



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU

JESSICA ALINE TOMELIN DE CURSI

**“AVALIAÇÃO DA ACURÁCIA DA PUNÇÃO ASPIRATIVA POR AGULHA
FINA NO DIAGNÓSTICO DE LESÕES MAMÁRIAS PEQUENAS ($\leq 1,0\text{CM}$)”**

Dissertação apresentada à Faculdade
de Medicina Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Câmpus de Botucatu, para obtenção
do título de Mestre em Patologia.

Orientadora: Dra. Mariângela Esther Alencar Marques

Co-orientador: Dr. Cleverson Teixeira Soares

Botucatu

2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU

JESSICA ALINE TOMELIN DE CURSI

**“AVALIAÇÃO DA ACURÁCIA DA PUNÇÃO ASPIRATIVA POR AGULHA
FINA NO DIAGNÓSTICO DE LESÕES MAMÁRIAS PEQUENAS ($\leq 1,0\text{CM}$)”**

Dissertação apresentada à Faculdade
de Medicina Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Câmpus de Botucatu, para obtenção
do título de Mestre em Patologia.

Orientadora: Dra. Mariângela Esther Alencar Marques

Co-orientador: Dr. Cleverson Teixeira Soares

Botucatu

2020

C977a	Cursi, Jessica Aline Tomelin de Avaliação da acurácia da punção aspirativa por agulha fina no diagnóstico de lesões mamárias pequenas (1,0cm) / Jessica Aline Tomelin de Cursi. -- Botucatu, 2020 48 p. : tabs., fotos Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina, Botucatu Orientadora: Mariângela Esther Alencar Marques Coorientador: Cleverson Teixeira Soares 1. Citologia. 2. Lesões mamárias. 3. Biópsia. 4. Confiabilidade dos Dados. I. Título.
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Medicina, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Agradecimientos

Agradecimentos:

Aos meus pais, que são minha base, pela compreensão, incentivo e apoio em meus estudos e em minha profissão.

A minha orientadora, Dra. Mariângela Marques e, ao meu Co-orientador, Dr. Cleverson Teixeira Soares, sem os quais não seria possível a pesquisa e redação do presente trabalho.

Agradeço, também, as pacientes, diretamente responsáveis pelo aprendizado e resultados obtidos neste material.

E a toda equipe do laboratório ANATOMED, os quais me permitiram a utilização do material e me apoiaram na realização do presente estudo.

Epígrafe

“Ser homem é ser responsável. É sentir que colabora na construção do mundo.”

Antoine de Saint-Exupéry

Resumo

Resumo

O câncer de mama é um importante problema de saúde pública em todo o mundo. Neoplasias mamárias pequenas e em estágio inicial apresentam melhores índices prognósticos e preditivos quando comparadas às lesões maiores e em estágio mais avançado. Na literatura, alguns estudos recomendam que os diagnósticos de lesões mamárias pequenas ou suspeitas para malignidade devam ser realizados através de exame histopatológico (“core biopsy” ou exérese), sendo a Punção Aspirativa por Agulha Fina (PAAF) mais bem indicada para lesões provavelmente benignas e palpáveis. O objetivo do presente estudo foi avaliar a acurácia da PAAF no diagnóstico de lesões mamárias pequenas. Foram revisados todos laudos anatomopatológicos referentes às PAAFs realizadas em um serviço de patologia privado e comunitário, entre 1 de janeiro de 2000 a 31 dezembro de 2019 (n= 24.721). As lesões $\leq 1,0$ cm (n=8334) foram incluídas para avaliação e classificadas conforme a recomendação da Academia Internacional de Citologia nas seguintes categorias: (1) Insuficiente; (2) Benigno; (3) Atípico, provavelmente benigno; (4) Atípico, suspeito para malignidade e (5) Maligno. Posteriormente, os resultados das PAAFs foram comparados aos dos respectivos exames histopatológicos (n=785). Os resultados obtidos foram: especificidade (99,6%), sensibilidade (97,4%), valor preditivo positivo (99,6%), valor preditivo negativo (97,6%) e acurácia (98,5%). Os resultados demonstram que a PAAF é um método confiável no diagnóstico de lesões mamárias pequenas ($\leq 1,0$ cm).

