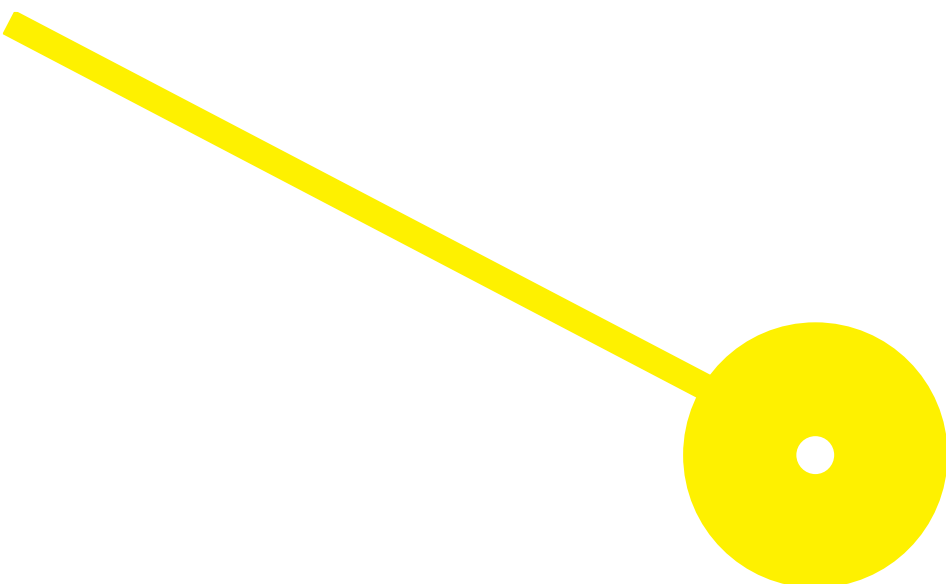




Rastreio Organizado do Cancro do Colo do Útero nos Açores – Análise do impacto das alterações implementadas

Débora Carina Monteiro Ramos de Melo Maciel

09/2023





**ESCOLA
SUPERIOR
DE SAÚDE**

**Rastreio Organizado do Cancro do Colo do Útero nos Açores
Análise do impacto das alterações implementadas**

Autor

Débora Carina Monteiro Ramos de Melo Maciel

Orientadores

Prof. Doutora Sílvia Fernandes, Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto

Prof. Doutora Regina Silva, Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto

Dissertação apresentada para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em **Técnicas Laboratoriais em Biopatologia – Ramo de Patologia Molecular** pela Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto.

Agradecimentos

Ao Hospital do Divino Espírito Santo de Ponta Delgada e ao Centro de Oncologia dos Açores Prof. Doutor José Conde pela colaboração que possibilitou a concretização deste projeto.

Às minhas orientadoras, pelos valiosos conselhos e partilha de experiência e conhecimento que acrescentou rigor e qualidade ao trabalho realizado.

Ao meu companheiro de vida, família e amigos próximos por acreditarem em mim e pela inspiração e força que me deram diariamente.

A todos aos que, de alguma forma, me apoiaram no decorrer destes dois anos, o meu mais sincero obrigada.

Resumo

O Rastreo Organizado do Cancro do Colo do Útero nos Açores (ROCCA) utiliza, desde 2010, a citologia como método de rastreio, sendo substituída, a partir do quarto ciclo, pelo teste de HPV mRNA (*Aptima™HPV Assay*), seguido de genotipagem e citologia reflexa, se positivo para HPV de alto risco.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o impacto da implementação da nova metodologia, nomeadamente a eficácia na deteção de lesões CIN2/3+ e neoplasias malignas; assim como analisar a evolução da taxa de participação. Foi realizada a análise dos dados de 22 427 mulheres rastreadas na primeira metade do quarto ciclo do ROCCA, de janeiro de 2021 a junho de 2023, e feita a comparação com os três ciclos anteriores.

Os resultados mostram maior adesão populacional, maior taxa de aferição e taxa de resultados inconclusivos inferior à encontrada no método anteriormente utilizado. A percentagem de lesões CIN2/3+ ou situações neoplásicas malignas confirmadas histologicamente em consulta de patologia cervical foi superior na primeira metade do quarto ciclo. No entanto, são necessários os dados da totalidade do ciclo para concluir acerca da eficácia do método *Aptima™HPV Assay*.

O teste de HPV apresenta maior abrangência, em períodos mais alargados e revela-se uma ferramenta adequada e com mais significado clínico.

Palavras-chave: Neoplasia intraepitelial cervical, Papilomavírus Humano, Prevenção secundária, RNA, Açores, Rastreio do cancro do colo do útero

Abstract

The Organized Cervical Cancer Screening in the Azores (ROCCA) uses, since 2010, cytology as a screening test, being replaced, from the fourth cycle, by the HPV mRNA test (*Aptima™ HPV Assay*), followed by genotyping and reflex cytology, in case of a positive result for high-risk HPV.

The present study aims to evaluate the impact of the implementation of the new methodology, namely, efficacy in detecting CIN2/3+ lesions and malignant neoplasia, and to analyze the evolution of the participation rate. Data from 22 427 women screened in the first half of the fourth cycle of ROCCA, from January 2021 to June 2023, were analyzed and compared with the previous three cycles.

The results show higher population accession, higher measurement rate and lower rate of inconclusive results in relation to the previously used method. The percentage of CIN2/3+ lesions or histologically confirmed malignant neoplasia situations in cervical pathology consultation was higher in the first half of the fourth cycle. However, data from the entire cycle are needed to conclude about the efficacy of the *Aptima™ HPV Assay* method.

The HPV test has a greater coverage, in longer periods and proves to be an appropriate tool with more clinical significance.

Keywords: Cervical Intraepithelial Neoplasia, Human papillomavirus, Secondary Prevention, RNA, Azores, Cervical cancer screening

Índice

1.	Introdução.....	1
1.1.	Epidemiologia	1
1.2.	Infeção por HPV e cancro do colo do útero.....	2
1.3.	Prevenção do cancro do colo do útero: rastreio	6
1.3.1.	Testes de rastreio	7
1.4.	Rastreio Organizado do Cancro do Colo do Útero nos Açores.....	8
1.5.	Metodologia de rastreio <i>Aptima™ HPV Assay</i>	12
2.	Objetivos.....	14
3.	Metodologia.....	15
3.1.	Consentimento e segurança dos dados.....	15
3.2.	População em estudo.....	15
3.3.	Métodos de recolha de informação	16
3.4.	Análise e tratamento dos dados	16
3.5.	Riscos associados.....	18
4.	Resultados	19
4.1.	Taxa de participação populacional.....	19
4.2.	Adesão por ilha.....	21
4.3.	Indicadores de monitorização.....	22
4.4.	Qualidade da amostra.....	25
4.5.	Indicadores clínicos e seguimento	26
5.	Discussão.....	29
6.	Conclusão.....	37
	Referências Bibliográficas.....	38
	Anexos	i
	Anexo I.....	i
	Anexo II.....	ii

Índice de Tabelas

Tabela 1. Evolução histórica do programa ROCCA	10
Tabela 2. Número de mulheres rastreadas por ilha e por ciclo de rastreio	21
Tabela 3. Número e frequência de consultas de aferição por ciclo de rastreio	22
Tabela 4. Número e frequência de consultas de aferição por ilha	22
Tabela 5. Indicadores citopatológicos nos primeiros três ciclos de rastreio	23
Tabela 6. Indicadores citopatológicos na primeira metade do quarto ciclo de rastreio	24
Tabela 7. Avaliação da qualidade da amostra	26
Tabela 8. Resultados histológicos de seguimento obtidos em consulta de aferição	27

Índice de Figuras

Figura 1. Bloqueio da atividade normal da p53 pela oncoproteína E6 e pRb pela E7	4
Figura 2. Representação gráfica do número de mulheres rastreadas pelo ROCCA	9
Figura 3. Princípio molecular do teste <i>Aptima™ HPV Assay</i>	12
Figura 4. Representação gráfica do número de mulheres rastreadas por ciclo de rastreio	19
Figura 5. Representação gráfica da taxa de participação populacional	20
Figura 6. Representação gráfica da taxa de adesão por ilha	21
Figura 7. Representação gráfica dos resultados do quarto ciclo de rastreio.....	24
Figura 8. Representação gráfica dos resultados citopatológicos positivos dos quatro ciclos de rastreio	25

1. Introdução

O cancro do colo do útero (CCU) é dos cancros mais frequentes nas mulheres e está relacionado, em mais de 99% dos casos, com a infeção persistente por subtipos de Vírus do Papiloma Humano de alto risco (HPV-AR) (1–3).

A Organização Mundial de Saúde lidera uma estratégia global para reduzir a incidência do CCU com o objetivo da sua eliminação, sendo que, em mais de cento e trinta países, a vacina contra o HPV faz parte do plano de vacinação e o rastreio é realizado como uma abordagem eficaz. O rastreio implica ações em mulheres de diferentes idades, atuando de forma aditiva, com intervenção em diferentes fases da evolução natural do CCU (1,2,4,5).

Um estudo estima que se não forem implementados programas de prevenção primária e secundária nos países subdesenvolvidos e em desenvolvimento, mais de 44 milhões de mulheres serão diagnosticadas com CCU nos próximos cinquenta anos (6). A vacinação contra o HPV com alta taxa de cobertura populacional permitirá perceber alterações três a quatro décadas após a sua implementação. Contudo, para um impacto a curto prazo, é necessário continuar a investir em programas de rastreio para a deteção precoce de lesões cervicais, inclusivamente na população que não beneficia da vacinação (6).

Com a aplicação destas medidas preventivas em grande escala é expectável que seja possível evitar 12,5 a 13,4 milhões de casos de CCU até 2069, podendo atingir-se uma incidência média de 4/100 000 mulheres por ano, ou até inferior, na maioria dos países, até ao final do século (5,6).

1.1. Epidemiologia

O HPV é a infeção viral mais comum do trato reprodutivo. A maioria das pessoas sexualmente ativas serão infetados em determinado momento das suas vidas, e algumas podem sê-lo repetidamente (1).

A nível global, o CCU é o cancro com a quarta maior taxa de incidência e mortalidade; é o sexto cancro mais frequente nas mulheres europeias, e o sétimo mais frequente em Portugal (7–11). Nos Açores, estudos realizados com dados relativos ao período entre 1996 e 2016, indicam que o CCU foi o quinto cancro mais frequente, representando 1,6% dos casos de cancro na população geral (12). Contudo, tem-se assistido a uma diminuição da incidência de CCU nos últimos anos, inclusivamente nos Açores, tendo apresentado, em 2019, um dos valores de incidência mais baixos a nível nacional (13).

É nos países subdesenvolvidos que se verifica maior taxa de incidência de CCU (cerca de 85%) e de mortalidade por esta patologia (aproximadamente 90%) (2,11,14). Esta discrepância entre países desenvolvidos e países em desenvolvimento/subdesenvolvidos deve-se à falta de acesso a cuidados de saúde adequados para diagnóstico e tratamentos eficientes, de sensibilização da população, além da inexistência de programas de rastreio, bem como de vacinação contra o HPV (10,15,16).

Existem mais de cento e cinquenta subtipos de HPV caracterizados e sequenciados e, entre estes, mais de quarenta são sexualmente transmissíveis (3,17). Dos 604 000 novos casos de CCU estimados anualmente em todo o mundo (14), em 70% foram identificados os subtipos HPV 16 e HPV 18 (3,18).

1.2. Infecção por HPV e cancro do colo do útero

O HPV infeta homens e mulheres, sendo que a doença tem maior manifestação na mulher devido à alta suscetibilidade das células cervicais à infecção por este vírus (19).

O modelo de carcinogénese do cancro do colo do útero traduz-se em quatro fases: 1) infecção pelo HPV, 2) persistência do vírus vs. eliminação, 3) progressão de uma infecção persistente para lesão precursora e 4) invasão (18).

Aproximadamente 67% das infeções por HPV regridem e as lesões precursoras resolvem-se espontaneamente em doze meses, e mais de 90% são eliminadas nos dois anos seguintes, no entanto, há o risco da infecção se tornar crónica e as lesões evoluírem para carcinoma invasivo. Este processo pode demorar entre quinze e vinte anos em mulheres com sistema imunológico normal (1,17). O risco de desenvolver neoplasia maligna invasiva aumenta cinco a dez vezes quando há um comprometimento do sistema imunológico por imunodeficiência, tratamentos imunossupressores ou outras infeções. O uso prolongado de contraceptivos orais, exposição sexual em idade precoce, múltiplos parceiros, multiparidade e tabagismo são outros fatores que contribuem para o aumento do risco (20,21).

As lesões precursoras podem ser identificadas em amostras de citologia ginecológica e são designadas por lesões intraepiteliais escamosas (SIL, *squamous intraepithelial lesions*). Estas podem ser classificadas em lesões de baixo grau (quando apresentam características morfológicas de infecção por HPV autolimitada com baixo risco associado de CCU), ou de alto grau (que representa uma lesão pré-neoplásica). Além disso, podem ser consideradas

alterações citológicas de significado indeterminado aquelas cujo grau de atipia não é suficiente para determinar SIL (22–25).

Histologicamente, o carcinoma pavimentocelular/espinoceleular/epidermóide é o tipo mais comum nos casos de CCU, em que mais de 95% dos casos estão etiologicamente associados à infecção pelo HPV. Os adenocarcinomas são um grupo mais heterogêneo, estando 85% dos casos associados à presença do vírus (7).

Os subtipos de HPV considerados de alto risco oncogénico, nomeadamente 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, apresentam uma maior relevância na carcinogénese do CCU (26,27).

Estes subtipos, apresentam uma maior capacidade de integrar no genoma do hospedeiro, nomeadamente nas células epiteliais cervicais, facto que leva à desregulação do ciclo celular com consequente proliferação celular, acumulação de mutações somáticas e instabilidade genómica, resultando na progressão neoplásica das lesões (10,28,29).

O HPV é um vírus de pequenas dimensões, com 55 nm de diâmetro, que pertence à família *Papillomaviridae* (21), classificados em cinco géneros principais (α -papilomavírus, β -papilomavírus, γ -papilomavírus, μ -papilomavírus e ν -papilomavírus), de acordo com a sequência de nucleótidos que codifica a proteína L1 da cápside (19,30).

Todos os subtipos de HPV apresentam um genoma circular de cadeia dupla com comprimento aproximado de 7900 pares de bases associados a histonas, que consiste em genes precoces (E, *early*) responsáveis pela manutenção, replicação e transcrição do DNA; em genes tardios (L, *late*) que codificam as proteínas da estrutura da cápside major e minor (L1 e L2, respetivamente); e numa longa região de controlo não codificante, também denominada região reguladora a montante (URR, *upstream regulatory region*) que contém a origem da replicação e vários locais de ligação a fatores de transcrição para ação da RNA polimerase (10,17,21,26,31).

