (Figura 17 e 19); e Carcinomas escamosos ou glandulares

invasivos (CARVALHO, 1999; SCHNEIDER, 1998; SILVA Filho, 2000).

Nossa experiência, neste sentido, tem mostrado que, o uso da metodologia de citologia de base líquida permite a melhor visualização das alterações e critérios citológicos pré-malignos, de significado indeterminado e de malignidade, em comparação com a metodologia de citologia convencional. Graças à visualização das células na citologia de base líquida em um campo menor de análise, e ao fato das mesmas, encontrarem-se mais isoladas e livres de interferentes como excesso de hemácias, leucócitos, muco ou mesmo em agregados celulares.

FIGURA 11

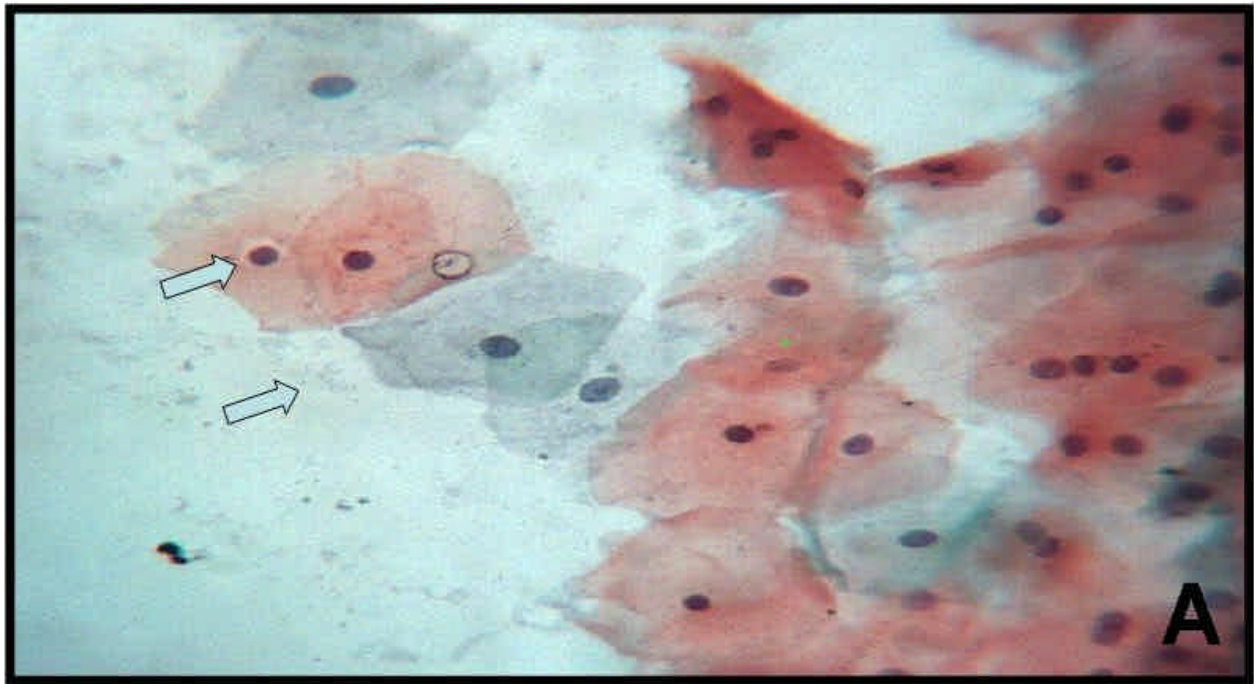


Figura 11. Fotomicrografia mostrando critérios citológicos inflamatórios (fundo "arenoso" e halo perinuclear, setas) observados pelo método de Citologia de Base Líquida. Não tendo sido observadas diferenças entre os métodos de Citologia Convencional ou de Citologia de Base Líquida para este critério.

