

Alteraciones en citologías cervicales almacenadas en un medio ambiente húmedo: Causa potencial de falsos negativos

Patricia Ortega-González,^{*,**} Margarita S. González-Bravo,^{*,**}
Gustavo Jiménez-Muñoz-Ledo,^{**} Alejandro E. Macías^{**,***}

* Hospital General Regional de León, Secretaría de Salud.

** Facultad de Medicina de León, Universidad de Guanajuato.

*** Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

Abnormalities in cervical smears stored in plastic bags: Potential cause of false negatives

ABSTRACT

Introduction. Cervical smear is the most economic and efficient diagnostic tool for the screening of cervical cancer. However, since plastic bags have been used in Guanajuato to transport and store smears, we have observed cytological abnormalities which difficult the diagnosis and lead to false negatives. **Objective.** To describe those abnormalities. **Methods.** Out of 340 women registered in a primary care center in Mexico, 68 were selected through systematic random sampling during 2007. A cervical smear was obtained and placed on two slides. The first sample was allowed to dry, but the second one was placed into the plastic bag immediately after fixation. After 15 days all the smears were stained with the Papanicolaou technique. A certified pathologist, blinded about the variable of study, interpreted the samples according to the Bethesda system, and evaluated the presence of necrosis, edema, holes, and opportunistic microorganisms. **Results.** Of the 68 smears exposed to a humid storage, 36 (53%) were inadequate for diagnosis (Fisher's exact probability < 0.001). From them, 36 (53%) had holes or lagoons, 34 (50%) had edema, 31 (46%) had necrosis, and 15 (22%) had fungus. On the other hand, the 68 dried cervical smears were all adequate for diagnosis and none had the changes or cytological abnormalities. **Conclusion.** The humid transport and storage of cervical smears produced abnormalities in the normal morphology that could lead to false negative results. The guideline for the handling of cervical smears must stress the importance of allowing the smears to dry completely after fixation and before storing them in plastic bags.

Key words. Cervical smear. Cervical cancer. Humidity. Handling of smear. Procedure guidelines.

RESUMEN

Introducción. La citología cervical ha demostrado ser la herramienta más útil y económica para el tamizaje del cáncer cervicouterino. Desde que se implementó el uso de bolsas de plástico en Guanajuato como medio de transporte de las citologías cervicales observamos alteraciones citológicas. **Objetivo.** Describir las alteraciones en las muestras almacenadas en bolsas de plástico. **Material y métodos.** De las 340 usuarias registradas de un centro de salud se incluyeron 68 mediante muestreo sistemático aleatorio. La muestra obtenida de la citología cervical, se extendió en dos laminillas. La primera se dejó secar y la segunda se introdujo en una bolsa de plástico inmediatamente después de la fijación sin secado. Después de 15 días las muestras fueron interpretadas según el sistema Bethesda por un citopatólogo certificado, cegado a la variable de estudio. Los criterios a evaluar fueron necrosis, edema, lagunas y presencia de microorganismos oportunistas. **Resultados.** Todas las citologías cervicales sin riesgo de humedad (68) fueron adecuadas para diagnóstico y no presentaron cambios citológicos por almacenamiento. En contraste, la mitad (36, 53%) de las 68 citologías con riesgo de humedad fueron inadecuadas para diagnóstico (probabilidad exacta de Fisher < 0.001), específicamente por presentar lagunas (36, 53%), edema (34, 50%), necrosis (31, 46%) y hongos (15, 22%). **Conclusión.** La humedad en el transporte provoca alteraciones en la morfología de las citologías cervicales y puede ocasionar falsos negativos. Los manuales de procedimientos para la toma de citologías cervicales deben enfatizar la importancia de secar adecuadamente las muestras antes de transportarlas en bolsas.

Palabras clave. Citología cervical. Cáncer cervicouterino. Medio de transporte. Humedad. Manuales de procedimientos.

INTRODUCCIÓN

La citología cervical ha demostrado ser la herramienta diagnóstica más eficiente y barata para el tamizaje del carcinoma cervical. Sin embargo, se requiere de un alto nivel de educación y entrenamiento de cada uno de los elementos que participan en el proceso,^{1,2} principalmente el profesional de la salud que obtiene los especímenes y los citotecnólogos que hacen la interpretación, así como los colposcopistas que participan en la complementación diagnóstica y el tratamiento.³