A extremidade 5' inicia com a região codificante dos genes precoces que tem seis grelhas de leitura (E1, E2, E4, E5, E6 e E7). As proteínas E1 e E2 têm um elevado índice de expressão no início da infecção e são responsáveis pela replicação viral nas células cervicais e pelas alterações citológicas de baixo grau. A proteína E5 promove a diferenciação em queratinócitos e auxilia na evasão ao sistema imune do hospedeiro em estadios mais avançados. As oncoproteínas E6 e E7 são as responsáveis pela carcinogénese, ajudando ao estabelecimento de diversos *hallmarks* (alterações fisiológicas nas células) para o CCU (10,17,20,32).

No decorrer do processo de replicação do genoma viral, a expressão das oncoproteínas E6 e E7 levam a uma sucessão de etapas, nomeadamente desregulação do ciclo celular e consequente proliferação celular descontrolada, angiogénese, capacidade de invasão, metastização, atividade ilimitada da telomerase e evasão à apoptose. Uma das evidências que mostra o papel das proteínas E6 e E7 no processo de carcinogénese é as células neoplásicas entrarem em senescência ou em apoptose na ausência da atividade da E6 e E7, o que indica a necessidade absoluta da presença destas proteínas para o desenvolvimento de CCU associado a infeção por HPV (10).

Nas infeções persistentes, a integração do genoma viral no genoma das células cervicais do hospedeiro ocorre no local do gene E2 levando à sua disrupção. A expressão deste gene inibe a expressão dos genes E6 e E7 e a sua disrupção vai causar uma ativação permanente dos oncogenes e consequente produção de oncoproteínas E6 e E7 (10,26).

As oncoproteínas E6 e E7 são responsáveis pelas alterações iniciais no tecido epitelial, por causarem a inativação de duas proteínas supressoras de tumor, a retinoblastoma (pRb) e a p53, eventos que causam uma rápida proliferação celular e uma interrupção dos mecanismos de reparação de erros no DNA e da apoptose, respetivamente (Figura 1). Adicionalmente, as oncoproteínas têm influência na mediação da evasão da resposta imune do hospedeiro, uma vez que após a integração do genoma viral, a célula deixa de ser reconhecida como não própria pelo sistema imunológico e torna-se insensível aos mecanismos efetores, induzindo um estado imunossupressor no microambiente da lesão epitelial, permitindo que a infeção persista (10,11,29,33).

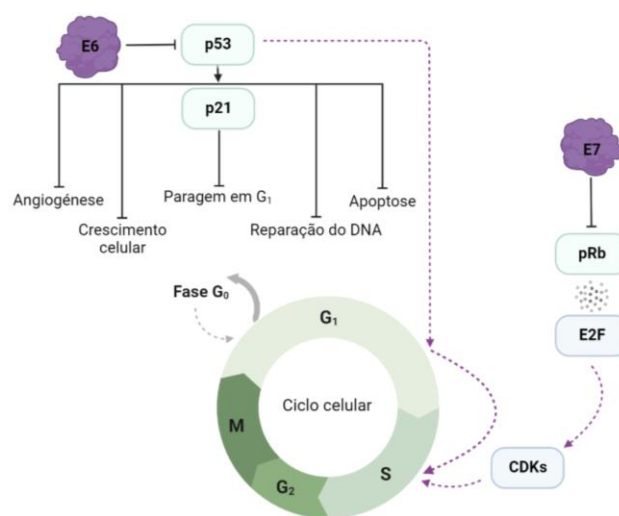


Figura 1. Boqueio da atividade normal da p53 pela oncoproteína E6 e da pRb pela E7 na carcinogénese associada à infeção por HPV. Os mecanismos de regulação de crescimento e proliferação celular ficam alterados levando a um descontrolo do ciclo celular.
Imagem criada com BioRender.com

A p53 é uma proteína supressora tumoral e a sua expressão aumenta em resposta ao *stress* celular. Esta proteína ativa o inibidor da quinase dependente de ciclina (CDK), a p21, levando as células a permanecerem na fase G1. Após integração, a oncoproteína E6 liga à p53, degrada-a por ubiquitinação e desativa a sua função normal. É bloqueada a capacidade de reparação do DNA da célula hospedeira, a capacidade de entrar em apoptose e de inibição do seu crescimento e angiogénese (10,29,33,34). Por sua vez, a E7 liga-se à pRb, libertando-se E2F, um fator de transcrição que ativa a CDK. A interação pRb-E2F é um ponto de verificação obrigatório para a passagem de G1 para a fase S. Se a célula não está preparada para a entrada em fase S, a pRb permanece ligada a fatores de transcrição da família E2F evitando que sejam transcritos os genes necessários na fase S. Em células infetadas pelo HPV, a E7 tem como alvo a pRb para ubiquitinação, levando à libertação dos fatores de transcrição E2F evento que leva as células a entrar prematuramente em fase S e a progredir no ciclo celular, havendo um não controlo do ciclo celular (10,29,33). Quando as células infetadas se diferenciam e proliferam é promovido o desenvolvimento de células displásicas (10).

As oncoproteínas E6 e E7 também têm como alvo o oncogene *c-MYC* que interfere com a proliferação celular, a apoptose e a transformação celular. A integração do genoma do HPV ocorre no *locus MYC*, na banda cromossómica 8q24, justificando a expressão alterada da *c-MYC* nas células neoplásicas do colo do útero infetadas por HPV. A desregulação de *c-MYC* leva a alterações na ação de CDK, ciclinas e fatores de transcrição E2F, uma vez que a proteína *MYC* tem a capacidade de induzir complexos ciclina-CDK que fazem com que a célula entre em fase S. Tem também a capacidade de reverter a atividade inibidora que as proteínas p21 e p27 desempenham nas CDK. Além disso, tanto a E6 como a E7 podem interagir com *c-MYC* para ativar o promotor hTERT (*human telomerase reverse transcriptase*), que faz com que haja sobreexpressão da enzima telomerase, impedindo que os telómeros das células neoplásicas encurtem como consequência do envelhecimento celular, contribuindo para a imortalidade das mesmas e progressão da lesão (10,35,36).

A integração do vírus no genoma do hospedeiro não é observada em todas as células HPV positivas. Segundo um estudo realizado no âmbito do programa *The Cancer Genome Atlas*, a integração do genoma do subtipo HPV 18 ocorre na totalidade dos casos, enquanto em amostras com subtipo HPV 16, o genoma viral é integrado em 76%. Foram observadas alterações genéticas e epigenéticas nas regiões reguladoras de E6 e E7, promovendo a

desregulação destes oncogenes, tornando esta desregulação de E6 e E7 o evento mais importante na carcinogénese do CCU (26,37).

Múltiplos genes envolvidos na reparação do DNA, na proliferação celular, na atividade de fatores de crescimento e na angiogénese apresentam expressão em lesões intraepiteliais do colo do útero. Essa instabilidade genómica gera um ambiente favorável à replicação viral e estimula as células infetadas a progredir para carcinoma invasivo (29,33).

Quando diagnosticado precocemente e orientado de forma eficaz, o CCU é uma das formas de cancro tratáveis com mais sucesso (38).

1.3. Prevenção do cancro do colo do útero: rastreio

A redução da incidência, morbidade e da mortalidade por CCU é possível através da adoção de medidas de prevenção primária, que inclui a vacinação profilática contra o HPV, e de prevenção secundária, pela realização de um teste de rastreio ao colo do útero (42), através da participação em programas de rastreio organizados. A localização anatómica do colo do útero e a facilidade de colheita da amostra por raspagem da superfície epitelial, assim como a existência de lesões precursoras de malignidade permitem um rastreio eficaz (16,39).

O rastreio é dirigido a pessoas assintomáticas com o objetivo de reduzir a morbidade e mortalidade, através da deteção de lesões precursoras da neoplasia, que se encontram em estadios precoces sendo estas pequenas e mais fáceis de tratar e curar (39–41). Um programa de rastreio é tanto mais eficaz quanto maior for a percentagem de população-alvo rastreada, e idealmente, deverá ser superior a 70% (42,43).

O sucesso de um programa de rastreio depende da adequada aplicação de uma sequência de intervenções: 1) identificação da população-alvo; 2) convite da população elegível; 3) realização do teste de rastreio; 4) diagnóstico; 5) referência para tratamento; 6) terapêutica e 7) vigilância ou seguimento após tratamento. Estes programas, em Portugal, são monitorizados e avaliados periodicamente através do Programa Nacional para as Doenças Oncológicas, da competência da Direção Geral da Saúde, de acordo com o Despacho nº 8254/2017, de 21 de setembro (44).

No rastreio do CCU as principais desvantagens são o sobrediagnóstico (no sentido de poder haver a classificação de uma lesão precursora com tratamento indicado e riscos associados, mas que, a longo prazo, poderia traduzir-se numa condição não clinicamente significativa) e os

falsos positivos (que pode resultar em exames, intervenções e tratamentos que se demonstram desnecessários) (45).

1.3.1. Testes de rastreio

O método de rastreio utilizado deve ser sensível e com uma relação custo/benefício aceitável, tendo em conta o grupo-alvo de rastreio. No caso do rastreio ao CCU, podem ser utilizados como método de rastreio a citologia convencional, a citologia em meio líquido, o teste de HPV ou a associação dos dois últimos, sendo que a citologia convencional tem sido substituída em grande escala pela citologia em meio líquido, uma vez que esta metodologia de processamento permite a obtenção de amostras mais homogéneas, facilitando a leitura das amostras, e apresenta a vantagem de permitir a realização de testes complementares na mesma amostra, com maior sensibilidade, nomeadamente o resultado da infeção pelo HPV (2,42).

A citologia como método de rastreio permitiu uma redução na incidência e mortalidade por CCU entre 70 e 80% (16,17,46). Este método apresenta uma especificidade de aproximadamente 98% e uma sensibilidade entre 55 e 80%, para deteção de patologia cervical e carcinoma invasivo do colo do útero (16,17,42).

A citologia realizada com uma periodicidade de 3 anos é o único método de rastreio recomendado em mulheres com menos de 30 anos, uma vez que a prevalência da infeção por HPV é significativamente mais elevada em mulheres nesta faixa etária, mas com maior taxa de resolução espontânea (42).

Em mulheres com 30 anos ou mais é recomendado o teste de HPV como teste primário de rastreio, pois pode identificar infeções persistentes e clinicamente mais significativas (42). Alguns estudos realizados mostram que o teste de HPV permite uma proteção contra o carcinoma invasivo 60 a 70% superior à citologia (47), apresentado um valor preditivo negativo (VPN) muito próximo dos 100%, sendo mais reprodutível do que a citologia. Além disso, apresenta uma maior sensibilidade comparativamente à citologia, mas uma menor especificidade na deteção de lesões precursoras de alto grau (CIN2+) (15,42,48).

O teste de HPV-AR apresenta ainda como vantagem a possibilidade da auto-colheita cujo resultado, ao contrário da citologia, apresenta maior semelhança aos realizados por profissionais de saúde, e pode permitir uma maior taxa de cobertura do programa de rastreio (17,42,49–51). A auto-colheita está atualmente a ser estudada como metodologia a ser

implementada em vários países para a redução da incidência do CCU (49,52). A principal desvantagem do teste de HPV-AR é ser uma metodologia com custos mais elevados, contudo esta desvantagem é colmatada pela alta especificidade do teste e pelo prolongamento do intervalo para efetuar novo rastreio, que deve ser de 5 anos (17,53).

Em 2003, o teste *Hybrid Capture II HPV-DNA Assay (Digene®)* (HC2) foi o primeiro teste de HPV aprovado pela *Food and Drug Administration (FDA)* para deteção de HPV-AR em amostras colhidas em *ThinPrep®*, que passou a ser o teste de referência para aprovação de outros (18,40,42).

Quando se utiliza o teste de HPV como teste primário no rastreio, cerca de 90% das mulheres com teste positivo não apresenta lesões, sendo necessário um teste adicional para selecionar as mulheres em que é necessário realizar a colposcopia. Nestes casos, a citologia apresenta um elevado valor preditivo positivo (VPP). A combinação destes métodos, apresenta uma sensibilidade acrescida em relação ao uso isolado de qualquer um dos dois testes (17,42,54).

Diretrizes europeias e internacionais recentes recomendam o rastreio baseado no teste de HPV, em substituição da citologia, tendo sido estabelecido consenso internacional/nacional em que o teste HPV com genotipagem para os serotipos oncogénicos é o melhor método de rastreio primário (2,5,6,17,39,53,55,56).

Independentemente do teste primário que é utilizado para o rastreio, o mais importante é ser efetuado com a periodicidade indicada para cada um. As atuais recomendações procuraram aumentar os benefícios do rastreio e diminuir o risco de tratamentos desnecessários (57).

1.4. Rastreio Organizado do Cancro do Colo do Útero nos Açores

Desde 1990 que existe um projeto para rastreio do cancro do colo do útero na Região Autónoma das Açores (RAA), sendo reconhecida a importância que este tipo de prevenção tem sobre a saúde da mulher, na redução da incidência e mortalidade, e na redução de custos humanos e económicos para a região. Este programa vem a ser implementado anos mais tarde (com as adaptações próprias da evolução tecnológica e do conhecimento e experiência adquirida), essencialmente devido à falta de recursos humanos que se verificava na altura.

Ao invés do que já acontecia em países desenvolvidos, a RAA não apresentava um programa de rastreio organizado do CCU, existindo apenas o designado rastreio oportunista,

decorrente da normal oferta dos serviços do Serviço Regional de Saúde e dos serviços privados.

Em 2006 o projeto é revisto tendo sido formalizado e implementado em 2010.

Segundo o relatório de atividades 2021 do Centro de Oncologia dos Açores Prof. Doutor José Conde (COA), o Rastreio Organizado do Cancro do Colo do Útero nos Açores (ROCCA) apresenta uma taxa de cobertura geográfica de 100% (44,58). É um programa de saúde pública de base populacional e de âmbito regional que envolve todas as Unidades de Saúde do Sistema Regional de Saúde dos Açores, e com o qual se pretende a deteção precoce do CCU e o diagnóstico de lesões precursoras (55). Com um total de 76 318 mulheres rastreadas entre 2010 e 2019 (Figura 2), é notória uma evolução positiva no decorrer dos três primeiros ciclos do ROCCA, conforme registado na Tabela 1.