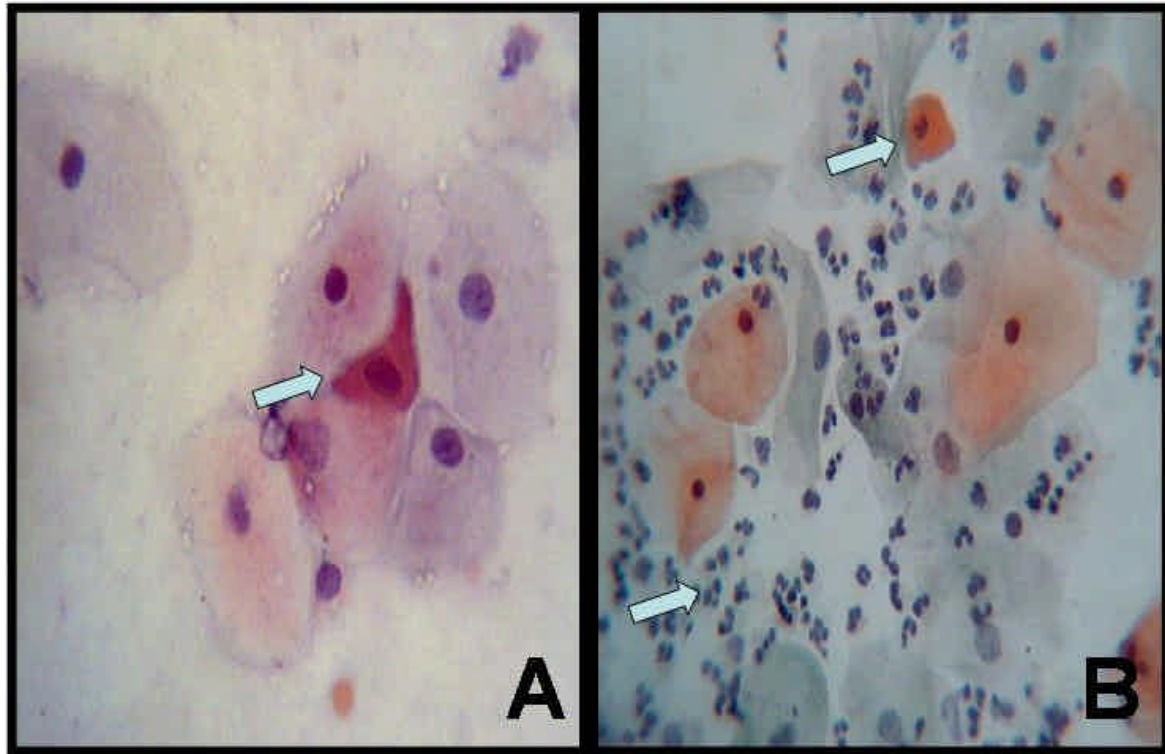
FIGURA 12

Figura 12. Fotomicrografias mostrando critérios citológicos inflamatórios observados pelos métodos de Citologia Convencional (A), disqueratose (setas); ou de Citologia de Base Líquida (B), polimorfonucleares, condensação da cromatina nuclear e disqueratose (setas).