Palavras-chave: Neoplasia de mama, biópsia, citologia, confiabilidade dos dados.

Abstract

Abstract

Background: Breast cancer is a major public health problem worldwide. Small breast lesions or those suspicious for malignancy have been recommended to be evaluated via histopathological examination (“core biopsy” or surgical specimens), with fine-needle aspiration cytology (FNAC) indicated to be better for lesions that are probably benign and palpable. This study aimed to assess the accuracy of FNAC for the diagnosis of small breast lesions.

Methods: All anatomopathological reports of FNACs collected between January 1, 2000 and December 31, 2019 (n=24,721) in a private community pathology service. We reviewed lesions smaller than 1.0 cm (≤ 1.0 cm) (n=8,334) were included for evaluation and classified according to the recommendation of the International Academy of Cytology in the following categories: (1) insufficient; (2) benign; (3) atypical, probably benign; (4) atypical, suspicious for malignancy; and (5) malignant. Subsequently, the results of the FNACs were compared to those respective histopathological exams (n=785).

Results: FNAC had a specificity of 99.6%; sensitivity, 97.4%; positive predictive value, 99.6%; negative predictive value, 97.6%; and accuracy, 98.5%.

Conclusions: FNAC is a reliable method for diagnosing small breast lesions (≤ 1.0 cm).

Keywords: Breast neoplasm, biopsy, cytology, data accuracy.

Sumário

Sumário

Capítulo I – Revisão da Literatura

1.0. Epidemiologia	13
2.0. Rastreio do Câncer de Mama	13
3.0. Diagnóstico do Câncer de Mama	14
3.1. Biópsia por Agulha Grossa	14
3.2. Punção Aspirativa por Agulha Fina	15
3.2.1. Técnica da Punção Aspirativa por Agulha Fina.....	15
3.2.2. Benefícios	18
3.2.3. Desvantagens	19
3.2.4. Classificação	19
3.3. Exames complementares	23
3.3.1. Imunocitoquímica	23
3.3.2. Biologia Molecular	23
4.0 Objetivo	24
5.0 Justificativa	24
Referências Bibliográficas	25

Capítulo II

Artigo Científico	29
Conclusão	48

Capítulo I: Revisão da Literatura

Revisão da Literatura

1. Epidemiologia

O câncer de mama é a neoplasia maligna mais frequente entre mulheres no Mundo, depois de neoplasias malignas de pele não melanoma. Segundo estudo realizado pela Agência Internacional da Pesquisa em Câncer (IARC), em 2018 a incidência no mundo foi de 46,3%, enquanto a taxa de mortalidade foi de 13%, sendo a quinta causa de morte por câncer em geral e a causa mais frequente de morte por câncer na população feminina ⁽¹⁾.

Dados variam conforme regiões geográficas e sócio-econômicas, a frequência é maior em países mais desenvolvidos, no entanto a taxa de sobrevivência é mais favorável que nas regiões subdesenvolvidas, onde o diagnóstico ocorre em doenças com estágio mais avançados, resultando em aumento na taxa de mortalidade ⁽²⁾.

Na América Latina, a incidência foi de 27,4% e a mortalidade de 13% na população geral ⁽³⁾. Enquanto isso, no Brasil, o câncer de mama é a neoplasia maligna mais comum entre a população feminina após o câncer de pele não melanoma em todas as regiões, excetuando-se a região Norte, onde a prevalência do câncer de colo uterino é maior ⁽⁴⁾.

Segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA), no ano de 2015, foram registrados, no Brasil, 15.403 óbitos pela doença ⁽⁴⁾. Estima-se que em 2019, 59.700 novos casos e taxa de incidência de 56,33 para cada 100.000 mulheres ⁽⁴⁾.

2. Rastreio de Lesões Mamárias:

A implementação do auto-exame de mama nos Estados Unidos, nos anos 50, resultou em diminuição pouco significativa na mortalidade por câncer de mama, de maneira que em 2008, foi descrito o alerta para a saúde das mamas, que associa ao auto-exame a observação da mulher a própria mama, orientação ao sistema de saúde no acolhimento dessas mulheres e realização de exames complementares, dando prioridade a mulheres sintomáticas. Estratégia que se mostrou mais efetiva que o auto-exame de mama isolado ⁽⁵⁾.