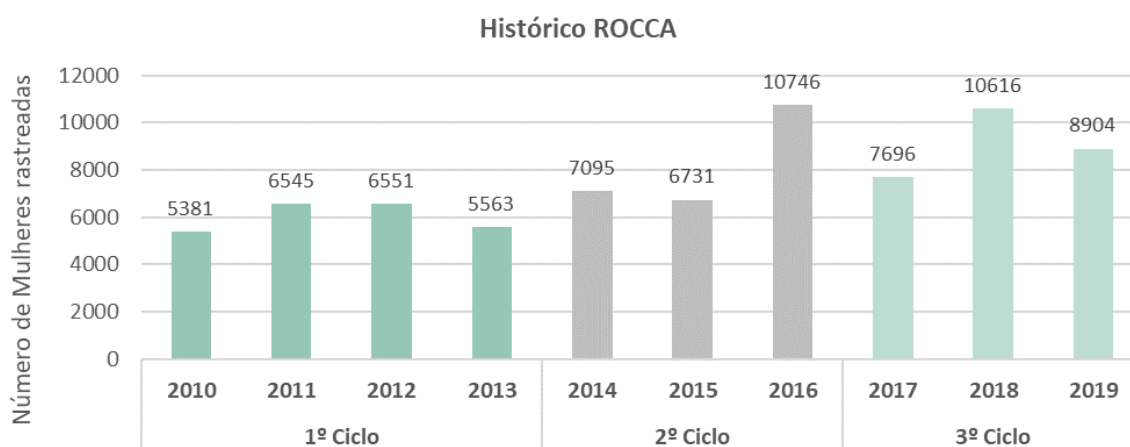


Figura 2. Representação gráfica do número de mulheres rastreadas nos primeiros três ciclos do ROCCA.

Fonte: Relatório de atividades 2021 do COA (58).

Com uma cobertura da vacinação contra o HPV superior a 90% na RAA (55) é previsível que, nas mulheres vacinadas, devido à diminuição da prevalência de lesões precursoras e à subjetividade que envolve a avaliação morfológica da citologia, a sensibilidade e o VPP da citologia baixem significativamente, o que pode levar a um aumento da taxa de resultados falsos negativos, diminuindo o valor da citologia como método de rastreio primário (59).

Sob proposta da Comissão Coordenadora do ROCCA submetida a parecer do Conselho Consultivo de Combate à Doença Oncológica nos Açores (CCDOA), foi aprovada a mudança para o teste primário de HPV a partir do início do quarto ciclo. Assim, o rastreio sofreu uma

alteração na metodologia no que respeita ao teste de referência, que passa a ser o teste de genotipagem de serotipos oncogénicos do HPV a cada 5 anos, em vez de citologia de 3 em 3 anos (55).

Tabela 1. Evolução histórica do programa ROCCA.

2010
<ul style="list-style-type: none"> • Início do ROCCA com resultados abaixo das metas previstas • Metodologia utilizada: citologia ginecológica com HPV reflexo, de 3 em 3 anos • 5381 mulheres rastreadas
2011
<ul style="list-style-type: none"> • Melhoria lenta e insuficiente para o cumprimento de metas • 6545 mulheres rastreadas
2012
<ul style="list-style-type: none"> • Registo de uma melhoria nos Concelhos onde estava mais atrasado • 6551 mulheres rastreadas • Taxa de participação de 28,45%
2013
<ul style="list-style-type: none"> • Conclusão do primeiro ciclo do programa de rastreio • 5563 mulheres rastreadas • Taxa de participação de 41,86% (meta para 1º ciclo de 40%)
2014
<ul style="list-style-type: none"> • Início do segundo ciclo do programa • 7095 mulheres rastreadas
2015
<ul style="list-style-type: none"> • Atualização dos números da população-alvo. Segundo os dados do MedicineOne, há um aumento de 11,49% de mulheres elegíveis para o rastreio • 6731 mulheres rastreadas
2016
<ul style="list-style-type: none"> • Conclusão do segundo ciclo do programa de rastreio • 10746 mulheres rastreadas • Taxa de participação de 35,9% (meta para 2º ciclo de 55%)
2017
<ul style="list-style-type: none"> • Início do terceiro ciclo do programa • 7696 mulheres rastreadas
2018
<ul style="list-style-type: none"> • Evolução positiva • 10616 mulheres rastreadas
2019
<ul style="list-style-type: none"> • Conclusão do terceiro ciclo do programa de rastreio • 8904 mulheres rastreadas • Taxa de participação de 43,2% (meta para 3º ciclo de 55%)

O rastreio é efetuado a todas as mulheres com idade compreendida entre os 25 e 64 anos assintomáticas e inscritas na lista de utentes das Unidades de Saúde de Ilha, exceto às mulheres com sinais e/ou sintomas de doença ginecológica e às que não iniciaram atividade sexual. Mulheres com cancro do colo uterino diagnosticado e mulheres submetidas a histerectomia total, constituem critérios de exclusão definitiva (60).

Nos primeiros três ciclos do programa de rastreio a metodologia utilizada foi a realização de exame ginecológico e a colheita de citologia do colo do útero em meio líquido (*ThinPrep® Pap Test*), sendo estes exames realizados com uma periodicidade de 3 anos (39,57). A amostra é processada automaticamente no equipamento *ThinPrep®2000* da *Hologic®*, para obtenção de preparações citológicas em monocamada e para avaliação microscópica de alterações celulares. No caso de um resultado negativo, a utente volta a ser convocada para o rastreio no ciclo seguinte. Caso o resultado seja positivo a utente é referenciada para consulta hospitalar. No caso de o resultado ser de atipia de células pavimentosas de significado indeterminado (ASC-US) é realizado, na mesma amostra, o teste molecular para deteção de DNA de HPV-AR. Perante um resultado positivo para HPV-AR, a utente é encaminhada para a consulta de patologia cervical.

Em 2019, a partir do início do quarto ciclo do ROCCA, foi aprovada uma alteração no teste molecular para o rastreio de CCU, passando a ser usado o teste de HPV (*Aptima™ HPV Assay*). Desta forma, é realizado um exame ginecológico para colheita da citologia cervical em meio líquido na qual é feita a pesquisa de RNA mensageiro (mRNA) de catorze subtipos oncogénicos de HPV-AR, sendo este teste molecular realizado com uma periodicidade de 5 anos (39,55,57,61). Quando o resultado do teste molecular é positivo, é realizada a genotipagem do HPV para distinguir os subtipos HPV 16 e HPV 18/45 dos restantes subtipos de HPV-AR. Se o resultado for positivo para a deteção do HPV 16, 18/45 a utente é referenciada para a consulta de patologia cervical; nos casos negativos para HPV 16 ou HPV 18/45, é processada a citologia líquida para avaliar a presença de alterações citológicas. Se o resultado da citologia reflexa for neoplasia intraepitelial do colo do útero ou carcinoma invasivo, a utente sai do rastreio e é tratada e acompanhada em contexto hospitalar. Perante um resultado citológico negativo, a utente prossegue no programa de rastreio e repete o teste de HPV após um ano (62). No Anexo I estão definidos os procedimentos e o circuito de referência em consulta no Centro de Saúde. No Anexo II está esquematizada a metodologia usada na consulta da Unidade de Patologia Cervical (38).

O principal instrumento operacional no desenvolvimento, avaliação e monitorização do programa é a plataforma informática (PI ROCCA) onde é efetuada a gestão e registo da sequência de intervenções necessárias, que vão desde a identificação da população-alvo, convocação da população elegível, resultado do teste, referência para diagnóstico precoce e tratamento ou acompanhamento hospitalar, além de possibilitar a monitorização do processo e o controlo da qualidade. Esta plataforma está disponível para todos os intervenientes no programa e deve ser devidamente preenchida, sendo obrigatório o carregamento dos atos e respetivos resultados efetuados em todas as etapas (38).

1.5. Metodologia de rastreio *Aptima™ HPV Assay*

O teste de HPV mRNA é considerado uma tecnologia custo-efetiva por ser um teste com grande especificidade, facto que diminuiu os custos com a realização de testes adicionais de triagem e reduz o número de casos para referência hospitalar e respetivas consultas de aferição com colposcopias, biopsias e tratamentos desnecessários (3,55).

O *Aptima™ HPV Assay* da *Hologic®* foi aprovado pela FDA em 2011 e é o ensaio atualmente utilizado para o rastreio do CCU nos Açores (63,64). O teste *Aptima™ HPV Assay* consiste em três etapas realizadas em tubo: a captura do mRNA alvo; a amplificação mediada por transcrição (TMA, *Transcription-Mediated Amplification*) feita por transcriptase reversa e polimerase T7; e a deteção dos produtos de amplificação por hibridação (HPA, *Hybridization Protection Assay*), representados esquematicamente na Figura 3 (3,31,64).

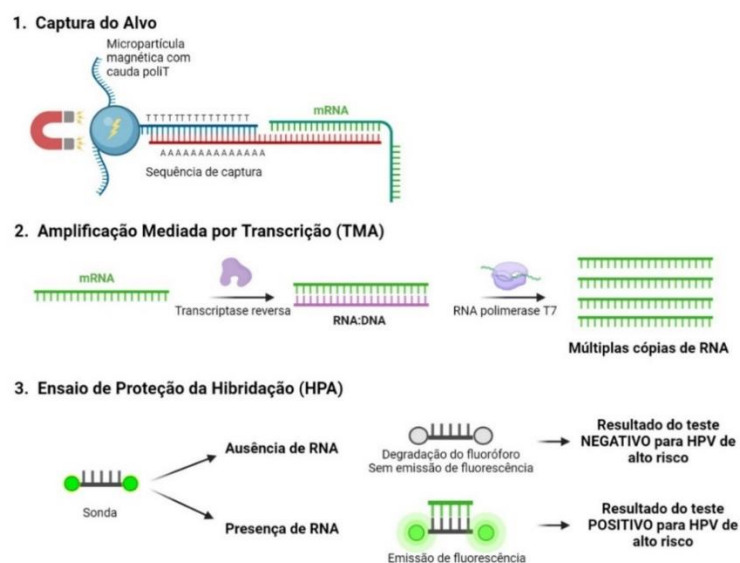


Figura 3. Princípio molecular do teste *Aptima™ HPV Assay* que envolve três etapas para deteção de mRNA E6/E7 de catorze subtipos de HPV de alto risco.
Imagem criada com BioRender.com

Neste ensaio são utilizadas sondas dirigidas ao ácido nucleico alvo previamente amplificado (amplicão) para a detecção qualitativa *in vitro* do mRNA viral E6/E7 de catorze subtipos de HPV-AR (16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68) (31).

O desempenho clínico deste teste molecular, quando utilizado como método de seleção principal, foi estudado em vários ensaios por investigadores independentes, tendo sido demonstrado que o *Aptima™ HPV Assay* tem um desempenho clínico semelhante a outros testes de HPV clinicamente validados para identificação de lesões precursoras e do CCU, além de apresentar uma grande sensibilidade para detecção de CIN2+ (31,41). Além deste teste molecular, nos casos positivos será aplicado o teste *Aptima™ 16 18/45 Genotype Assay* que deteta a infecção por três tipos oncogénicos, o HPV 16, 18 e/ou 45. Nenhuma das duas variantes de teste distingue qual o subtipo presente que causa infecção (3).

2. Objetivos

O presente estudo tem como objetivo avaliar o programa de rastreio organizado do cancro do colo do útero na população dos Açores, mais concretamente:

- Analisar a evolução da taxa de participação ao longo dos ciclos e avaliar a necessidade de apostar na sensibilização da população para adesão ao rastreio;
- Avaliar o impacto das alterações implementadas no quarto ciclo do rastreio, nomeadamente, a eficácia do uso do teste de HPV de mRNA enquanto teste de rastreio do CCU, a partir da análise dos seguintes parâmetros:
 - ✓ Taxa de aferição para avaliação histológica, tratamento e acompanhamento de mulheres com maior risco de desenvolver lesões cervicais;
 - ✓ Capacidade de identificar lesões precursoras, essencialmente lesões CIN2+;
 - ✓ Diagnóstico de neoplasia em estadios precoces;
 - ✓ Capacidade de selecionar de forma eficaz mulheres que apresentam baixo risco de doença.

3. Metodologia

A metodologia utilizada neste trabalho teve como base o tratamento estatístico dos dados referentes ao ROCCA, por forma a compreender o seu impacto na população e perspetivar os resultados do quarto ciclo de rastreio.

O estudo baseou-se na análise dos dados da primeira metade do quarto ciclo de rastreio do ROCCA e sua comparação com dados referentes aos três ciclos anteriores.

3.1. Consentimento e segurança dos dados

Foi submetido um pedido de consentimento, para acesso lícito aos dados do programa ROCCA e realização do estudo, à Comissão de Ética para a Saúde do Hospital do Divino Espírito Santo, que foi aprovado e igualmente aceite pelo Centro de Oncologia dos Açores.

Foi assegurada a anonimização dos dados pelo tratamento da informação associada a números de processo, sem relação direta com dados pessoais identificativos. Os dados pessoais foram tratados apenas pelos investigadores autorizados com armazenamento em arquivo intransmissível, contra sua perda, destruição ou tratamento ilícito, garantindo a confidencialidade e impedindo o acesso indevido aos dados tratados.

No estudo, foram ainda cumpridas as indicações para garantir o respeito pelo Regulamento Geral sobre a Proteção de Dados (UE) 2016/679 de 27 de abril, em relação à licitude, lealdade e transparência, limitação da finalidade do estudo, minimização dos dados, exatidão, limitação da conservação dos dados, integridade e confidencialidade dos dados pessoais, sendo os investigadores e responsáveis pelo estudo, os responsáveis pelo seu cumprimento.

3.2. População em estudo

No estudo, foram consideradas todas as mulheres incluídas na população-alvo elegível para rastreio, que foram convocadas e que participaram no programa ROCCA, nos períodos referentes a:

- Primeiro ciclo, de 2010 a 2013, num total de 24 032 mulheres;
- Segundo ciclo, de 2014 a 2016, num total de 24 572 mulheres;
- Terceiro ciclo, de 2017 a 2019, num total de 27 714 mulheres;
- Primeira metade do quarto ciclo, de janeiro de 2021 a junho de 2023, num total de 22 427 mulheres.

A população elegível para rastreio contempla todas as mulheres residentes na Região Autónoma dos Açores, assintomáticas, inscritas na lista de utentes das Unidades de Saúde de Ilha, com uma idade compreendida entre os 25 e 64 anos. Os critérios de exclusão temporários do programa foram: a presença de sinais e/ou sintomas de doença ginecológica; não ter iniciado atividade sexual; autoexclusão temporária; e incapacidade física ou mental temporariamente limitadora. Os critérios de exclusão definitiva foram: mulheres com cancro do colo do útero diagnosticado; mulheres submetidas a histerectomia total; autoexclusão definitiva; e incapacidade física ou mental definitivamente limitadora.

3.3. Métodos de recolha de informação

Foi realizada a consulta, tratamento e análise dos dados disponibilizados pelo Centro de Oncologia dos Açores e existentes na plataforma informática ROCCA. Foram também consultados os dados publicados no Manual executivo do ROCCA e nos relatórios de atividades existentes, relativos aos ciclos anteriores (55,58).

Os dados do quarto ciclo de rastreio foram obtidos através da utilização de fórmulas reconhecidas pela plataforma informática ROCCA e transferidos para o programa *Exce*[®] para o seu tratamento e análise.