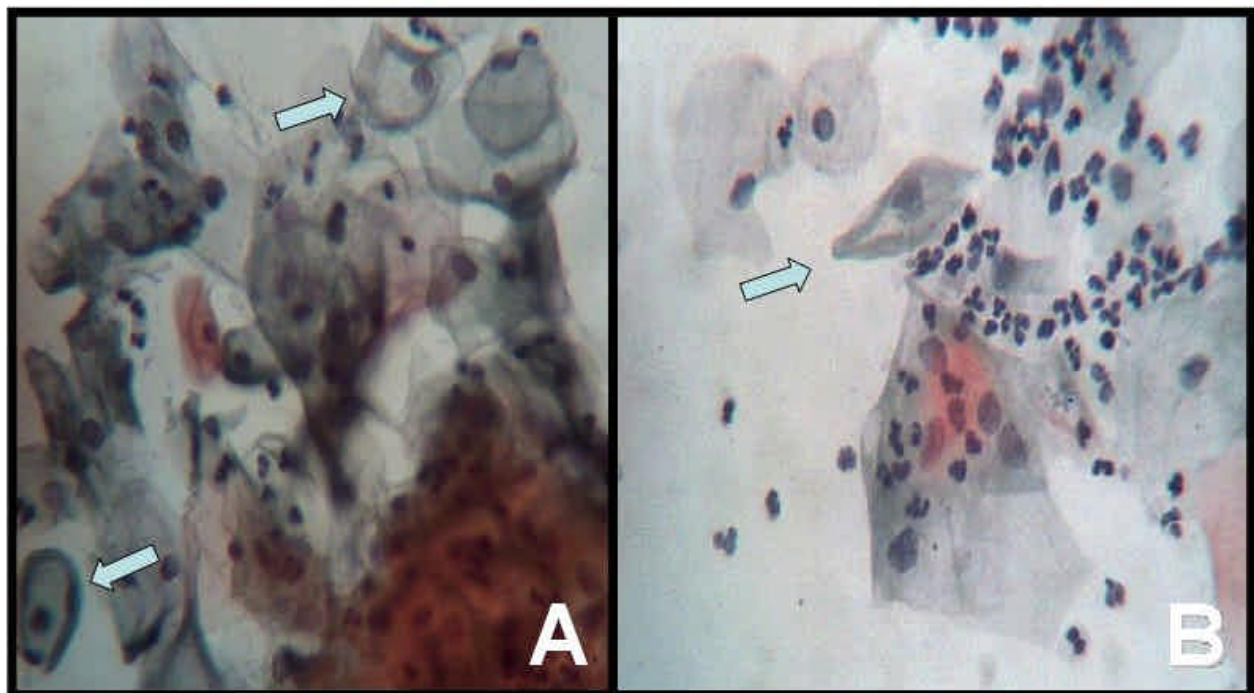
FIGURA 13

Figura 13. Fotomicrografias mostrando critérios citológicos inflamatórios (setas), de dobramentos de bordas celulares (células naviculares), observados pelos métodos de Citologia Convencional (A) ou de Citologia de Base Líquida (B).