Outra estratégia que demonstrou diminuição significativa da mortalidade foi a implementação o programa de rastreamento do câncer de mama, com uso de exames de rastreio, que demonstraram resultados melhores entre países que convocam pacientes na faixa etária alvo para a realização: mulheres com idade entre 40 e 60 anos ⁽⁶⁾.

Tendo isso em vista, o Inca lançou, em 2015, as “Diretrizes para detecção precoce do Câncer de Mama”, que utiliza a mamografia como o método preconizado para rastreio da doença, que deve ser realizado a cada dois anos em mulheres na faixa etária entre 50-69 anos e ser

individualizado na população considerada de alto risco ⁽⁶⁾. Já a Federação Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia (Febrasgo) e o Colégio Brasileiro de Radiologia (CBR), publicaram em 2017, recomendações para rastreio do câncer de mama, que consiste no rastreio anual, para população geral, com realização de mamografia para mulheres entre 40 e 74 anos e; a partir dos 75 anos, o rastreamento deve ser feito com mamografia se a expectativa de vida das pacientes for maior que 7 anos, conforme demais comorbidades da paciente, também preconizando o tratamento individualizado àquelas pacientes consideradas de alto risco ⁽⁷⁾.

3. Diagnóstico do Câncer de Mama

Em geral, a abordagem do câncer de mama é multidisciplinar, envolvendo inicialmente, a busca por sinais e sintomas, através do exame clínico e auto-exame. Seguido de exames complementares, como a mamografia de rotina e exame ultrassonográfico, quando necessário, de acordo com a recomendação médica e/ou dos programas governamentais de cada país ou região. A suspeita clínica e alterações nos exames complementares, necessita de comprovação por exames anatomopatológicos.

O diagnóstico correto e acurado de uma lesão mamária, pode evitar procedimentos desnecessários e planejamento adequado de conduta e manejo cirúrgico ⁽⁸⁾. Portanto uma vez identificada uma lesão mamária, deve ser realizada a confirmação diagnóstica o mais breve possível ⁽⁹⁾. Nesta fase inicial, os exames mais comumente utilizados são a punção aspirativa por agulha fina (PAAF) e a biópsia por agulha grossa (“core biopsy”) ^(8,10).

3.1. Biópsia por Agulha Grossa

Técnica descrita por Parker em 1993, consiste no uso de pistola automática de longo (2,3cm) ou curto alcance (1,5cm) e agulha grossa, com calibre de 14-gauge. É necessária experiência e treinamento do operador, que deve identificar e orientar o procedimento, além de estar ciente de quantos milímetros a agulha avançará após o disparo para evitar transfixação da parede torácica ⁽¹¹⁻¹²⁾.

A utilização da ultrassonografia tem a utilidade de documentar e identificar a lesão, além de orientar o procedimento. É necessária realização de antissepsia e anestesia por todo o trajeto da agulha até a lesão, realização de incisão de 2 a 3 mm com lâmina de bisturi, por onde a agulha será introduzida e posicionada paralelamente ao nódulo. Uma vez que a agulha esteja posicionada é realizado o disparo para obtenção do material. Fragmentos de áreas diferentes da lesão devem ser amostradas, resultando em múltiplos disparos ⁽¹⁰⁻¹¹⁾.

3.2. Punção Aspirativa por Agulha Fina

O princípio da técnica é amplamente utilizado, popularizou-se devido ao baixo risco de complicação, baixo custo, alta acurácia e rapidez, uma vez que nenhum outro tipo de biópsia, excetuando-se cortes histológicos por congelação, pode ser processado tão rapidamente quanto a PAAF ⁽¹³⁻¹⁴⁾. Segundo Ali, a sensibilidade desta técnica varia entre 80 a 100% com especificidade superior a 99% ⁽¹³⁾

As primeiras punções foram realizadas no Hospital Karolinska em Estocolmo em 1960 ⁽¹⁶⁾. Lesões palpáveis podem ser biopsiadas facilmente, porém lesões pequenas necessitam do auxílio de imagem para orientação do procedimento ⁽¹³⁻¹⁴⁾. A realização concomitante à ultrassonografia, permite confirmação de que a agulha está no local da lesão, o material coletado é representativo da lesão, além de permitir avaliação e discussão sobre os achados ultrassonográficos auxiliando na melhor aplicação do “tripé diagnóstico”, que consiste em associar achados clínicos, imaginológicos e citológicos ⁽⁹⁾.