3.4. Análise e tratamento dos dados

A análise estatística foi realizada pela análise descritiva dos dados e comparação entre ciclos de rastreio. Foi realizado o levantamento e tratamento dos dados referentes aos seguintes parâmetros em estudo, nomeadamente:

- Número de mulheres rastreadas (*n* total, por ilha e por ciclo)
- Taxa de participação das mulheres convocadas, através da aplicação da fórmula:

$$T_{pp} = \frac{N \text{ total mulheres rastreadas}}{N \text{ total mulheres rastreadáveis}} \times 100$$

- Taxa de adesão por ilha, através da aplicação da fórmula:

$$\text{Adesão por ilha} = \frac{N \text{ mulheres rastreadas por ilha}}{N \text{ mulheres rastreadáveis por ilha}} \times 100$$

- Taxa de aferição para consulta de patologia cervical, global e por ilha, através da aplicação da fórmula:

$$\text{Taxa de aferição} = \frac{N \text{ mulheres referenciadas para CPC}}{(N \text{ mulheres rastreadas} - N \text{ resultados inconclusivos})} \times 100$$

- Resultados citológicos, por tipo de resultado e por ciclo de rastreio, através da aplicação da fórmula:

$$\text{Taxa resultados citológicos} = \frac{N \text{ tipo de resultado citológico}}{N \text{ total citologias realizadas}} \times 100$$

- Relação dos resultados citopatológicos no total de mulheres rastreadas, por tipo de lesão e por ciclo de rastreio, através da aplicação da fórmula:

$$\text{Taxa resultados citopatológicos} = \frac{N \text{ tipo de resultado citopatológico}}{N \text{ total mulheres rastreadas}} \times 100$$

- Taxa de resultados insatisfatórios, por ciclo de rastreio, através da aplicação da fórmula:

$$\text{Taxa resultados insatisfatórios} = \frac{N \text{ repetições por resultado insatisfatório}}{N \text{ total mulheres rastreadas}} \times 100$$

- Taxa de resultados inconclusivos, por ciclo de rastreio, através da aplicação da fórmula:

$$\text{Taxa resultados inconclusivos} = \frac{N \text{ resultado inconclusivo, após repetição ou falta}}{N \text{ total mulheres rastreadas}} \times 100$$

- Resultados histológicos, por tipo de lesão e por ciclo de rastreio, através da aplicação da fórmula:

$$\text{Taxa resultados histológicos} = \frac{N \text{ tipo de resultado histológico}}{N \text{ total histologias realizadas}} \times 100$$

- Relação dos resultados histopatológicos CIN2/3+ e neoplasia maligna no total de mulheres rastreadas, por ciclo de rastreio, através da aplicação da fórmula:

$$\text{Taxa resultados CIN2/3 + e neoplasias malignas} = \frac{N \text{ CIN2/3 + e neoplasias malignas}}{N \text{ total mulheres rastreadas}} \times 100$$

3.5. Riscos associados

A obtenção/extração dos dados referentes ao quarto ciclo de rastreio está dependente do acesso à plataforma do ROCCA, por operadores com competência e nível de conhecimento informático específico. Desta forma, também os investigadores estão dependentes da disponibilização dos dados necessários e em tempo útil para a realização do trabalho, conforme projetado inicialmente.

Este fator é considerado uma limitação, que poderá influenciar o tipo e quantidade de dados tratados no projeto.

4. Resultados

De acordo com as orientações europeias, foi aprovada a partir do quarto ciclo do ROCCA, a alteração para o teste de HPV (*Aptima™ HPV Assay*) como ferramenta primária no rastreio do CCU, seguida de genotipagem nos casos positivos com recurso ao *kit Aptima™ HPV 16 18/45 Genotype Assay* (38). Foi programado o seu início para o segundo semestre de 2020, em que seria utilizado o primeiro semestre para executar diferentes ações necessárias à sua implementação, como aquisição e instalação de novos equipamentos, realização de alterações nas infraestruturas do laboratório, recrutamento de recursos humanos e conceção/adaptação da plataforma informática ROCCA. Por questões relacionadas com a pandemia COVID-19 não foi possível o cumprimento dos prazos propostos, sendo que o quarto ciclo teve início em 2021. O fim do ciclo será em 2025, englobando as mulheres elegíveis de 2020 a 2025.

A monitorização e a avaliação da eficiência do programa de rastreio implementado é feita com base na análise de diversos indicadores, como a taxa de participação no rastreio, resultados citopatológicos, resultados clínicos de seguimento e a taxa de resultados insatisfatórios, que permitem perceber quais os aspetos que podem ser melhorados a nível da comunicação com a população-alvo, ao nível da colheita, do procedimento técnico-laboratorial e do diagnóstico, assim como caracterizar a população em relação à patologia cervical.

4.1. Taxa de participação populacional

Relativamente ao número de mulheres rastreadas, verifica-se um aumento de 2,25% do primeiro para o segundo ciclo de rastreio e de 12,78% do segundo para o terceiro ciclo. Na primeira metade do quarto ciclo foram rastreadas 22 427 mulheres (Figura 4).

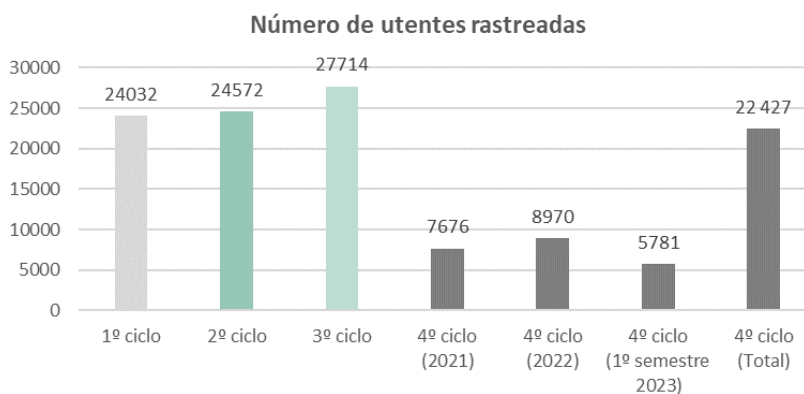


Figura 4. Representação gráfica do número de mulheres rastreadas por ciclo de rastreio.
Fonte: Manual executivo do ROCCA, Relatório de atividades 2021 do COA e Registo de atividade do COA (55,58).

A taxa de participação populacional (Tpp) corresponde ao número de mulheres da população-alvo com, pelo menos, um teste de rastreio realizado no período dos ciclos definidos.

Em programas de rastreio semelhantes, é habitual que a Tpp no primeiro ciclo seja inferior à Tpp de ciclos subsequentes. Com base no projeto inicial do ROCCA, a Tpp esperada para o primeiro ciclo era de 40%, e para o segundo e terceiro ciclo era de 55% (38,58).

Os resultados de Tpp registados foram de 41,86% no primeiro ciclo, 35,97% no segundo e de 43,24% no terceiro ciclo, abaixo do esperado. No primeiro ano do quarto ciclo (2021) a Tpp foi de 57,10%, no segundo ano (2022) foi de 66,58% e no primeiro semestre de 2023 foi de 85,93%, de acordo com a Figura 5. No global, a Tpp média do quarto ciclo de rastreio foi de 33,23%, correspondendo aos dados referentes às mulheres rastreadas na primeira metade do quarto ciclo em relação ao total de mulheres rastreáveis no ciclo completo, sendo que foram rastreadas mais de metade das mulheres rastreáveis (33,23 %), face aos 60% esperado para o total do ciclo.

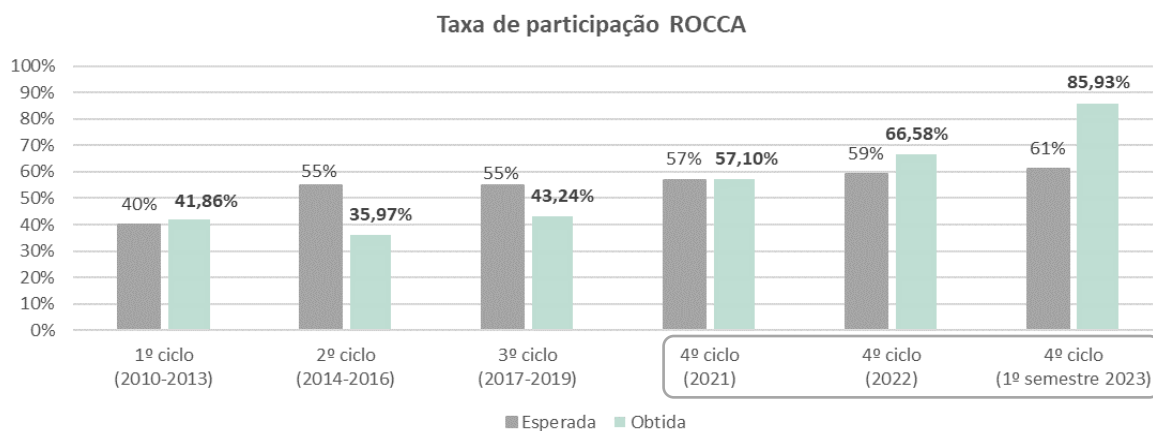


Figura 5. Representação gráfica da taxa de participação populacional do ROCCA.

Fonte: Manual executivo do ROCCA, Relatório de atividades 2021 do COA e Registo de atividade do COA (55,58).

A média da Tpp esperada na totalidade dos ciclos de rastreio foi de 53% e a obtida 38,57%.

4.2. Adesão por ilha

Como indicado na Figura 6, a Tpp varia de ilha para ilha, tendo-se registado, nos três primeiros ciclos, uma maior taxa de adesão na ilha de Santa Maria, seguida da ilha do Pico. As ilhas com mais população, São Miguel, Terceira e Faial, apresentaram menor adesão ao rastreio, sendo a ilha das Flores a que apresenta o valor mais baixo.

No quarto ciclo, observa-se que a ilha com maior taxa de adesão foi o Corvo, seguida da ilha de Santa Maria. As ilhas com menor adesão continuam a ser Terceira, Flores, Faial e São Miguel, esta última apresentando a taxa mais baixa do arquipélago (Figura 6).



Figura 6. Representação gráfica da taxa de adesão ao rastreio por ilha.

Fonte: Manual executivo do ROCCA, Relatório de atividades 2021 do COA e Registo de atividade do COA (55,58).

Como indicado na Tabela 2, o maior número de mulheres rastreadas verificou-se em São Miguel, em todos os ciclos de rastreio, seguindo-se a ilha Terceira. O Corvo, pelas suas características, foi onde foi rastreado menor número de mulheres, apesar de ter a taxa de adesão mais elevada.

Tabela 2. Número de mulheres rastreadas por ilha e por ciclo de rastreio.

Mulheres rastreadas									
	Corvo	Faial	Flores	Graciosa	Pico	Santa Maria	São Jorge	São Miguel	Terceira
1º ciclo	0	1632	266	618	2492	815	1148	11503	5558
2º ciclo	30	1427	213	627	2343	1039	982	12883	5028
3º ciclo	52	1670	231	505	1994	1038	1334	13872	7018
4º ciclo (2021-jun 2023)	78	1068	298	547	2183	927	1145	10357	5824

Não foram registadas diferenças significativas entre as taxas de aferição por ilha, sendo que a maior discrepância registada apresentou uma diferença de 2 pontos percentuais.

4.3. Indicadores de monitorização

O número de mulheres rastreadas por ano está dependente de limitações de recursos materiais e humanos, da gestão das convocatórias efetuadas, assim como da adesão ao programa de rastreio.

A taxa de aferição corresponde à percentagem de mulheres encaminhadas para consulta de patologia cervical após teste primário, que foi em média de 2,48% e manteve-se constante ao longo dos três primeiros ciclos. Na primeira metade do quarto ciclo, a taxa de aferição foi de 4,26%. Verificou-se o aumento do número absoluto de consultas no quarto ciclo (Tabela 3).

Tabela 3. Número e frequência de consultas de aferição por ciclo de rastreio.

	Consulta de aferição	Taxa de aferição
1º ciclo	619	2,58%
2º ciclo	602	2,45%
3º ciclo	667	2,41%
4º ciclo (2021-jun 2023)	954	4,26%

As ilhas com maior taxa de aferição para consulta de patologia cervical, na primeira metade do quarto ciclo, foram o Corvo e Terceira, com cerca de 5,2%, e as ilhas com menor taxa foram Graciosa e Pico com cerca de 2,7% (Tabela 4).

Tabela 4. Número e frequência de consultas de aferição por ilha.

	Consulta de aferição n (%)								
	Corvo	Faial	Flores	Graciosa	Pico	Santa Maria	São Jorge	São Miguel	Terceira
1º ciclo	0 (0,00)	53 (3,25)	9 (3,38)	18 (2,91)	47 (1,89)	21 (2,58)	34 (2,96)	276 (2,39)	161 (2,90)
2º ciclo	2 (6,67)	36 (2,54)	6 (2,83)	14 (2,25)	57 (2,43)	20 (1,93)	27 (2,75)	281 (2,19)	159 (3,17)
3º ciclo	1 (1,92)	48 (2,87)	14 (6,06)	7 (1,39)	39 (1,96)	10 (0,96)	40 (2,99)	315 (2,27)	193 (2,75)
4º ciclo (2021-jun 2023)	4 (5,12)	46 (4,31)	9 (3,02)	15 (2,74)	59 (2,70)	29 (3,13)	43 (3,76)	444 (4,29)	305 (5,24)

A taxa de deteção de lesões precursoras constitui um indicador capaz de avaliar a prevalência das lesões do colo do útero. Nos três primeiros ciclos, foi utilizada a citologia em meio líquido (*ThinPrep® Pap Test*) para a colheita das amostras cervicovaginais, num total de 77 688 amostras, referentes a 76 318 mulheres rastreadas. Os dados relativos a este período estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5. Indicadores citopatológicos nos primeiros três ciclos de rastreio.

	1º ciclo (2010-2013)	2º ciclo (2014-2016)	3º ciclo (2017-2019)	Total
Resultado citológico	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Negativo	23362 (97,21)	23933 (97,40)	26838 (96,84)	74133 (97,14)
ASC-US HPV+	7 (0,03)	20 (0,08)	74 (0,27)	101 (0,13)
ASC-US HPV-	51 (0,21)	37 (0,15)	210 (0,76)	298 (0,39)
ASC-H	10 (0,04)	2 (0,01)	18 (0,06)	30 (0,04)
LSIL	490 (2,04)	460 (1,87)	464 (1,67)	1414 (1,85)
HSIL	106 (0,44)	118 (0,48)	104 (0,38)	328 (0,43)
Outras*	6 (0,02)	2 (0,01)	6 (0,02)	14 (0,02)

Legenda: ASC-US: Células pavimentosas atípicas de significado indeterminado; ASC-H: Células pavimentosas atípicas que não excluem lesão de alto grau; LSIL: Lesão intraepitelial pavimentosa de baixo grau; HSIL: Lesão intraepitelial pavimentosa de alto grau; *Outros resultados citológicos não discriminados.