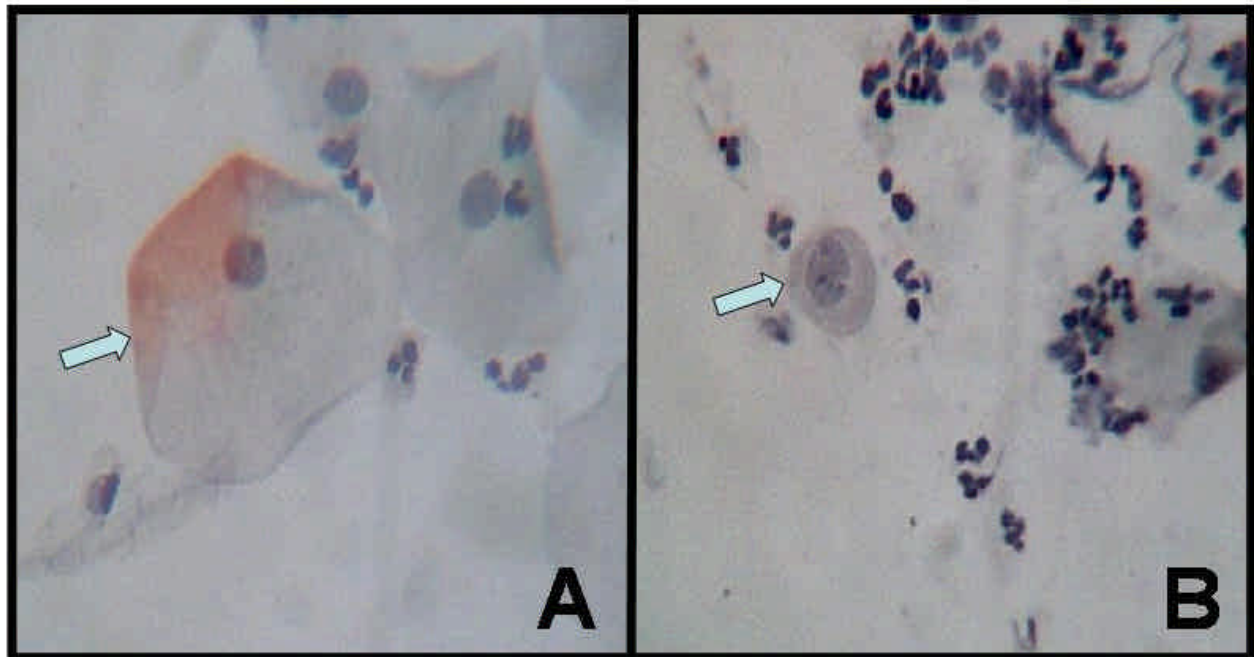
FIGURA 14

Figura 14. Fotomicrografias mostrando critérios citológicos inflamatórios (setas), de pseudo-eosinofilia (policromasia) e cariorex, observados pelo método de Citologia de Base Líquida. Não tendo sido observadas diferenças entre os métodos de Citologia Convencional ou de Citologia de Base Líquida para estes critérios.