Algumas lesões são classificadas como lesões da “zona cinzenta”, por apresentarem alterações citomorfológicas sobreponíveis entre critérios de benignidade e malignidade, necessitando de classificações intermediárias, que não devem exceder 20% do total de diagnósticos ^(10,16). As principais lesões benignas associadas a esses achados são fibroadenomas, doenças fibrocística da mama, lesões papilíferas e lesões proliferativas com ou sem atipias. Essas lesões podem apresentar graus de atipias, aumento nuclear, pouca coesão celular, aumentando a suspeita para lesões malignas ^(13,16). Já as principais lesões malignas associadas a esta categoria são carcinoma tubular, carcinoma mucinoso e carcinoma “*in situ*” de baixo grau. Provavelmente por demonstrarem população celular monomórfica, com núcleos arredondados e pequenos nucléolos. De forma que nesses casos, pode ser necessário a realização de exame histológico complementar para conclusão diagnóstica ^(13,16-17).

Atualmente a PAAF pode fornecer informações adicionais como, por exemplo, a pesquisa de biomarcadores, como receptor de estrogênio e progesterona e expressão da proteína do oncogene Her2, se o procedimento for realizado de maneira a selecionar material para tais estudos ⁽¹⁸⁻¹⁹⁾.

3.2.1. Técnica da Punção Aspirativa por Agulha Fina

A técnica consiste na remoção de células da lesão de interesse com uso de agulha fina. Os materiais necessários para o procedimento são agulha fina (23 a 25 gauge), seringa de 10 a 20 ml com ou sem auxílio de citoaspirador, exames de imagem, se houver necessidade de guia, lâminas para realização do esfregaço e álcool 95% para fixação do material colhido ⁽¹³⁻¹⁴⁾ - Figura 1.

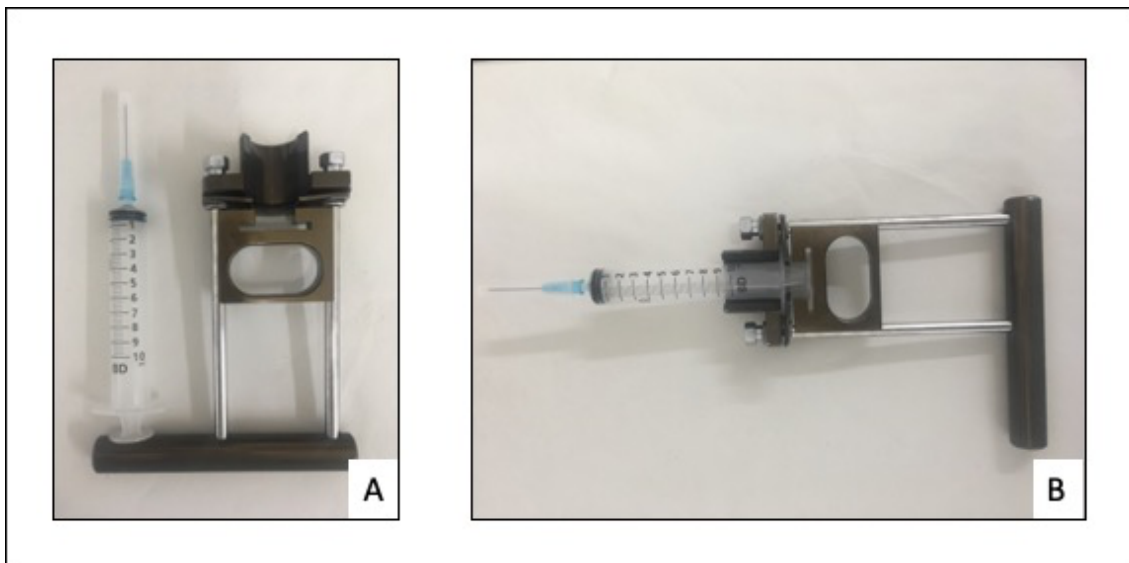


Fig. 1.: Material utilizado para realização da PAAF. A) Seringa de 10mL acoplada a agulha de 25 x 0,6 mm de 25 gauge e citoaspirador. B) Material posicionado pronto para preparo.