Com o decorrer dos três primeiros ciclos, verificou-se que existem ligeiras diferenças nos resultados citológicos atribuídos. A percentagem de resultados negativos manteve-se ao longo dos ciclos, assim como o número de casos com lesão intraepitelial pavimentosa de baixo grau (LSIL). Por sua vez, verifica-se um aumento no número de atipias detetadas (células pavimentosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US) /HPV+ e células pavimentosas atípicas que não excluem lesão de alto grau (ASC-H). Em todas as amostras com resultado citológico de ASC-US foi realizado o teste de HPV, sendo que 101 (0,13%) apresentaram resultado positivo (Tabela 5). No global, considerando os resultados citológicos negativos e os casos com ASC-US e HPV-, obteve-se um total de 97,42% no primeiro ciclo, 97,55% no segundo ciclo e 97,60% no terceiro ciclo de mulheres que não foram avaliadas em consultada de patologia cervical, tendo sido reencaminhadas para novo rastreio após 3 anos. A média dos três primeiros ciclos é de 97,53% (Tabela 5).

Com a implementação da nova metodologia no quarto ciclo foi registado um menor número de casos com resultado negativo (92,5%, n= 20737). Por sua vez, em 4,3% (n=954) dos casos

verificou-se teste positivo para a infeção pelo HPV 16 e/ou HPV 18/45; ou teste positivo para outros HPV-AR e citologia reflexa positiva, com encaminhamento para consulta de aferição. Além disso, 4,4% (n=1011) dos casos foram positivos para outros HPV-AR com citologia reflexa negativa e foram indicados para reavaliação de HPV após um ano (Figura 7).



Figura 7. Representação gráfica dos resultados do quarto ciclo de rastreio.
Fonte: Registo de atividade do COA.

Nos casos em que o resultado do teste de genotipagem de HPV foi positivo para outros subtipos de HPV-AR (que não HPV 16, 18 ou 45), foi realizada citologia reflexa, num total de 1567 citologias, sendo que 3,51% destas foram resultados insatisfatórios. De acordo com os dados da Tabela 6, do total de mulheres rastreadas, 1010 (4,50%) apresentou resultado negativo para lesão intraepitelial pavimentosa verificando-se o seu aumento ao longo do ciclo. Estes 4,5% de mulheres somam-se aos 92,5% de resultados negativos para HPV-AR que reintegram o rastreio. De entre as citologias realizadas, os casos com resultado de LSIL representaram 19,08% e de HSIL de 2,49%. Das atipias detetadas, 9,13% foram ASC-US e 1,34% foram ASC-H (Tabela 6).

Tabela 6. Indicadores citopatológicos na primeira metade do quarto ciclo de rastreio.

Resultado citológico	2021	2022	2023 (1º semestre)	Total
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Negativo	248 (52,10)	377 (66,02)	385 (74,04)	1010 (64,45)
ASC-US	50 (10,50)	48 (8,41)	45 (8,65)	143 (9,13)
ASC-H	10 (2,10)	7 (1,23)	4 (0,77)	21 (1,34)
LSIL	135 (28,36)	97 (16,99)	67 (12,88)	299 (19,08)
HSIL	17 (3,57)	18 (3,15)	4 (0,77)	39 (2,49)

Legenda: ASC-US: Células pavimentosas atípicas de significado indeterminado; ASC-H: Células pavimentosas atípicas que não excluem lesão de alto grau; LSIL: Lesão intraepitelial pavimentosa de baixo grau; HSIL: Lesão intraepitelial pavimentosa de alto grau.

Quando comparados os resultados dos quatro ciclos, verificou-se que os resultados do primeiro e segundo ciclo são semelhantes, e que existe um aumento no número de citologias negativas e de ASC-US no terceiro ciclo. Apesar de só estarem representados os resultados da primeira metade do quarto ciclo, verifica-se uma diminuição na percentagem de casos negativos, e um aumento de casos com atipia ou lesão, bastante significativa quer para LSIL, quer para HSIL, quando comparada com a média dos três ciclos anteriores. Além disso, importa salientar que estas citologias correspondem apenas a resultados HPV-AR, excluindo HPV 16 e HPV 18/45, pelo que o valor está subestimado face ao real (Figura 8).

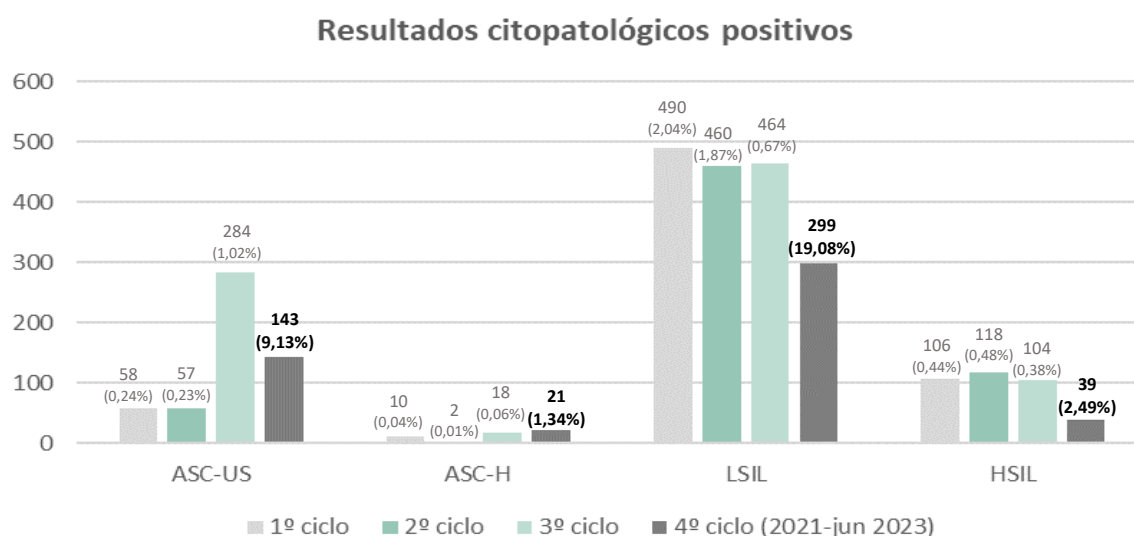


Figura 8. Representação gráfica da comparação de resultados citopatológicos positivos dos quatro ciclos de rastreio.

Fonte: Manual executivo do ROCCA, Relatório de atividades 2021 do COA e Registo de atividade do COA (55,58).

4.4. Qualidade da amostra

A qualidade da amostra é um indicador que reflete o desempenho da técnica de colheita, fixação, processamento e coloração da amostra e que poderá ter um grande impacto no resultado citológico. Resultados insatisfatórios são aqueles em que não foi possível obter diagnóstico numa primeira colheita, sendo necessário as mulheres realizarem a repetição do exame. A presença de artefactos, contaminantes, elementos de obscurecimento celular, como a presença de grande quantidade de sangue ou um intenso exsudado inflamatório, e a escassez de células epiteliais pavimentosas são fatores considerados para atribuição de um resultado insatisfatório (23).

Nos primeiros três ciclos do ROCCA, verificou-se uma taxa média de resultados insatisfatórios de 1,75% e na primeira metade do quarto ciclo, esta taxa foi de 0,32%, valor

significativamente mais baixo. Ao longo dos primeiros três ciclos, verificou-se que o número de novas colheitas por resultado insatisfatório aumentou substancialmente, registando-se, no terceiro ciclo, uma taxa de repetições três vezes superior à registada no primeiro ciclo, de acordo com os dados da Tabela 7.

Os resultados inconclusivos dizem respeito àqueles em que não foi possível a obtenção de diagnóstico, mesmo após repetição, ou os casos em que a mulher recusou ou não compareceu para repetição da colheita. No terceiro ciclo de rastreio registou-se um aumento de 145% de resultados inconclusivos, em comparação com o segundo ciclo. Na primeira metade do quarto ciclo verificou-se uma taxa de resultados inconclusivos de 0,07%, revelando-se significativamente mais baixa que nos ciclos anteriores (Tabela 7).

Tabela 7. Avaliação da qualidade da amostra.

	1º ciclo (2010–2013)	2º ciclo (2014–2016)	3º ciclo (2017–2019)	4º ciclo (2021–junho 2023)
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Resultados insatisfatórios	200 (0,83)	413 (1,69)	757 (2,73)	54 (0,32)
Resultados inconclusivos	SD	119 (0,48)	291 (1,05)	11 (0,07)
Total	200 (0,83)	532 (2,16)	1 048 (3,78)	65 (0,31)

Legenda: SD – sem dados

4.5. Indicadores clínicos e seguimento

O seguimento das pacientes é feito de acordo com as orientações do Consenso da Sociedade Portuguesa de Ginecologia, Secção Portuguesa de Colposcopia e Patologia Cervico-Vulvovaginal de 2010 (42). Perante um resultado citológico negativo ou de ASC-US com teste de HPV negativo, a mulher é orientada para reintegração no ROCCA. Uma mulher com resultado citológico de ASC-US/HPV+, ou de lesão intraepitelial pavimentosa, é referenciada para consulta de ginecologia/unidade de patologia cervical. Em consulta de aferição, todas as pacientes com alterações citológicas foram submetidas a colposcopia, com eventual biopsia ou outra intervenção dirigida.

Na primeira metade do quarto ciclo de rastreio foram avaliados em consulta de patologia cervical os casos em que o teste de HPV foi positivo para HPV 16 e/ou HPV 18/45 e os casos positivos para outros HPV-AR com citologia reflexa positiva, num total de 954. Destes casos

referenciados para consulta de aferição, à data, 326 ainda não realizaram consulta, 202 realizaram consulta, mas ainda não têm diagnóstico de aferição e verificaram-se 12 ausências, refletindo-se num total de 414 diagnósticos histológicos disponíveis para análise.

Na Tabela 8 estão registadas as frequências dos diagnósticos histológicos das amostras colhidas após avaliação em consulta, em todos os ciclos de rastreio. Verificou-se que, no primeiro semestre do quarto ciclo, a percentagem de mulheres com resultado negativo é superior, e com displasia leve é inferior. Por sua vez, a percentagem de mulheres com lesões de displasia moderada ou severa aumentou, mantendo-se semelhante aos ciclos anteriores a percentagem de casos com neoplasia maligna invasora (Tabela 8). É de salientar que 1,26% das mulheres faltou ou recusou consulta de aferição.

Tabela 8. Resultados histológicos de seguimento obtidos em consulta de aferição.

Diagnóstico	1º ciclo	2º ciclo	3º ciclo	4º ciclo
	(2010–2013)	(2014–2016)	(2017–2019)	(2021–junho 2023)
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Negativo	253 (40,87)	222 (36,88)	238 (35,68)	195 (47,10)
CIN1	230 (37,16)	217 (36,05)	286 (42,88)	107 (25,85)
CIN2/3	109 (17,61)	137 (22,76)	121 (18,14)	101 (24,40)
Carcinoma <i>in situ</i>	18 (2,91)	15 (2,49)	10 (1,45)	4 (0,97)
Adenocarcinoma <i>in situ</i>	1 (0,16)	0 (0,00)	1 (0,15)	0 (0,00)
Carcinoma invasivo	7 (1,13)	8 (1,33)	9 (1,35)	6 (1,45)
Adenocarcinoma invasivo	1 (0,16)	3 (0,50)	2 (0,30)	1 (0,24)
CIN2/3+ e neoplasias malignas	136 (21,97)	163 (27,08)	143 (21,44)	112 (27,05)

A correlação citohistológica permite determinar o VPP da citologia com base no número de casos de CIN2/3+ previamente identificados citologicamente. Os resultados dos três primeiros ciclos mostram uma correlação citohistológica relativamente baixa, com uma média de 66%. Ao longo dos três ciclos, foi registado um aumento de cerca de 10%, sendo o valor de 61,6% no primeiro, de 64,8% no segundo, e de 70,8% no terceiro ciclo.

As mulheres com resultado de lesão epitelial diagnosticada por biopsia foram submetidas a diferentes tipos de abordagem, em que a conização foi realizada como abordagem diagnóstica e/ou terapêutica em 33% dos casos no primeiro ciclo, 52% no segundo e, no

terceiro ciclo correspondeu a 35% do total de intervenções. Os resultados para o cálculo da correlação citohistológica e abordagem diagnóstica e/ou terapêutica das mulheres rastreadas no quarto ciclo não foram disponibilizados atempadamente.

Os dados recolhidos permitem verificar que, para um número substancialmente menor de citologias realizadas e um maior número de mulheres rastreadas por unidade de tempo, a percentagem de lesões CIN2/3+ ou situações neoplásicas malignas identificadas e confirmadas histologicamente em consulta de patologia cervical foi superior na primeira metade do quarto ciclo (27,05%), quando comparado com o primeiro e terceiro ciclo, e semelhante ao do segundo ciclo (Tabela 8). Por sua vez, os valores entre os quatro ciclos são semelhantes quando considerados os casos de CIN2/3+ ou situações neoplásicas, de entre o total de mulheres rastreadas: no primeiro ciclo verificou-se 0,57% (136/24 032); no segundo ciclo, 0,66% (163/24 572); no terceiro ciclo, 0,52% (143/27 714) e na primeira metade do quarto ciclo, 0,50% (112/22427). Desta forma, os dados revelam que as ferramentas introduzidas no rastreio ao nível do quarto ciclo são eficazes. Contudo, a totalidade dos dados do quarto ciclo é necessária para se poder verificar esta condição e validá-la estatisticamente.

5. Discussão

A avaliação e monitorização dos diferentes indicadores é fundamental para entender o estado atual do rastreio, antever resultados, assim como corrigir e intervir precocemente para a garantia do sucesso do programa.

Apesar do rastreio através da citologia ter contribuído para a diminuição substancial do risco de desenvolvimento do CCU em países desenvolvidos, esta é uma metodologia que, devido à baixa sensibilidade apresentada, pode requerer vários ciclos em períodos relativamente curtos, para uma triagem adequada das mulheres. Assim, em algumas regiões, a citologia pode revelar-se uma ferramenta pouco custo-efetiva que, aliada a uma organização pouco eficaz do programa de rastreio, com baixa taxa de cobertura, podem originar resultados subótimos (2,65).

De acordo com as recomendações europeias e internacionais, o teste primário recomendado é o teste molecular de HPV. No início do quarto ciclo de rastreio, procedeu-se à alteração da metodologia de rastreio do CCU nos Açores passando a ser utilizado o teste de *Aptima™ HPV Assay* como teste primário, seguido de genotipagem nos casos positivos com recurso ao *kit Aptima™ HPV 16 18/45 Genotype Assay* (38).

A taxa de participação de mulheres no ROCCA é baixa, com uma média de cerca de 40%, comparativamente à registada para o continente português (Tpp de 78%, em 2019) (46,66). Existem estudos que abordam os fatores associados à não-adesão ao rastreio do CCU em Portugal, verificando-se diferenças no que diz respeito à localização geográfica de residência, sendo os Açores apontados como umas das regiões de menor adesão (67). Existem vários fatores que influenciam o comportamento de adesão ao rastreio, nomeadamente os intrínsecos, como as crenças sobre a saúde e a doença, o medo da dor, a relação com a equipa de saúde e a motivação; e os extrínsecos, relacionados com as políticas de saúde e o contexto social das mulheres que recorrem aos cuidados de saúde no âmbito da saúde sexual e reprodutiva. São também fatores determinantes para a adesão o rendimento mensal, o grau de escolaridade, as redes de apoio social e a distância da unidade de rastreio e acessibilidade de transportes (68,69).