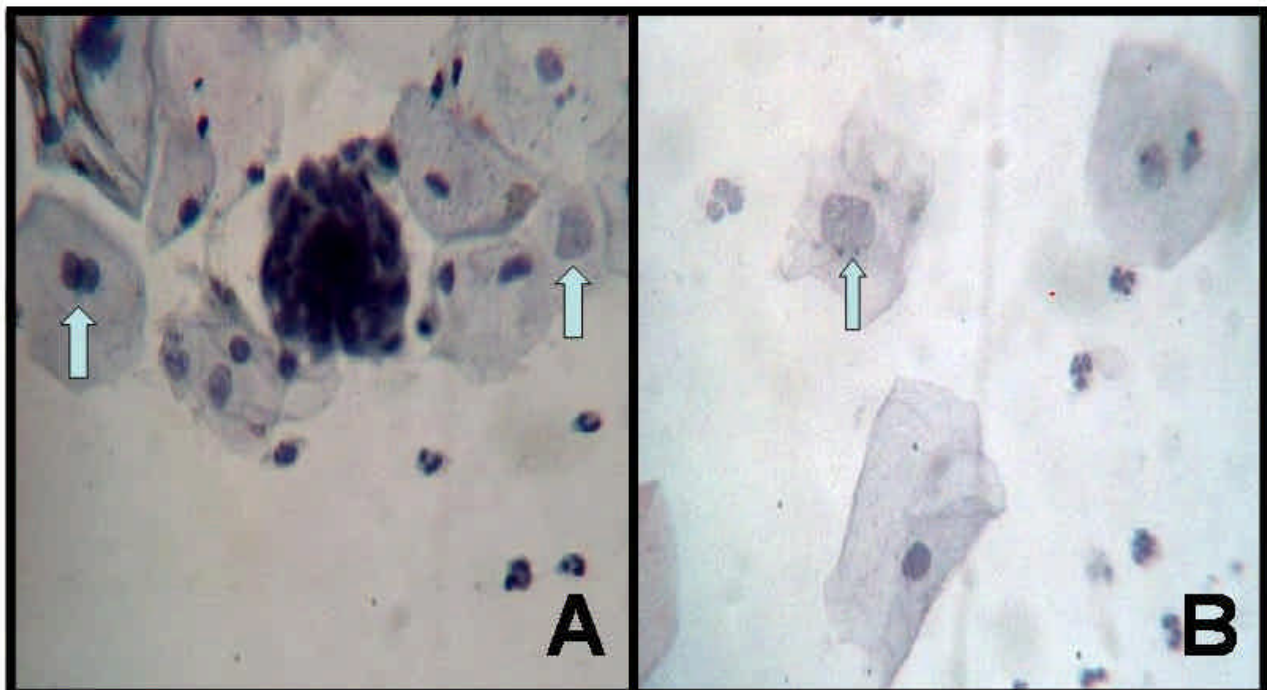
FIGURA 15

Figura 15. Fotomicrografias mostrando critérios citológicos inflamatórios (setas), de aumento do volume nuclear e multinucleação (binucleação), observados pelo método de Citologia de Base Líquida. Não tendo sido observadas diferenças entre os métodos de Citologia Convencional ou de Citologia de Base Líquida para estes critérios.

FIGURA 16

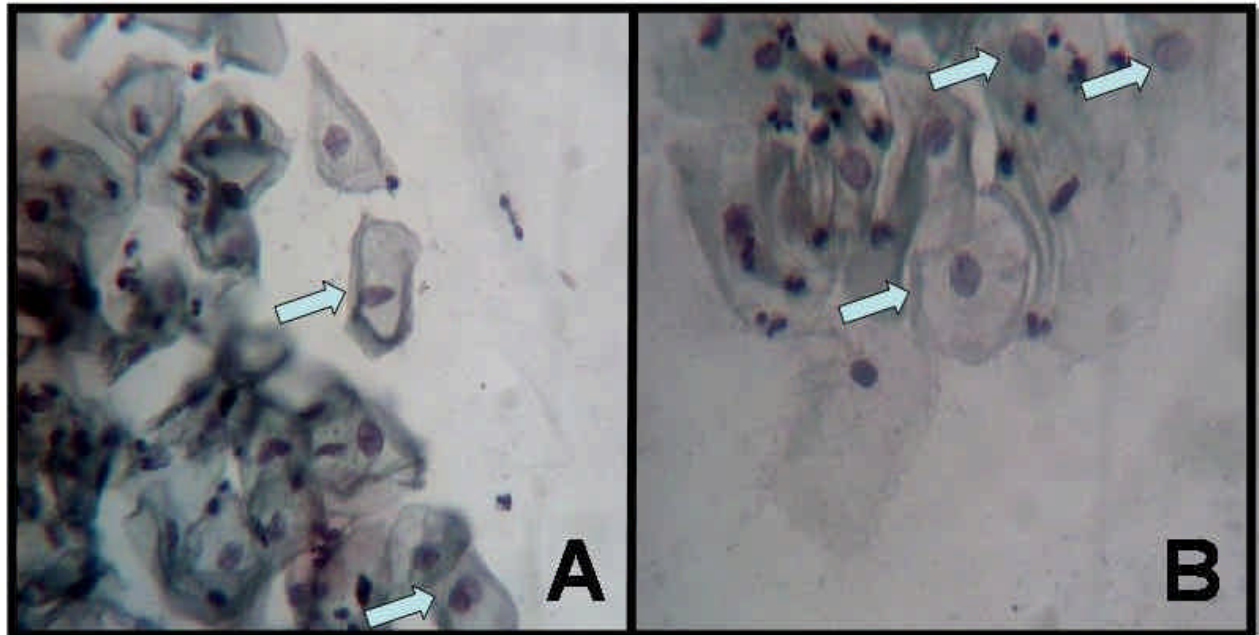


Figura 16. Fotomicrografias mostrando critérios citológicos (setas) pré-malignos (Lesões intra-epiteliais escamosas de baixo grau - LSIL) associados HPV e observados pelos métodos de Citologia Convencional (A) ou de Citologia de Base Líquida (B).