Existem dois meios de realizar a remoção de células: a aspirativa, em que é necessário utilizar um citoaspirador para realização de vácuo associada a movimentação a fim de obter material e; a não aspirativa, que é feita apenas com uso da agulha através do efeito de ação capilar, este resulta em material menos volumoso, no entanto, com maior concentração celular ⁽¹⁴⁾.

Para realização da PAAF não é necessária anestesia local, a agulha deve ser introduzida perpendicular a lesão, o uso de exame de imagem, como a ultrassonografia, permite confirmar que a ponta da seringa se encontra na lesão de interesse (Figura 2). Então são realizados movimentos de “vai e vem” associados a movimento em leque, de forma que a maior área possível da lesão seja contemplada (Figura 3). O procedimento deve durar de cinco a dez segundos, com frequência de dois a três movimentos por segundo, podendo variar em alguns casos, como em lesões escleróticas, em que a saída de células é mais difícil. Posteriormente, solta-se o embolo e retira-se a agulha para a realização dos esfregaços ⁽¹⁴⁾.

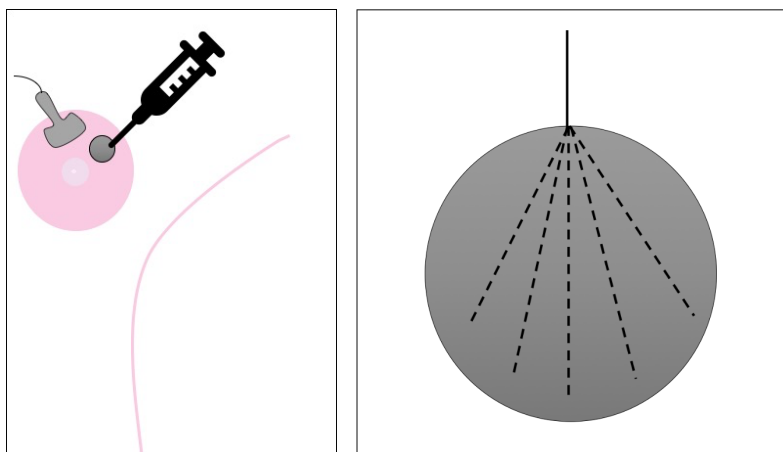


Fig 2.: Esquema representativo de PAAF guiada por ultrassonografia. Identifica-se o nódulo com uso do aparelho de ultrassom, então é introduzida a agulha perpendicular à lesão. Devido ao uso da imagem, pode-se identificar a ponta da agulha no interior da lesão, e por vezes, acompanhar os movimentos realizados durante o exame. Desta forma, há certeza de que o material obtido é do interior da lesão de interesse.

Fig3.: Desenho esquemático [adaptado de DeMay⁽¹⁵⁾] da introdução da agulha e realização dos movimentos em “vai e vem” e em leque. A movimentação tem por objetivo o desprendimento das células além de contemplar a maior área de lesão possível.

Em casos de PAAF não aspirativa, a agulha é introduzida da mesma maneira e os mesmos movimentos devem ser realizados. A sucção puxa o fragmento para a superfície cortante da agulha e auxilia a condução do material pelo lúmen, quando o movimento é adequado, a ação da capilaridade é suficiente para obtenção de material ⁽¹⁴⁾.

Com o material obtido é feito o esfregaço, que deve ser realizado cautelosamente, uma vez que sua má realização pode resultar em dificuldade de interpretação e, conseqüentemente, a erros diagnósticos. A agulha deve ser posicionada próximo a parte fosca da lâmina e colocado uma pequena quantidade do material aspirado utilizando o ar presente na seringa; caso tenha sido realizado o método de não aspiração, neste momento uma seringa deve ser acoplada a agulha (Figura 4). Rápida análise macroscópica do material deve ser realizada, pode-se saber se o material é proveniente de cisto ou contém material purulento. Casos em que o material não sugira correspondência com o material esperado, nova coleta pode ser realizada ⁽¹⁴⁾.