En el Programa de Prevención y Control de Carcinoma Cervicouterino (PPCCaCu) del estado de Guanajuato, las citologías inadecuadas representaron 3% (7,165) de 242,342 citologías cervicales revisadas durante 2007.⁴ A pesar de este porcentaje tan bajo, existe evidencia de que las citologías inadecuadas provienen con más frecuencia de pacientes de alto riesgo y un número significativo de ellas presentarán una lesión intraepitelial o un carcinoma.⁵ Las citologías se consideran inadecuadas por causas muy variables, muchas de ellas se relacionan con problemas en la técnica de la toma de la muestra, como ausencia de componente de la zona de transformación, presencia de sangre o inflamación. No existe información en la literatura de que el medio de transporte, al mantener la humedad del espécimen, sea causante de alteraciones importantes en la morfología de las células. Sin embargo, es importante estudiar esta variable ya que las citologías en nuestro Estado pueden llegar a permanecer en los medios de transporte hasta 21 días antes de la revisión citológica. Cabe mencionar que la Secretaría de Salud en Guanajuato no cuenta con contenedores especiales para las citologías. De hecho, en el manual de procedimientos para la toma de la muestra de citología cervical que publica la Secretaría de Salud se menciona que "... se puede colocar la laminilla con la muestra en una cartera, bolsa de papel, plástico o envolverla con papel estraza...".⁶ Sin embargo, desde que se implementó el uso de bolsas de plástico como medio de transporte en Guanajuato, los citopatólogos han informado de forma anecdótica hallazgos como edema, necrosis, lagunas (también llamadas hoyos o espacios vacíos) y colonización por hongos oportunistas, que dificultan el diagnóstico y originan falsos negativos.

OBJETIVO

Determinar si las citologías cervicales que permanecen en un medio ambiente húmedo, al no permitir

el secado completo antes de introducirlas en bolsas de plástico, presentan con mayor frecuencia edema, necrosis, lagunas y colonización por hongos oportunistas, en comparación con muestras que se transportan completamente secas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio experimental cegado en una muestra aleatoria de mujeres que acudieron a una unidad urbana de atención primaria de enero a junio de 2007. El Centro de Salud Peñitas en León, es parte de la Secretaría de Salud del Estado de Guanajuato y atiende predominantemente a mujeres de bajos recursos y con bajo nivel escolar. El estudio fue aprobado por el Comité de Investigación y Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Guanajuato.

Se calculó un tamaño de muestra de 68 pacientes, considerando una potencia de 80% ($\beta = 0.20$), significancia de 95% ($\alpha = 0.05$) y una diferencia mínima entre los grupos de 10% (considerando como basal 3% de citologías inadecuadas en 2007) (Primer of Biostatistics. McGraw Hill 2002; v. 5.0). De las 340 usuarias registradas del centro de salud, se incluyeron por muestreo aleatorio sistemático (en el cual se selecciona cada k elemento)⁷ a 68 pacientes que acudieron a la toma rutinaria de la citología cervical. Al iniciar el periodo de estudio se seleccionó a la primera paciente del estudio al azar tirando en un dado un número del 1 al 5, (para indicar el número de paciente en que se iniciaría). A partir de entonces, siguiendo el orden consecutivo de la consulta y hasta completar el tamaño de muestra, fue incluida cada quinta paciente que acudiera a la toma rutinaria de citología cervical.

La toma de la muestra la realizó el médico pasante de servicio social (el mismo durante todo el estudio), después de obtener el consentimiento informado de la paciente. La muestra se obtuvo con la técnica que indica el Manual de Procedimientos para la Toma de la Muestra de Citología Cervical.⁶ Cada muestra se colocó en dos laminillas diferentes. La primera se fijó y se dejó secar por completo y la segunda se introdujo en la bolsa de plástico inmediatamente después de la fijación sin haberse secado. Después de 15 días las muestras se tiñeron en el Laboratorio de Citopatología del Hospital General Regional de León con la técnica de Papanicolaou descrita en el Manual de Procedimientos del Laboratorio de Citología.⁸ Las muestras fueron evaluadas de forma cegada por un citopatólogo certificado. Las citologías cervicales se consideraron como inadecua-

Cuadro 1. Hallazgos citológicos presentados en las citologías cervicales transportadas secas o con riesgo de humedad.

Hallazgos citológicos	Citología cervical seca	Citología cervical con riesgo de humedad	PEF*
Edema	0	34 (50%)	< 0.001
Necrosis	0	31 (46%)	< 0.001
Lagunas	0	36 (53%)	< 0.001
Filamentos levaduriformes	0	15 (22%)	< 0.001
Total	68	68 (100%)	

PEF*: Probabilidad exacta de Fisher.

das si en más de 75% de la laminilla se encontraba: edema, necrosis, espacios vacíos u hongos oportunistas.

Se calcularon porcentajes con sus intervalos de confianza a 95% y se calculó la prueba exacta de Fisher para valorar la significancia de la diferencia entre proporciones. Un valor de $p < 0.05$ se consideró significativo.