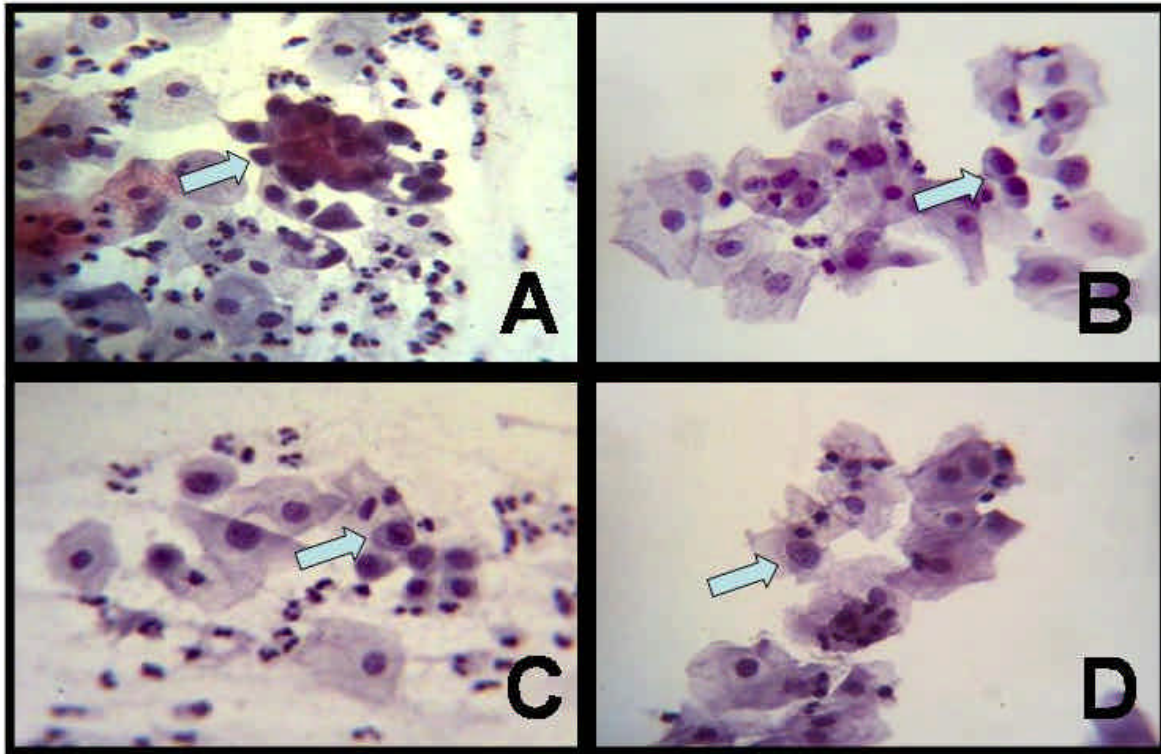
FIGURA 17

Figura 17. Fotomicrografias mostrando critérios citológicos (setas) pré-malignos, de pleomorfismo, quebra da relação núcleo-citoplasma, hiperchromasia e irregularidades da membrana nuclear, associados a Lesões intra-epiteliais escamosas de alto grau (HSIL), e observados pelos métodos de Citologia Convencional (A e C) ou, confirmado, pelo método de Citologia de Base Líquida (B e D).