Após essa análise, com outra lâmina é realizado o esfregaço, posicionando-a gentilmente sobre a amostra e esfregando delicada e suavemente sobre a lâmina em que o material foi depositado de forma que a amostra não chegue até o final da lâmina (Figura 4). Recomenda-se que sejam confeccionadas pelo menos duas lâminas de esfregaço, as quais podem ser fixadas em álcool para coloração com Papanicolau ou Hematoxilina-Eosina e a seco para colorações como o Giemsa, sendo ideal a realização das duas colorações, uma vez que evidenciam achados

complementares (Figura 5). Além disto, pode ser coletado material para realização de meio líquido, tendo sido observado aumento na tendência de realização deste tipo de coleta ⁽¹³⁻¹⁴⁾.

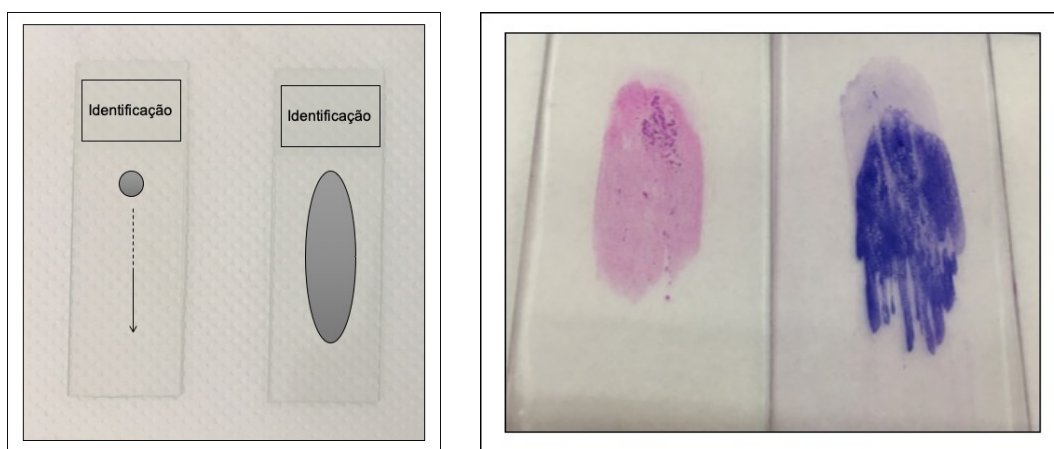


Fig. 4.: Esquema de realização de esfregaço. Próximo a margem fosca de identificação, é colocada uma pequena quantidade do material aspirado. Então com outra lâmina é realizado esfregaço no sentido do final da lâmina, sem que a amostra chegue ao final da lâmina.

Fig 5.: Esfregaços, corados em Hematoxilina-Eosina e Giemsa, respectivamente. Note que o esfregaço não chega ao final da lâmina.

Se houver material restante na seringa, pode ser realizada citoinclusão do material, o qual pode conter informações adicionais importantes, como estruturas morfológicas, lembrando fragmentos teciduais. Alguns autores defendem que esta técnica é superior ao meio líquido, pois mantém melhor as características da lesão, além de permitir o uso de técnicas adicionais, como colorações especiais, imunocitoquímica e testes moleculares ^(13-14,20).

Para obtenção de material de citoinclusão, diferentes técnicas podem ser utilizadas, variando conforme material disponível no laboratório e experiência técnica, tendo sempre o objetivo de agrupar as células para poder processá-las em blocos de parafina ⁽²⁰⁻²¹⁾.

3.2.2. Benefícios

Benefícios da PAAF incluem simplicidade do procedimento, custo-benefício, complicações praticamente inexistentes, procedimento pouco traumático, rápido, acurado e sensível^(13-14,22), além da possibilidade de realização de estudos complementares⁽²⁰⁾. É o procedimento de escolha para lesões próximas a pele, parede torácica ou fossa claviclar⁽²³⁾. Para lesões pequenas, a biópsia por agulha grossa pode remover toda a lesão, dificultando a avaliação das margens⁽²³⁾. Esta técnica é preferível em pacientes com reconstrução mamária e implantes mamários, pacientes em uso de anticoagulantes e em lactação, pois podem evoluir para

galactocele ou fistula láctea ⁽¹⁸⁾. Em casos de lesões como abscessos e cistos, a técnica além de diagnóstica, serve como tratamento ⁽¹³⁾.