RESULTADOS

De las 68 citologías cervicales transportadas sin riesgo de humedad (secas), 100% fueron adecuadas para diagnóstico. En ellas se diagnosticaron cambios celulares reactivos asociados a inflamación en 65 muestras (96%) y atrofia en tres (4%). En contraste, de las 68 citologías transportadas con riesgo de humedad, 36 (53%) fueron inadecuadas para diagnóstico (probabilidad exacta de Fisher: < 0.001), 31 (46%) se diagnosticaron como cambios celulares reactivos asociados a inflamación y una (1%) como atrofia.

Las muestras transportadas con riesgo de hume-

dad mostraron específicamente lagunas o espacios vacíos en 36 muestras (53%), edema en 34 (50%), necrosis en 31 (46%) y hongos oportunistas en 15 (22%) (Cuadro 1). De las muestras con hongos, once presentaron *Aspergillus* (73.3%), dos *Candida* (13.3%) y dos, otros hongos filamentosos (13.3%). Las figuras 1 y 2 muestran las alteraciones correspondientes.

DISCUSIÓN

Los resultados de nuestro estudio son contundentes. La mitad de las citologías cervicales que permanecen húmedas por 15 días en bolsas de plástico pueden mostrar edema, necrosis, espacios vacíos y/o algunos hongos oportunistas, aumentando la probabilidad de diagnósticos falsos negativos.

Según lo estipulado por el PPCCaCu de la Secretaría de Salud,⁹ se necesita detectar 4% de lesiones intraepiteliales en 80% de cobertura de la población en riesgo para lograr impactar en la mortalidad de las mujeres por cáncer del cuello uterino. Una



Figura 1. Presencia de hifas de hongo filamentosos en muestra transportada con riesgo de humedad.

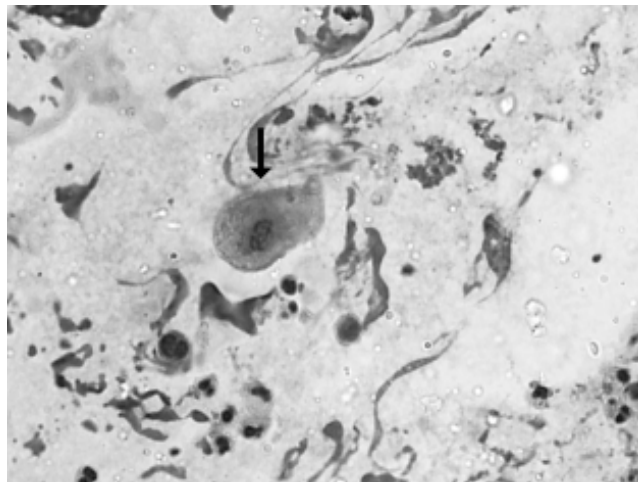


Figura 2. Edema de la célula epitelial en muestra transportada con riesgo de humedad.

muestra inadecuada para diagnóstico es uno de los factores responsables por lo que no se llega a esta cifra.

En la Jurisdicción Sanitaria No. VIII del Estado de Guanajuato durante 2005 se tenía un alto porcentaje de muestras inadecuadas (6.5%). Se capacitó a las personas encargadas de tomar la muestra mediante “la toma inteligente” que consistió en:

- Realizar una toma de acuerdo con los hallazgos en el cuello del útero.
- Elaborar adecuadamente el frotis.
- Fijar con citospray dejando secar totalmente la muestra.

Esta capacitación intensiva y personalizada se vio reflejada al disminuir el porcentaje de muestras inadecuadas hasta 0.85% en 2006, lo que permitió diagnosticar más del doble de casos con lesiones intraepiteliales y cáncer del cuello uterino. Durante el mismo año también se realizó un estudio piloto en la misma jurisdicción donde se fijaron 22,000 casos con spray y 22,000 casos con alcohol; no hubo diferencia entre el número de casos positivos diagnosticados lo que demostró que el medio de fijación no es responsable del número de casos diagnosticados con lesiones intraepiteliales (Datos del PPCCaCu de Guanajuato).

Desconocemos la cantidad exacta de muestras con alteraciones debidas a la humedad en nuestro laboratorio, pero el porcentaje de muestras inadecuadas fue de 3 % durante 2007. Esta cifra significa que al año 7,165 mujeres (o más si aumenta el número absoluto de muestras) pierdan una oportunidad para el diagnóstico oportuno del cáncer, además de los gastos que representa para el PPCCaCu. En este estudio más de la mitad de las muestras con riesgo de humedad fueron inadecuadas para diagnóstico lo que demuestra la importancia de evitarla.