O aumento da Tpp nos primeiros anos do último ciclo de rastreio pode ser justificado pela maior consciencialização em relação à saúde num período subsequente à pandemia COVID-19, em que a procura e o acesso aos cuidados menos imediatos foram descurados (70). Um estudo realizado em Portugal em 2021, indica que a área clínica mais afetada pela pandemia

foi a dos rastreios oncológicos, sendo a sua recuperação uma política de saúde importante (71). Contudo, são necessários os dados da segunda metade do quarto ciclo para poder concluir acerca deste aumento da taxa de participação. Ainda assim, percebe-se no presente estudo o impacto do isolamento social causado pela referida pandemia no aumento substancial da percentagem de resultados inconclusivos (muitos deles motivados por falta da paciente à colheita de repetição) observada no terceiro ciclo do ROCCA.

Um aumento da literacia em saúde da população, principalmente dos benefícios do rastreio, poderá ser uma das medidas para uma maior adesão ao rastreio. Adicionalmente, uma sensibilização dos profissionais de saúde no sentido de incentivar as mulheres a participarem no programa como forma de promoção da saúde sexual e reprodutiva e a realização de mais ações de informação de proximidade com a população e com mais recurso aos meios de comunicação para uma maior abrangência podem ser estratégias eficazes para o aumento da Tpp. Outra medida que poderá contribuir para este aumento é agir no sentido de reduzir as desigualdades de acesso ao programa em grupos populacionais como utentes sem médico de família, migrantes, utentes não fluentes em língua portuguesa e utentes residentes em territórios rurais e/ou de maior privação socioeconómica (46,68).

O aconselhamento das mulheres à auto-colheita e o estabelecimento deste procedimento no rastreio poderá ser uma medida adicional para o aumento da adesão ao mesmo. A auto-colheita é uma prática cada vez mais aceite noutros países e apresenta alta fiabilidade para o rastreio de CCU com teste de HPV, favorecendo a adesão de mulheres de níveis socioeconómicos mais baixos, assim como mulheres mais jovens, migrantes ou com baixos níveis de escolaridade (17,49,67). Para perceber o potencial da auto-colheita na RAA, como estratégia para aumentar a Tpp, seria necessário aprofundar aspetos como a média de idade das mulheres que decidem não participar no rastreio e o motivo da decisão; perceber qual o grau de aceitação desta prática e se o contexto sociocultural é favorável.

A análise efetuada à taxa de adesão por ilha, permite perceber algumas discrepâncias, em particular nas ilhas da Terceira, Flores, Faial e São Miguel. Esta última ilha, apesar de ser a que apresenta maior densidade populacional, é onde a taxa de adesão é mais baixa. A baixa adesão é justificada pelo reduzido número de mulheres convocadas em relação às rastreáveis que, no quarto ciclo e nas ilhas com menor adesão, foi cerca de 39%, enquanto nas outras ilhas foi cerca de 76%. O número de mulheres convocadas inferior às elegíveis por ano reflete uma

oportunidade de melhoria ao nível da organização interna das unidades de saúde e expansão dos recursos humanos destacados para o programa.

As razões para a existência das desigualdades encontradas entre as diferentes áreas geográficas não são claras, podendo ser resultado das diferenças nas características da população das várias regiões e no acesso aos cuidados de saúde da mulher disponíveis em cada uma das ilhas. A diferença acentuada do número absoluto de mulheres rastreadas, por exemplo, quando comparadas a ilha do Corvo e São Miguel, deve-se à densidade populacional das mesmas que diferem em grande escala e é singular em cada uma das ilhas.

Até ao final do quarto ciclo, é expectável que continue a verificar-se uma adesão mais baixa nas ilhas com mais população e com mais recursos, contribuindo para isso o facto de uma parte da população poder optar por ser acompanhada nos serviços de saúde privados. Por outro lado, nas ilhas mais pequenas, existe uma relação de confiança e de proximidade com o médico de família e enfermeiros, maior comunicação e, conseqüentemente, maior comprometimento e adesão ao rastreio (69).

Em relação à taxa de aferição para consulta de patologia cervical verificou-se, apenas em metade do período do quarto ciclo de rastreio, o aumento desta taxa para o dobro em relação aos três primeiros ciclos. Este aumento era esperado, uma vez que, segundo a literatura consultada, o teste de HPV apresenta maior taxa de encaminhamento para consulta de aferição (72–75) devido à sua maior sensibilidade (75,76). Adicionalmente, o teste de HPV apresenta maior precisão, menor variabilidade e melhor reprodutibilidade, em comparação com a citologia, e VPN próximo dos 100%. Estas características permitem alargar o período de rastreio, rentabilizar recursos, aumentar o número de amostras analisadas e, conseqüentemente, o número de mulheres rastreadas, possibilitando um rastreio eficaz na prevenção de desenvolvimento de carcinoma invasivo (2,3,5,17,40,64,65).

Qualquer método de rastreio é avaliado segundo a sua validade, ou seja, confirmação do resultado por um procedimento de diagnóstico; pela sua fiabilidade, o teste deve ser altamente sensível; deve ser simples e rápido de realizar; deve ser aceitável e causar o mínimo de perturbação à pessoa. O método deve ser custo-efetivo, deve ser bem aceite pela população e devem ser garantidas as condições de seguimento necessárias ao acompanhamento e tratamento da doença (43).

Os métodos de rastreio como a citologia ou o teste de deteção de DNA do HPV, não são capazes de identificar quais as infeções que são persistentes nem prever o seu

comportamento biológico, resultando em sobretratamentos ou subtratamentos de lesões cervicais precursoras (77). Quando o teste de HPV é negativo, o resultado da citologia não acrescenta qualquer valor à definição de risco de CIN3+, reafirmando a validade do rastreamento com o teste de HPV e citologia reflexa e, um segundo co-teste negativo (citologia negativa ou teste de HPV negativo), num espaço de tempo médio de 2,9 meses, não altera o risco oncológico. Desta forma, é excluída a necessidade de rastreamento anual (40,42).

A presença de ácidos nucleicos de HPV (DNA) não implica a presença de displasia. A identificação dos elementos oncogénicos do HPV (RNA mensageiro/mRNA), que provocam a infeção persistente e transformação celular, é uma abordagem mais sensível na identificação das mulheres que devem ser acompanhadas (41,42,64,78).

A identificação de mRNA das oncoproteínas E6 e E7 do HPV como biomarcador no rastreamento do CCU torna mais precisa a metodologia de rastreamento, uma vez que a probabilidade de transformação neoplásica de lesões cervicais de baixo grau em que não é detetado mRNA HPV E6/E7 é muito baixa (3,77,78). A grande vantagem do teste *Aptima™ HPV Assay* é a maior taxa de correlação entre o resultado positivo do teste e o estadió das lesões cervicais, sendo de 89,4% para CIN2+, assim como maior VPP (3,64,79).

Uma desvantagem é a reação cruzada com os subtipos HPV 26, 67, 70 e 82, no entanto, não apresenta reação cruzada com outras cadeias de HPV ou microorganismos. Outra desvantagem é não ser possível a genotipagem do subtipo de HPV que é detetado (3,64).

No quarto ciclo do ROCCA, os resultados obtidos com o teste de HPV são semelhantes aos relatados na literatura, que indicam uma taxa de aferição de cerca de 4% para esta metodologia primária de rastreamento (72). A taxa de repetição a um ano com teste de HPV referida no estudo foi de 2,8%, que difere dos 4,4% registados no quarto ciclo do ROCCA (72). Contudo, no estudo referido, o teste de HPV realizado foi de DNA que pode ter resultados diferentes do teste de mRNA utilizado no ROCCA. Com a aplicação desta metodologia, verifica-se 92,5% de resultados negativos no teste de HPV-AR que, acrescido de 4,4% de mulheres com citologia reflexa negativa (96,9%) reflete um número semelhante de mulheres que retornam ao rastreamento sem necessidade de testes complementares adicionais, quando comparado com a média dos ciclos anteriores (97,5%).

Devido à alta taxa de regressão espontânea da infeção por HPV, é de grande importância fazer a seleção dos casos com maior probabilidade de progressão para doença invasiva. Neste sentido, o teste HPV mRNA apresenta uma maior especificidade em relação ao teste de DNA,

pois identifica as oncoproteínas E6/E7 do mRNA dos HPV-AR, envolvidas no processo carcinogénico, fornecendo mais informação sobre a atividade viral e estabelecendo uma melhor correlação com a gravidade das lesões, apresentando maior relevância clínica. A expressão persistente de mRNA das proteínas E6/E7 é um indicador de risco para a progressão de lesão intraepitelial para cancro invasivo (3,55,78).

A deteção de mRNA E6/E7 pode ser preditivo da progressão de uma lesão de baixo grau para lesão de alto grau, sendo que, no seguimento a um ano, uma lesão em que deixa de ser detetado mRNA E6/E7 tem grande probabilidade de regredir, enquanto se este for detetado, há maior probabilidade de progressão da lesão. Quanto maior o número de cópias de ácido nucleico detetado (quantidade de mRNA), mais severos são os achados citológicos e histológicos observados (3,41,77).

O teste de mRNA apresenta um VPN bastante elevado para mulheres com CIN2 ou CIN3, se os testes forem todos negativos, evitando procedimentos diagnósticos e terapêuticos desnecessários e agressivos. Desta forma, pode também ajudar a diminuir a ansiedade da mulher e o período de acompanhamento. Por outro lado, mulheres com teste de mRNA E6/E7 positivo apresentam maior risco de progressão neoplásica e devem ser sujeitas a cuidados e acompanhamento mais precoce (3,41), como é o caso da consulta da patologia cervical.

Uma desvantagem que o teste de HPV apresenta, por condicionar uma maior taxa de encaminhamento para consulta de aferição, são os custos com o acompanhamento de mais mulheres em consulta de patologia cervical. Além disso, está associado a um maior número de exames complementares realizados, possivelmente desnecessários, uma vez que se verifica que o método de HPV identifica por citologia mais atipias de significado indeterminado e menos lesões com maior probabilidade de evolução para carcinoma, quando comparado com os ciclos anteriores. É importante referir que, com a implementação do teste de HPV, só são avaliadas as citologias positivas para outros subtipos de HPV-AR, sendo que os casos positivos para HPV 16 e HPV 18/45 (subtipos mais oncogénicos) têm seguimento direto em consulta de patologia cervical, o que impossibilita a comparação com acuidade dos resultados das citologias dos dois métodos.

Relativamente aos indicadores citopatológicos registados nos três primeiros ciclos de rastreio, os dados revelam que o método de rastreio utilizado funcionou e que permitiu identificar uma proporção de lesões precursoras de acordo com o descrito na literatura (24). O *College of American Pathologists* (CAP) refere que em amostras de meio líquido, o resultado

de LSIL representa, em média, 2,9% e o de HSIL de 0,5% (24), sendo que, nos três primeiros ciclos do ROCCA, verificou-se que 1,85% dos resultados foram LSIL e 0,43% foram HSIL. No entanto, o número de ASC-US observado (0,52%) foi inferior ao reportado na literatura (24), podendo estes valores depender da subjetividade e variabilidade interobservador, associada ao método de citologia. A taxa de aferição pela citologia ficou abaixo da taxa de 3,8%, relatada num estudo de 2019 pelo mesmo método (74). Os valores registados na primeira metade do quarto ciclo de rastreio foram inferiores aos indicados na literatura (24).

Outro indicador importante da metodologia utilizada num teste de rastreio para o CCU é a qualidade da amostra. Uma amostra satisfatória não deve apresentar características como a presença de sangue, inflamação, ou substâncias lubrificantes em excesso, ou outras condições que impossibilitem a obtenção de diagnóstico (24). Neste contexto, alguns lubrificantes que contêm Poliquatérnio 15, assim como alguns agentes antifúngicos que contêm tioconazole utilizados pela mulher ou no procedimento da colheita, podem interferir com os resultados da metodologia de teste de HPV utilizada (3,64).

A taxa de resultados insatisfatórios está relacionada com a qualidade do procedimento de colheita e/ou processamento técnico-laboratorial da amostra, devendo estes ser corrigidos para evitar quer os custos associados, quer o transtorno e ansiedade para a mulher decorrentes de uma repetição de colheita. A taxa média de resultados insatisfatórios dos três ciclos foi 1,8%, valor que é superior aos 1,1% reportados pelo CAP (80). Nos primeiros anos do quarto ciclo registou-se uma taxa de resultados insatisfatórios de 0,3%, semelhante ao relatado na literatura, em que é esperado que a taxa de resultados insatisfatórios com o teste de HPV diminua de 1,6% para 0,1%, quando comparado com a citologia (73).

A análise dos indicadores clínicos e de seguimento mostra que o número de lesões identificadas histologicamente não variou significativamente no decorrer dos três primeiros ciclos de rastreio. À medida que os ciclos aumentam, é expectável que o número de CIN2/3, carcinoma *in situ*, carcinoma e adenocarcinoma invasores diminua. Dada a baixa taxa de adesão ao ROCCA registada nos três primeiros ciclos, não foi possível perceber esse efeito.

A correlação citohistológica calculada para os primeiros três ciclos do rastreio mostra que a citologia apresenta um valor VPP entre os 60% e os 70%. Estes valores estão de acordo com o que se encontra descrito na literatura (17,42) e revelam que com a citologia foi possível identificar mais de metade da população de rastreio do ROCCA para intervenção precoce e acompanhamento adequado, evitando a possível progressão para CCU.

A citologia inicial define o risco de progressão para CIN3 associado ao diagnóstico histológico de CIN1. Quando uma lesão CIN1 é diagnosticada após citologia ASC-US ou LSIL, o risco de CIN3+ ao fim de 5 anos é de 3,8%; por sua vez, quando a lesão de CIN1 é diagnosticada após citologia HSIL, o risco a 5 anos de CIN3+ aumenta para 15%. Desta forma, o resultado da citologia inicial vai condicionar o plano terapêutico das lesões CIN1 (81).

Com base nos resultados de quatro grandes estudos europeus de rastreio com teste de HPV (47) seria expectável, no final do quarto ciclo de rastreio o aumento da taxa de deteção de achados relevantes, como a presença de CIN2/3+ e de carcinoma cervical invasivo, assim como o aumento da taxa de deteção de achados menos relevantes, como CIN1 ou inferior. Este aumento também é justificado pelo maior número de encaminhamentos para consulta de patologia cervical associada ao método de HPV (72–75). No entanto, no presente estudo verifica-se o aumento proporcional de casos de CIN2/3+, apesar de haver uma diminuição dos casos de CIN1, na primeira metade do quarto ciclo. Possivelmente, a triagem dos casos HPV-AR negativos é a principal causa da diminuição significativa do número de CIN1.