3.2.3. Desvantagens

As contraindicações são praticamente inexistentes ⁽¹⁹⁾. Complicações são raras, quando presentes incluem: dor, hemorragia, infecção, reação vasovagal e raramente, pneumotórax ^(13-14, 24).

Algumas lesões podem apresentar alterações citomorfológicas sobreponíveis entre critérios de benignidade e malignidade. Como é o caso das lesões papilíferas, que podem abranger desde lesões benignas até um espectro maligno, passando por lesões intermediárias, como hiperplasia ductal atípica e carcinoma ductal *in situ*, faz-se, portanto, de difícil diferenciação diagnóstica na citologia, entrando em uma categoria diagnóstica intermediária ^(13,23,25). Critérios como invasão também tem avaliação prejudicada e de baixa confiabilidade na PAAF ⁽²³⁾.

3.2.4. Classificação

O adequado relato da citologia mamária, se associado aos algoritmos de manejo clínico, podem aumentar a solicitação de punção aspirativa por agulha fina pelos clínicos ⁽²⁵⁾. Por isso, a Academia Internacional de Citologia (IAC) realizou uma conferência em Yokohama, em 2016, quando criou o “Grupo de Mama”, formado por radiologistas, patologistas, cirurgiões e oncologistas. Teve como objetivo a padronização do relato de citologia mamária para melhorar a indicação do procedimento, orientações técnicas e correlação com algoritmos clínicos ^(25,26).

O consenso foi dividido em cinco categorias: 1- Insuficiente ou insatisfatório; 2- Benigno; 3- Atípico, favorecendo benignidade; 4- Atípico, suspeito para malignidade; 5- Maligno ⁽²⁶⁾.

A Interpretação do resultado da PAAF deve sempre ser analisada em conjunto com o “tripé diagnóstico” ^(9,25). Se utilizado desta maneira, os resultados da PAAF apresentam excelentes valores preditivos positivos e valores preditivos negativos, tornando-se uma base sólida para decisões terapêuticas ^(18,25,27).

Adequação da amostra:

Os critérios podem variar entre laboratórios, mas em geral, mais células são necessárias para classificar uma lesão como benigna do que uma maligna, uma vez que o diagnóstico de benignidade deve ser inequívoco. Ali sugere que a quantidade mínima de células seja de seis grupos de células epiteliais, com cerca de 15 células por grupo, para considerar um esfregaço

como satisfatório ⁽¹²⁾. Enquanto Field colls. sugerem que a amostra deve conter sete fragmentos teciduais ou mais contendo pelo menos 20 células epiteliais cada ⁽²⁶⁾.

No entanto, existem algumas exceções, por exemplo, se o material obtido for acelular em uma lesão sugestiva de lesão cística nos exames de imagem com drenagem de material líquido e diminuição da lesão durante a punção pode ser classificada como benigna: lesão cística, ao invés de insatisfatória, mesmo que não tenha o número sugerido como suficiente de células epiteliais ⁽¹³⁾.

Grupo 1 - Insatisfatório:

O termo insatisfatório ou insuficiente deve ser definido pelo laboratório ou citopatologistas. Em geral, é definido como um esfregaço que é pouco celular ou pobremente fixado para permitir adequado diagnóstico citomorfológico. No entanto, segundo a classificação de Yokohama, casos de discrepância com o “tripé diagnóstico”, mesmo que com adequada qualidade de fixação e contendo celularidade adequada, devem ser diagnosticados como insatisfatórios e receber comentário com sugestão de realização de nova amostragem ou de avaliação complementar, e relatar que possivelmente o material não é representativo da área de lesão ^(13,26).

A ausência de células epiteliais não necessariamente caracteriza a lesão como insatisfatória, casos como lesões císticas e abscessos, se contexto clínico e radiológico compatíveis com achados do esfregaço podem ser classificados como benignos, como melhor abordado no próximo tópico ⁽²⁶⁾ - Figura 6.