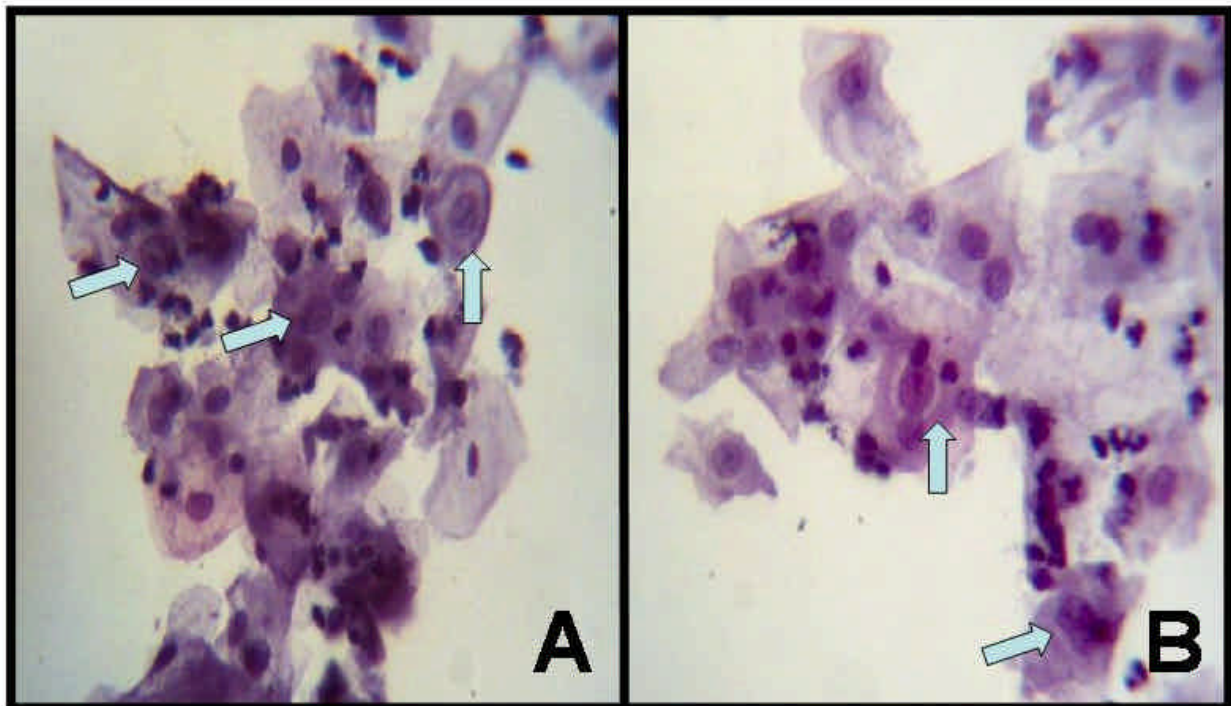
FIGURA 18

Figura 18. Fotomicrografias mostrando critérios citológicos (setas), de cariomegalia (núcleo de tamanho acima do usual) e quebra da relação núcleo-citoplasma, associados a Atipias de células escamosas de significado indeterminado (ASC-US), e observados, e confirmado, pelo método de Citologia de

Base Líquida (A e B).