A deteção da presença do vírus com base na expressão de mRNA revela-se uma tecnologia custo-efetiva e com maior especificidade (3,55). No entanto, são necessários mais estudos para entender as limitações do mRNA como biomarcador na carcinogénese do CCU. Pode ser difícil prever a produção e viabilidade da oncoproteína a partir do mRNA, uma vez que podem existir microRNA (miRNA) e endonucleases capazes de destruir ou bloquear o mRNA sem nunca chegar a haver expressão do gene. Os miRNA têm origem endógena e são transcritos pela RNA polimerase II a partir de transcritos não codificantes ou a partir de intrões localizados em genes codificantes. Existem cerca de 800 miRNA diferentes no humano (3% de todos os genes). Estes funcionam como reguladores de diferentes processos celulares, como a apoptose e progressão do ciclo celular, e podem degradar os transcritos de mRNA alvo e/ou inibir a sua tradução em proteína (32,34,82).

Por outro lado, os miRNA apresentam características que os indicam como potenciais biomarcadores de diagnóstico no desenvolvimento e progressão do cancro e como alvos terapêuticos para o tratamento de CCU, uma vez que vários miRNA mostraram ter expressão diferencial no cancro cervical e em amostras normais (32,82). Vários miRNA têm a capacidade de retardar o crescimento celular e induzir a apoptose em células infetadas por HPV (34). O escasso uso dos miRNA como biomarcador deve-se à dificuldade na determinação do valor clínico do miRNA identificado (32).

A principal limitação do estudo realizado foi apenas existir dados referentes a metade (2,5 anos) do quarto ciclo com metodologia HPV mRNA. Estudos futuros, incluindo dados de todo o ciclo de rastreio, devem fornecer mais informação e melhor entendimento da eficácia do ROCCA e da metodologia adotada.

A difícil comparabilidade dos resultados citológicos entre ciclos devido a diferentes metodologias, a inexistência de dados detalhados para todos os parâmetros que se pretendia analisar neste trabalho, assim como a disponibilização tardia dos dados referentes ao período estudado, foram outras limitações encontradas.

Em estudos futuros seria importante a revisão dos resultados e conclusões incluindo os dados do quarto ciclo completo e até ciclos subsequentes. Acrescentaria valor a análise da correlação citohistológica decorrente dos resultados do teste de HPV mRNA, assim como avaliar os resultados com estratificação por faixa etária.

6. Conclusão

O conhecimento decorrente do estudo da eficácia, abrangência e intervenção do rastreio é de inquestionável importância para a população açoriana, pois a redução da incidência e da mortalidade por CCU só é possível pela adoção de medidas de prevenção adequadas.

No decorrer do quarto ciclo do programa ROCCA foi rastreada mais de metade da população dos Açores elegível para rastreio, o que contribuiu significativamente para a prevenção do desenvolvimento de cancro cervical na região. A partir da análise dos dados com a aplicação da metodologia de mRNA *Aptima™ HPV Assay*, verifica-se um aumento da taxa de participação populacional, um número semelhante de resultados negativos para reavaliação no ciclo seguinte, uma diminuição de amostras insatisfatórias e uma taxa de aferição mais elevada, quando comparado com a metodologia anteriormente utilizada.

Os dados do presente estudo permitem verificar que as ferramentas introduzidas no quarto ciclo do rastreio são eficazes. Para um número substancialmente menor de citologias realizadas, verificou-se uma maior abrangência e um maior número de mulheres rastreadas por unidade de tempo, com uma percentagem mais elevada de lesões CIN2/3+ ou neoplasias malignas identificadas e confirmadas histologicamente em consulta de patologia cervical.

No global, com as alterações implementadas no início do quarto ciclo do ROCCA, perspectiva-se um menor número de intervenções desnecessárias que podem ter repercussões para a mulher a nível psicológico, familiar e social, assim como na sua fertilidade, com conseqüente diminuição de custos para o sistema de saúde.

Referências Bibliográficas

1. World Health Organization. Cervical cancer [Internet]. 2022 [cited 2023 Jan 27]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cervical-cancer>
2. Bhatla N, Aoki D, Sharma DN, Sankaranarayanan R. Cancer of the cervix uteri: 2021 update. *Int J Gynecol Obstet.* 2021;155(S1):28–44. doi: 10.1002/ijgo.13865.
3. Derby A, Mekonnen D, Woldeamanuel Y, Van Ostade X, Abebe T. HPV E6/E7 mRNA test for the detection of high grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN2+): a systematic review. *Infect Agent Cancer.* 2020;15(9):1–10. doi: 10.1186/S13027-020-0278–X.
4. Peirson L, Fitzpatrick–Lewis D, Ciliska D, Warren R. Screening for cervical cancer: a systematic review and meta–analysis. *Syst Rev.* 2013;2(35):1–14. doi: 10.1186/2046-4053-2–35.
5. Maver PJ, Poljak M. Primary HPV–based cervical cancer screening in Europe: implementation status, challenges, and future plans. *Clin Microbiol Infect.* 2020:579–583. doi: 10.1016/j.cmi.2019.09.006.
6. Simms KT, Steinberg J, Caruana M, Smith MA, Lew J Bin, Soerjomataram I, et al. Impact of scaled up human papillomavirus vaccination and cervical screening and the potential for global elimination of cervical cancer in 181 countries, 2020–99: a modelling study. *Lancet Oncol.* 2019;20(3):394–407. doi: 10.1016/S1470-2045(18)30836-2.
7. Sociedade Portuguesa de Ginecologia – Secção de Genecologia Oncológica. Cancro Ginecológico Consensos Nacionais 2020 [Internet]. 2020 [cited 2023 Jan 27]. Available from: <https://spginecologia.pt/wp-content/uploads/2021/07/spg-consenso-nacional-cancro-ginecologico-2020.pdf>
8. IARC Globocan 2020. Europe [Internet]. 2021 [cited 2023 Jan 27]. Available from: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/908-europe-fact-sheets.pdf>
9. IARC Globocan 2020. Portugal [Internet]. 2021 [cited 2023 Jan 27]. Available from: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/620-portugal-fact-sheets.pdf>
10. Pal A, Kundu R. Human Papillomavirus E6 and E7: The Cervical Cancer Hallmarks and Targets for Therapy. *Front Microbiol.* 2020;10:1–15. doi: 10.3389/fmicb.2019.03116.

11. IARC World Health Organization. WHO Classification of Tumours Female Genital Tumours. 5^a edition. Vol. 8. 2020. p. 335–389.
12. Governo dos Açores e Centro de Oncologia dos Açores Prof. Doutor José Conde. Registo Oncológico dos Açores – 20 anos [Internet]. 2018 [cited 2023 Feb 27]. Available from: <https://portal.azores.gov.pt/documents/37454/7fb62e42-8796-3671-fc53-db623c609969>
13. Instituto Português de Oncologia do Porto. RON Registo Oncológico Nacional de Todos os Tumores na População Residente em Portugal, em 2019 [Internet]. 2022 [cited 2023 Feb 17]. Available from: <https://ron.min-saude.pt/pt/biblioteca/publicacoes-ron/ron-2019/>
14. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209–249. doi: 10.3322/CAAC.21660.
15. Armaroli P, Villain P, Suonio E, Almonte M, Anttila A, Atkin WS, et al. European Code against Cancer, 4th Edition: Cancer screening. *Cancer Epidemiol.* 2015;39:139–152. doi: 10.1016/j.canep.2015.10.021.
16. Eun TJ, Perkins RB. Screening for Cervical Cancer. *Med Clin North Am.* 2020;104(6):1063–1078. doi: 10.1016/J.MCNA.2020.08.006.
17. Bedell SL, Goldstein LS, Goldstein AR, Goldstein AT. Cervical Cancer Screening: Past, Present, and Future. *Sex Med Rev.* 2020;28–37. doi: 10.1016/j.sxmr.2019.09.005.
18. Meijer CJLM, Berkhof J, Castle PE, Hesselink AT, Franco EL, Ronco G, et al. Guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for primary cervical cancer screening in women 30 years and older. *Int J Cancer.* 2009;124(3):516–520. doi: 10.1002/ijc.24010.
19. de Sanjosé S, Brotons M, Pavón MA. The natural history of human papillomavirus infection. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2018;47:2–13. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2017.08.015.
20. Gupta S, Kumar P, Das BC. HPV: Molecular pathways and targets. *Curr Probl Cancer.* 2018;42(2):161–174. doi:10.1016/j.currprobcancer.2018.03.003.
21. Burd EM. Human Papillomavirus and Cervical Cancer. *Clin Microbiol Rev.* 2003 Jan;16(1):1–17. doi: 10.1128/CMR.16.1.1–17.2003.

22. Alves AR, Fernando R, Moutinho JA. Rastreamento do Câncer do Colo do Útero: O Paradigma Atual [Internet]. [Covilhã]: Universidade da Beira Interior; 2020 [cited 2023 Feb 21]. Available from: https://ubibliorum.ubi.pt/bitstream/10400.6/10672/1/7489_15957.pdf
23. Pangarkar MA. The Bethesda System for reporting cervical cytology. *Cytojournal*. 2022;19:28. doi: 10.25259/CMAS_03_07_2021.
24. Nayar R, Wilbur DC. *The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology*. 3rd edition. Springer; 2015. p. 103–190.
25. Darragh TM, Colgan TJ, Thomas Cox J, Heller DS, Henry MR, Luff RD, et al. The lower anogenital squamous terminology standardization project for HPV-associated lesions: background and consensus recommendations from the college of american pathologists and the american society for colposcopy and cervical pathology. *Arch Pathol Lab Med*. 2012;136(10):1266–1297. doi: 10.5858/arpa.LGT200570.
26. Volkova L V., Pashov AI, Omelchuk NN. Cervical carcinoma: Oncobiology and biomarkers. *Int J Mol Sci*. 2021;22:12571. doi: 10.3390/ijms222212571.
27. Joura EA, Ault KA, Bosch FX, Brown D, Cuzick J, Ferris D, et al. Attribution of 12 high-risk human papillomavirus genotypes to infection and cervical disease. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2014;23(10):1997–2008. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-14-0410.
28. Revathidevi S, Murugan AK, Nakaoka H, Inoue I, Munirajan AK. APOBEC: A molecular driver in cervical cancer pathogenesis. *Cancer Lett*. 2021;496:104–116. doi: 10.1016/j.canlet.2020.10.004.
29. Balasubramaniam SD, Balakrishnan V, Oon CE, Kaur G. Key molecular events in cervical cancer development. *Medicina (B Aires)*. 2019;55:384. doi: 10.3390/medicina55070384.
30. Bzhalava D, Eklund C, Dillner J. International standardization and classification of human papillomavirus types. *Virology*. 2015;476:341–344. doi: 10.1016/J.VIROL.2014.12.028.
31. Hologic®. Aptima™ HPV assay. Manual AW-14517-601 Rev. 003.
32. Han MS, Lee JM, Kim SN, Kim JH, Kim HS. Human Papillomavirus 16 Oncoproteins Downregulate the Expression of miR-148a-3p, miR-190a-5p, and miR-199b-5p in Cervical Cancer. *Biomed Res Int*. 2018:1–9. doi: 10.1155/2018/1942867.

33. Scarth JA, Patterson MR, Morgan EL, Macdonald A. The human papillomavirus oncoproteins: A review of the host pathways targeted on the road to transformation. *J Gen Virol.* 2021;102:1–28. doi: 10.1099/JGV.0.001540.
34. Martínez-Noël G, Szajner P, Kramer RE, Boyland KA, Sheikh A, Smith JA, et al. Identification of MicroRNAs That Stabilize p53 in Human Papillomavirus-Positive Cancer Cells. *J Virol.* 2022;96(4):1–18. doi: 10.1128/jvi.01865–21.
35. Hochmann J, Ferreira S, Sobrinho JS, Sichero L. Papel cooperativo de c-MYC e E6/E7 de duas variantes moleculares do Papilomavírus Humano tipo 16 na proliferação e transformação in vitro de queratinócitos humanos primários. *Rev Med (Rio J).* 2019;98(1):52–58. doi: 10.11606/ISSN.1679-9836.V98I1P53–59.
36. Liu X, Disbrow GL, Yuan H, Tomaić V, Schlegel R. Myc and Human Papillomavirus Type 16 E7 Genes Cooperate To immortalize Human Keratinocytes. *J Virol.* 2007;81(22):12689–12695. doi: 10.1128/JVI.00669–07.
37. Burk RD, Chen Z, Saller C, Tarvin K, Carvalho AL, Scapulatempo-Neto C, et al. Integrated genomic and molecular characterization of cervical cancer. *Nature.* 2017;543:378–400. doi: 10.1038/NATURE21386.
38. Centro de Oncologia dos Açores Prof. Doutor José Conde. Manual executivo do ROCCA. Governo do Açores e Centro de Oncologia dos Açores Prof. Doutor José Conde. 2010.
39. Screening for cervical cancer. *CA Cancer J Clin* [Internet]. 2020 [cited 2022 Oct 9];70(5):347–8. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/caac.21629>
40. Arbyn M, Simon M, Peeters E, Xu L, Meijer CJLM, Berkhof J, et al. 2020 list of human papillomavirus assays suitable for primary cervical cancer screening. *Clin Microbiol Infect.* 2021;1083–1095. doi: 10.1016/j.cmi.2021.04.031.
41. Li A, Li J, Austin RM, Wang T, Ashman D, Zhang H, et al. Aptima HPV messenger RNA testing and histopathologic follow-up in women with HSIL cytology: A study emphasizing additional review of HPV-negative cases. *Cancer Cytopathol.* 2021;129(8):622–631. doi: 10.1002/cncy.22421.
42. Sociedade Portuguesa de Ginecologia – Secção Portuguesa de Colposcopia e Patologia Cervico-vulvovaginal. Consenso sobre infecção por HPV e neoplasia intraepitelial do colo do útero vulva e vagina 2014 [Internet]. 2014 [cited 2023 Jul 14]. p. 13–20.