Existen numerosos estudios acerca de los contaminantes que pueden afectar la calidad de la muestra,¹⁰⁻¹² pero hasta el momento no conocemos alguno que hable sobre los efectos de la humedad en las citologías cervicales. En el presente estudio se decidió almacenar durante 15 días las citologías cervicales, ya que es el tiempo que regularmente tardan en llegar las muestras al laboratorio de referencia para su procesamiento.

Consideramos que el estudio tiene como limitante haberse realizado en un solo centro de salud, con tan sólo 15 días de almacenaje de las citologías cervicales. Será importante realizar estudios en diferentes centros de atención primaria, con diferentes

tiempos de almacenamiento y determinar el impacto en la salud pública.

Es importante mencionar que el Manual de Procedimientos para la Toma de la Muestra de Citología Cervical,⁶ sólo menciona los materiales en los que se puede guardar la muestra (cartera, bolsa de papel, plástico o papel estraza), sin especificar las condiciones de esta parte del procedimiento. Los resultados del estudio hacen indispensable mencionar específicamente en el Manual y en la literatura médica de que la citología cervical debe colocarse totalmente seca en los contenedores para transporte, especialmente si se utilizan bolsas de plástico para ello.

Finalmente, cada parte del proceso en la citología cervical es un delicado eslabón en una cadena de eventos que busca disminuir la mortalidad por cáncer cervicouterino. Un detalle que puede parecer insignificante, como es permitir que la muestra seque completamente después de fijarla y que puede tomar apenas 5 min, contribuye a que todos los demás esfuerzos culminen exitosos en una prueba adecuada de tamizaje contra el cáncer y la prevención de muertes innecesarias. Asegurar la calidad de la muestra permite optimizar los contactos de los servicios de salud con pacientes de bajos o escasos recursos, que pueden no estar concientes de la necesidad de repetir un estudio de tamizaje con la regularidad adecuada.

REFERENCIAS

1. Lara E, Day EN, Hakama M. Trends in mortality from cervical cancer in the Nordic countries: Association with organized screening programs. *Lancet* 1987; 20: 1247-9.
2. Virtej P, Vasiliu C. Cytodiagnosis in cervical neoplasia: from the Babes/Papanicolaou smear to the Acta Bethesda System. *Clin Exp Obstet Gynecol* 2003; 30: 173-7.
3. Lazcano-Ponce E, Alonso P, Ruiz-Moreno JA, Hernández-Avila M. Recommendations for cervical cancer screening programs in developing countries. The need for equity and technological development. *Salud Pública de Mex* 2003; 45: 449-62.
4. Secretaría de Salud. Sistema Nacional de Información del Cáncer de la Mujer. Programa de prevención y control de cáncer cérvico-uterino. Indicadores, Productividad de citotecnólogo. Disponible en: <http://sicam-cacu.salud.gob.mx> [Acceso el 18 de agosto 2009].
5. Randsell IS, Davey DD, Zaleski S. Clinicopathologic correlation of the unsatisfactory Papanicolaou smear. *Cancer* 1997; 81: 139-43.
6. Loustalot LM., Espinosa RR, Blas RI, Vite PG, Jerezano de la Rosa O. Manual de Procedimientos para la toma de la muestra de citología cervical. Secretaría de Salud 2000. 10-22.
7. Dawson-Saunders B, Trapp RG. Probability, sampling and probability distributions. In: Basic and clinical biostatistics. Dawson-Saunders B, Trapp RG. Connecticut USA: Appleton & Lange; 1990: 64-81.

8. Organización Panamericana de la Salud. Manual de procedimientos del laboratorio de citología. Washington DC: OPS; 2002.
9. NOM-014-SSA2-1994. Norma Oficial Mexicana para la prevención, tratamiento y control del cáncer del cuello uterino y de mama 2007.
10. Martínez-Girón R, Ribas-Barceló A, García-Miralles MT, López-Cabanilles D, Tamargo Pelaez ML, Torre-Bayón C, Fernández-Alvarez L. Airborne fungal spores, pollen grains, and vegetable cells in routine Papanicolaou smears. *Diagn Cytopathol* 2004; 30: 381-5.
11. Hoda RS, Colello Ch, Roddy M, Houser PM. "Fruiting Body" of *Aspergillus* Species in a Routine Cerviño-Vaginal Smear (Pap Test). *Diagn Cytopathol* 2005; 33: 244-5.
12. Van Hoesen KH, Bertolini PK. Prevalence. Identification and significance of fiber contaminants in cervical smears. *Act Cytol* 1996; 40: 489-95.

Reimpresos:

Patricia Ortega-González

20 de enero No. 929

Col. Obregón

37320, AP. Postal 3/10 León, Gto., México.

Tel. y Fax: (477) 714-5859 y (477) 714 6377

Correo electrónico: patyortegagonz@hotmail.com

Recibido el 15 de septiembre 2009.

Aceptado el 8 de noviembre 2010.