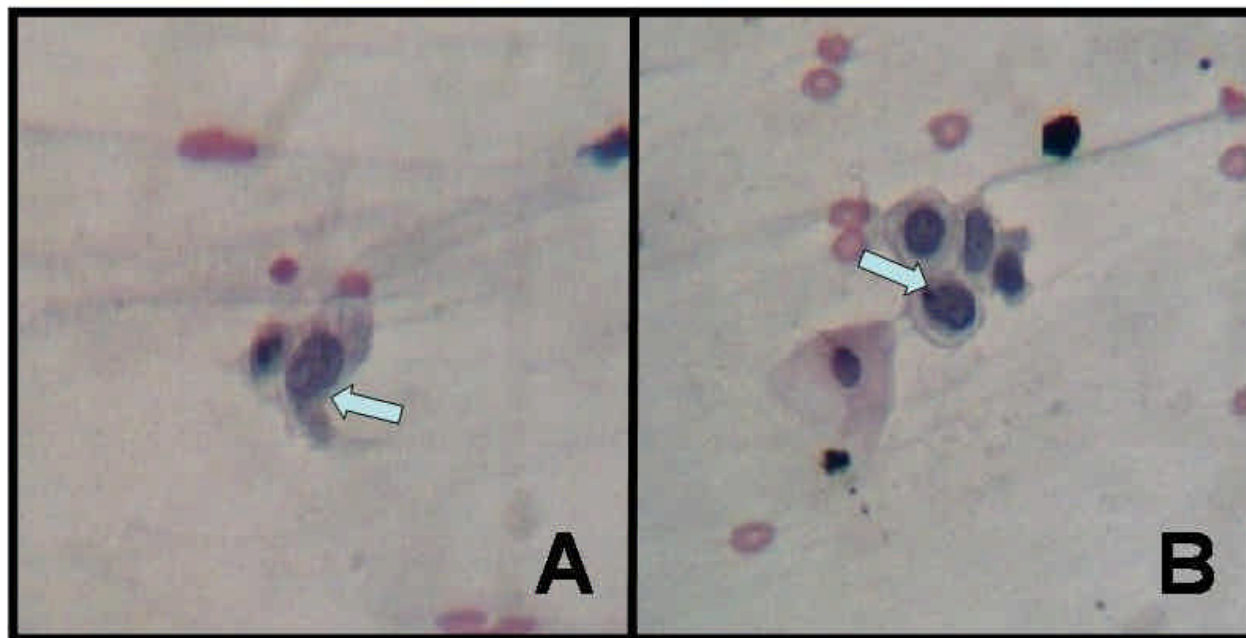
FIGURA 19

Figura 19. Fotomicrografias mostrando critérios citológicos (setas) pré-malignos, de pleomorfismo, quebra da relação núcleo-citoplasma, células em girino, nucléolos proeminentes e irregularidades da membrana nuclear, associados a Lesões intra-epiteliais escamosas de alto grau (HSIL), e observados pelos métodos de Citologia Convencional (A e B). Não tendo sido possível, neste caso, sua demonstração pelo método de Citologia de Base Líquida.

Agradecimentos

Agradecemos aos Ministérios da Saúde do Brasil, à Secretaria Executiva de Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente (SECTAM) e ao Fundo Estadual de Ciência do Estado do Pará, pelo apoio financeiro e científico para a realização deste trabalho.

Bibliografia

AMERICAN CANCER SOCIETY (ACS). ACS Guideline for the Early Detection of Cervical Neoplasia and Cancer. **CA Cancer J Clin**, Vol 52, N 6: 342-362, 2002

Bethesda System and Management Guidelines Updated. **Breast & Cervical Cancer Clinical Update**, July 2002

CARVALHO, G. **Citologia do Trato Genital Feminino**. 4 ed. São Paulo: Atheneu, 2002.

CHANG, AR. The cervical smear test in the next millennium. **HKMJ**,5:294-302, 1999

HALBE, H. W. **Tratado de Ginecologia**. São Paulo: Roca; 1993.

KOSS, L. G. *et al.* **Citologia Ginecológica**. São Paulo: Malone, 1997.

LIRA Neto, J. B. **Atlas de Citopatologia e Histologia do Colo Uterino**. Rio de Janeiro: MEDSI, 2000.

MICHALAS, S. P. The Pap test: George N. Papanicolaou (1883–1962) A screening test for the prevention of cancer of uterine cervix.

Obstetrics & Gynecology, 90:135– 138, 2000

PEREIRA, S. M. M. et al - Avaliação da celularidade citológica em preparados de base líquida **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 62(1): 35 - 39 ,2003.

PITOLLI, J. E. *et al.* Análise Crítica Das Diferenças Diagnósticas Entre Citologia Convencional (Cc), Base Líquida (Bl) E Teste De Captura De Híbridos (Hc Ii). **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, 62, (2), 2003

SAWAYA,G. F. & GRIMES,D.A. New technologies in cervical cytology screening: A word of caution. **Obstetrics & Gynecology**, 94 (2):307-310,1999

SHNEIDER, M.L. & SCHNEIDER,V. – **Citologia ginecológica**. 1.ed. Rio de Janeiro, Revintes, 1998.

SILVA Filho, A. & LONGATO Filho, A. **Colo Uterino e Vagina: Processos Inflamatórios, Aspecto histológico, citológico e Colposcópico**. Rio de Janeiro: Revinter, 2000.

STOLER, M H. Advances in Cervical Screening Technology. **Mod Pathol**; 13(3):275–284, . 2000