- Available from: <https://spginecologia.pt/wp-content/uploads/2021/07/spg-consenso-sobre-infeccao-hpv-2014.pdf>
43. Wilson JMG, Jungner G. Principles and Practice of Screening for Disease. 1st ed. Vol. 34. Geneva: World Health Organization; 1968. p. 26–34.
 44. Direção-Geral da Saúde, Programa Nacional para as Doenças Oncológicas. Avaliação e Monitorização dos Rastreios Oncológicos Organizados de Base Populacional 2021. Lisboa; 2022.
 45. Moreira MI. Programas de Rastreio Oncológico em Portugal [Internet]. [Porto]: Universidade do Porto; 2022 [cited 2023 Feb 25]. Available from: <https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/141790/2/568864.pdf>
 46. Ministério da Saúde, Direção-Geral da Saúde. Estratégia Nacional de Luta contra o Cancro 2021-2030 [Internet]. 2022 [cited 2023 Feb 18]. Available from: <https://www.dgs.pt/documentos-em-discussao-publica/estrategia-nacional-de-luta-contra-o-cancro-2021-2030-entra-em-consulta-publica.aspx>
 47. Ronco G, Dillner J, Elfström KM, Tunesi S, Snijders PJF, Arbyn M, et al. Efficacy of HPV-based screening for prevention of invasive cervical cancer: Follow-up of four European randomised controlled trials. *The Lancet*. 2014;383(9916):524-532. doi: 10.1016/S0140-6736(13)62218-7.
 48. Cuzick J, Clavel C, Petry KU, Meijer CJLM, Hoyer H, Ratnam S, et al. Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *Int J Cancer*. 2006;119(5):1095-1101. doi: 10.1002/IJC.21955.
 49. Amorim R, Moutinho JAFM. Auto-colheita do teste do HPV como método de rastreio do cancro do colo do útero [Internet]. [Covilhã]: Universidade da Beira Interior; 2020 [cited 2022 Oct 29]. Available from: https://ubibliorum.ubi.pt/bitstream/10400.6/10776/1/7361_15740.pdf
 50. Tatar O, Haward B, Zhu P, Griffin-Mathieu G, Perez S, McBride E, et al. Understanding the Challenges of HPV-Based Cervical Screening: Development and Validation of HPV Testing and Self-Sampling Attitudes and Beliefs Scales. *Curr Oncol*. 2023;30(1):1206-1219. doi: 10.3390/CURRONCOL30010093/S1.
 51. Polman NJ, Ebisch RMF, Heideman DAM, Melchers WJG, Bekkers RLM, Molijn AC, et al. Performance of human papillomavirus testing on self-collected versus clinician-collected samples for the detection of cervical intraepithelial neoplasia of grade 2 or

- worse: a randomised, paired screen-positive, non-inferiority trial. *Lancet Oncol.* 2019;20(2):229–238. doi: 10.1016/S1470-2045(18)30763-0.
52. Polman NJ, de Haan Y, Veldhuijzen NJ, Heideman DAM, de Vet HCW, Meijer CJLM, et al. Experience with HPV self-sampling and clinician-based sampling in women attending routine cervical screening in the Netherlands. *Prev Med (Baltim).* 2019;125:5–11. doi: 10.1016/J.YPMED.2019.04.025.
 53. Fontham ETH, Wolf AMD, Church TR, Etzioni R, Flowers CR, Herzig A, et al. Cervical cancer screening for individuals at average risk: 2020 guideline update from the American Cancer Society. *CA Cancer J Clin.* 2020;70(5):321–346. doi: 10.3322/caac.21628.
 54. Schiffman M, Kinney WK, Cheung LC, Gage JC, Fetterman B, Poitras NE, et al. Relative Performance of HPV and Cytology Components of Cotesting in Cervical Screening. *J Natl Cancer Inst.* 2018;110(5):501–508. doi: 10.1093/JNCI/DJX225.
 55. Centro de Oncologia dos Açores Prof. Doutor José Conde. Governo do Açores e Centro de Oncologia dos Açores Prof. Doutor José Conde [Internet]. 2021 [cited 2023 Jan 27]. Manual executivo do ROCCA. Available from: <https://portal.azores.gov.pt/documents/37454/e442fca9-ea40-3525-d21f-11f16d357376>
 56. von Karsa L, Arbyn M, De Vuyst H, Dillner J, Dillner L, Franceschi S, et al. European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening. Summary of the supplements on HPV screening and vaccination. *Papillomavirus Research.* 2015;1:22–31. doi: 10.1016/J.PVR.2015.06.006.
 57. Arbyn M, Anttila A, Jordan J, Ronco G, Schenck U, Segnan N, et al. European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Cancer Screening. Second Edition—Summary Document. *Ann Oncol.* 2010;21(3):448–458. doi: 10.1093/ANNONC/MDP471.
 58. Centro de Oncologia Prof. Doutor José Conde. Relatório de Atividades 2021 [Internet]. 2022 [cited 2023 Jan 27]. Available from: <https://portal.azores.gov.pt/documents/37454/deb301cf-e881-3390-9175-ed4777b7ff11>
 59. El-Zein M, Richardson L, Franco EL. Cervical Cancer Screening of HPV Vaccinated Populations: Cytology, Molecular Testing, Both or None. *J Clin Virol.* 2016;76(1):S62–S68. doi: 10.1016/J.JCV.2015.11.020.
 60. Secretaria Regional da Saúde e Desporto, Jornal Oficial da Região Autónoma dos Açores nº 49 I série. Despacho nº 508/2021 de 11 de março 2021 [Internet]. 2021 [cited 2023

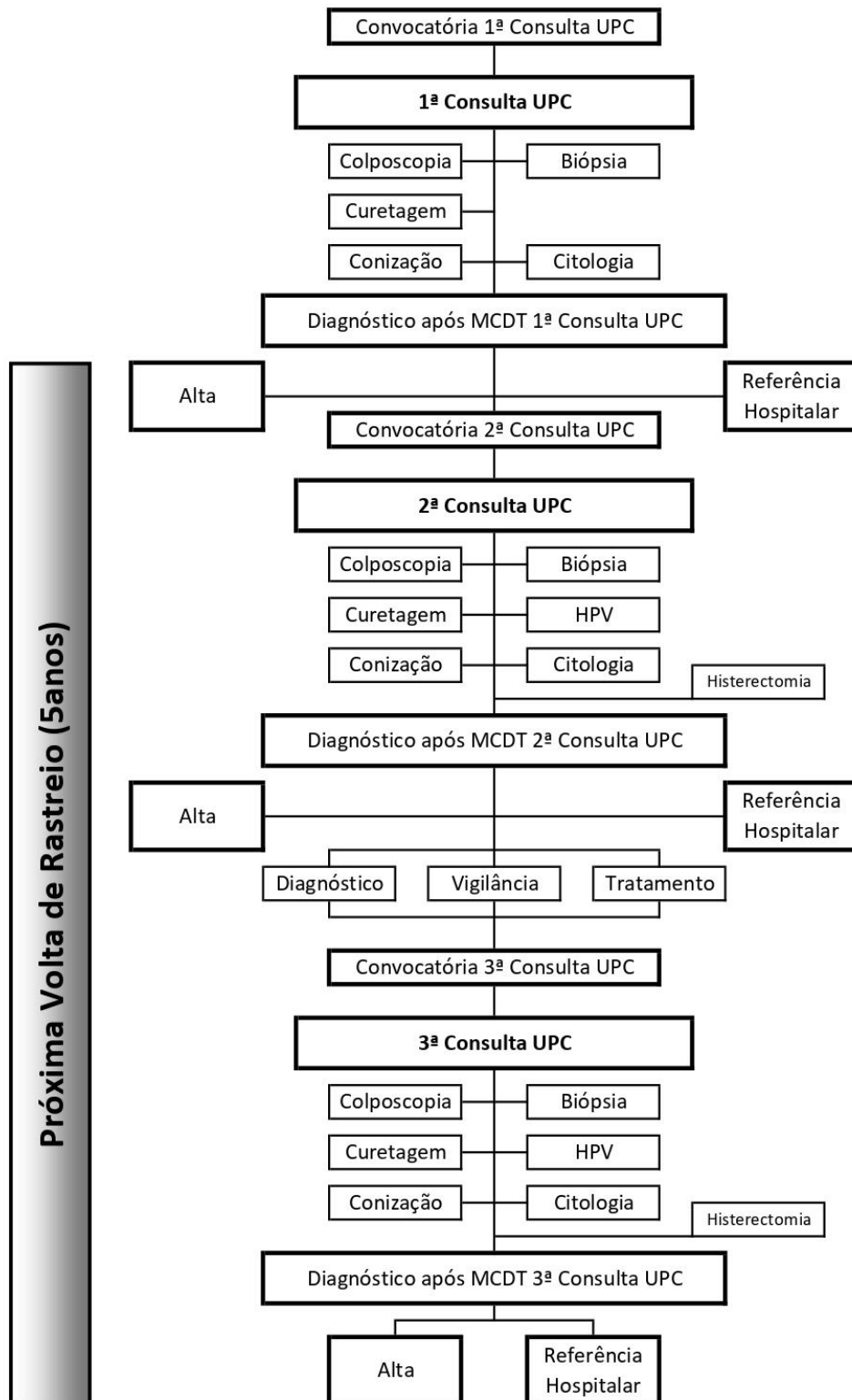
- Jan 28]. Available from: <https://jo.azores.gov.pt/api/public/ato/8961a8c3-f811-4d67-988b-8c261970e7cb/pdfOriginal>
61. Diário da República. Diário da República n.º 183/2017, Série II de 2017-09-21 [Internet]. 2017 [cited 2023 Feb 18]. p. 20788–9 Despacho n.º 8254/2017, de 21 de setembro. Available from: <https://dre.pt/dre/detalhe/despacho/8254-2017-108189401>
 62. Direção Regional da Saúde Região Autónoma dos Açores. Protocolo de colaboração único. Programa organizado de rastreio do cancro do colo do útero nos Açores (ROCCA). 2019.
 63. Sitarz K, Szostek S. Food and drug administration – approved molecular methods for detecting human papillomavirus infection. *Ginekol Pol.* 2019;90(2):104–108. doi: 10.5603/GP.2019.0018.
 64. Haedicke J, Iftner T. A review of the clinical performance of the Aptima HPV assay. *J Clin Virol.* 2016;76:S40–S48. doi: 10.1016/j.jcv.2015.10.027.
 65. Banerjee D, Mittal S, Mandal R, Basu P. Screening technologies for cervical cancer: Overview. *Cytojournal.* 2022;23. doi: 10.25259/CMAS_03_04_2021.
 66. Serviço Nacional de Saúde. Direção-Geral da Saúde, Programa Nacional para as Doenças Oncológicas. Avaliação e Monitorização dos Rastreamentos Oncológicos Organizados de Base Populacional 2019/2020 [Internet]. 2021 [cited 2023 Feb 10]. Available from: <https://www.ffms.pt/sites/default/files/2022-07/i028766.pdf>
 67. Nunes MF. Fatores associados à não-adesão ao rastreio do cancro do colo do útero em Portugal: análise dos dados do inquérito Nacional de Saúde de 2014 [Internet]. [Lisboa]: Universidade Nova de Lisboa; 2019 [cited 2023 Feb 18]. Available from: <https://run.unl.pt/handle/10362/91475>
 68. Ferreira M, Ferreira S, Ferreira N, Andrade J, Duarte J. Adesão ao Rastreio do Cancro do Colo do Útero e da Mama da Mulher portuguesa [Internet]. [Viseu]: Instituto Politécnico de Viseu; 2014 [cited 2023 Feb 22]. Available from: <https://repositorio.ipv.pt/bitstream/10400.19/2615/1/8.pdf>
 69. Ramos J. Adesão ao rastreio do cancro do colo do útero: papel da empatia do Médico de Família [Internet]. [Coimbra]: Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra; 2017 [cited 2023 Feb 18]. Available from: <https://estudogeral.uc.pt/bitstream/10316/81852/1/tese%20submetida%2bcapa.pdf>

70. Entidade Reguladora da Saúde. Impacto da pandemia COVID-19 no Sistema de Saúde [Internet]. 2020 [cited 2023 Aug 6]. Available from: <https://www.ers.pt/media/3487/im-impacto-covid-19.pdf>
71. Coelho F. Impacto da Pandemia COVID-19 no Acesso aos Cuidados de Saúde e Retoma da Atividade Assistencial Pré-Pandémica – A Visão dos Profissionais de Saúde. [Porto]: Universidade do Porto; 2021.
72. Thomsen LT, Kjær SK, Munk C, Ørnskov D, Waldstrøm M. Benefits and potential harms of human papillomavirus (HPV)-based cervical cancer screening: A real-world comparison of HPV testing versus cytology. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2021;100(3):394–402. doi: 10.1111/AOGS.14121.
73. Aitken CA, Van Agt HME, Siebers AG, Van Kemenade FJ, Niesters HGM, Melchers WJG, et al. Introduction of primary screening using high-risk HPV DNA detection in the Dutch cervical cancer screening programme: a population-based cohort study. *BMC Med.* 2019;17(1):228. doi: 10.1186/S12916-019-1460-0-019-1460-0.
74. Rebolj M, Rimmer J, Denton K, Tidy J, Mathews C, Ellis K, et al. Primary cervical screening with high risk human papillomavirus testing: observational study. *The BMJ.* 2019;364:1240. doi: 10.1136/BMJ.L240.
75. Ogilvie GS, Kraiden M, van Niekerk D, Smith LW, Cook D, Ceballos K, et al. HPV for cervical cancer screening (HPV FOCAL): Complete Round 1 results of a randomized trial comparing HPV-based primary screening to liquid-based cytology for cervical cancer. *Int J Cancer.* 2017;140(2):440–448. doi: 10.1002/IJC.30454.
76. Koliopoulos G, Nyaga VN, Santesso N, Bryant A, Martin-Hirsch PPL, Mustafa RA, et al. Cytology versus HPV testing for cervical cancer screening in the general population. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017;(8):1–28. doi: 10.1002/14651858.CD008587.PUB2.
77. Cao L, He P, Yang J, Long X, Chen Y, Yan L, et al. Predictive Value of HPV E6/E7 mRNA Detection on the Outcome of Cervical LSIL. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2022;1–6. doi: 10.1155/2022/8747919.
78. Sharma B, Lakhanpal V, Singh K, Oberoi L, Bedi PK, Devi P. Evaluation of HPV E6/E7 mRNA Detection in Clinically Suspected Cases of Cervical Cancer with Abnormal Cytology: Time to Upgrade the Screening Protocols. *J Lab Physicians.* 2022:336–342. doi: 10.1055/s-0042-1748919.

79. Cook DA, Smith LW, Law J, Mei W, van Niekerk DJ, Ceballos K, et al. Aptima HPV Assay versus Hybrid Capture® 2 HPV test for primary cervical cancer screening in the HPV FOCAL trial. *J Clin Virol.* 2017;87:23–29. doi: 10.1016/j.jcv.2016.12.004.
80. Moriarty AT, Clayton AC, Zaleski S, Henry MR, Schwartz MR, Eversole GM, et al. Unsatisfactory Reporting Rates: 2006 Practices of Participants in the College of American Pathologists Interlaboratory Comparison Program in Gynecologic Cytology. *Arch Pathol Lab Med.* 2009;133(12):1912–1916. doi: 10.5858/133.12.1912.
81. Katki HA, Schiffman M, Castle PE, Fetterman B, Poitras NE, Lorey T, et al. Follow-up testing post-colposcopy: Five-year risk of CIN2+ after a colposcopic diagnosis of CIN1 or less. *J Low Genit Tract Dis.* 2013;17(501):S69–S77. doi: 10.1097/LGT.0B013E31828543B1.
82. Liu Z, Mao L, Wang L, Zhang H, Hu X. MiR-218 functions as a tumor suppressor gene in cervical cancer. *Mol Med Rep.* 2020;21(1):209–219. doi: 10.3892/mmr.2019.10809.

Anexo II

Metodologia de acompanhamento após referência hospital para estudo de patologia cervical.



Fonte: Manual executivo do ROCCA. 2021 (38).