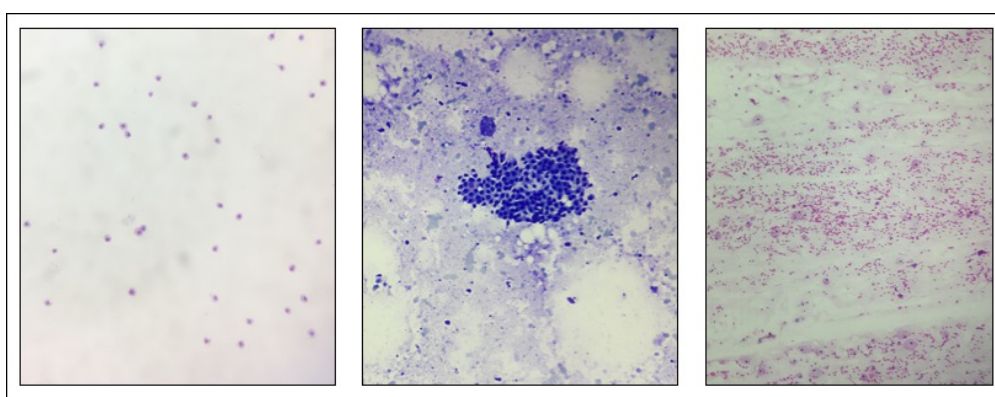


Fig. 6.: Lesões císticas puncionadas. Na primeira e terceira imagens observa-se que o esfregaço não apresenta células epiteliais. No entanto devido imagem ultrassonográfica sugestiva de lesão cística associada a presença de macrófagos e material hialino de fundo, estes casos devem ser interpretados como benignos e compatíveis com lesão cística.

Grupo 2 - Benigno:

Lesões benignas são aquelas em que o diagnóstico pode ser feito em caso inequívoco, podendo ou não ser diagnóstico de uma lesão específica ⁽²⁶⁾.

Para uma amostra ser considerada adequada deve apresentar sete fragmentos teciduais ou mais contendo pelo menos 20 células epiteliais cada que permita avaliação arquitetural e a presença ou ausência de células mioepiteliais ⁽²⁶⁾.

Elementos chaves para considerar os achados citológicos benignos são grandes grupos coesos, em monocamada ou tridimensionais, de células ductais e mioepiteliais, em padrão bimodal e núcleos nus bipolares representando células mioepiteliais de fundo ^(13,26).

Situações sem células epiteliais, em que os achados do “tripé diagnóstico” forem condizentes, são classificados como benignos. Por exemplo: presença de neutrófilos consistente com achados de abscessos; material proteináceo com ou sem histiócitos consistente com cisto, principalmente se associados a achados de diminuição ou desaparecimento da lesão durante o procedimento (Figura 6); fragmentos de tecido adiposo em suspeita de lipoma ou nódulo de gordura, células fusocelulares, necrose gordurosa ou; material linfoide consistente com linfonodo intramamário ⁽²⁶⁾.

A maioria dos casos diagnosticados como benignos após a punção aspirativa por agulha fina são acompanhados clinicamente, e raramente necessitam de intervenção cirúrgica. O risco de malignidade nesses casos, segundo estudo de 2019, realizado em serviço especializado, Instituto de Patologia e Biologia Molecular do Porto, utilizando a atual classificação é de 1,4%, enquanto o valor preditivo negativo de lesões benignas é de 97,1% até 98,97% ^(22,28).

Estudos afirmam que algumas lesões, como carcinoma lobular, não soltam fragmentos teciduais tão facilmente, porém mesmo em menor quantidade, apresentam alterações citológicas suficientes para classificar a lesão pelo menos como atípica ⁽¹⁷⁾.

Grupo 3 - Atípias, provavelmente benignas:

O termo atípico é definido como a presença de alterações citológicas vistas predominantemente em lesões ou processos benignos, porém com alguns achados que não são comuns em lesões benignas ou que podem ser vistas em lesões malignas ⁽²⁶⁾. O risco para malignidade deste diagnóstico varia entre 13% a 39% ^(22,28).

Os principais achados citológicos são alta celularidade, aumento de células soltas, aumento e pleomorfismo nuclear, presença de necrose ou mucina, micropapilas complexas ou arquitetura cribiforme do componente epitelial. Se possível, o laudo deveria incluir os diagnósticos diferenciais, sugerindo o mais provável ⁽²⁶⁾.

As causas mais comuns para esta categoria podem ocorrer durante a coleta, como a pouca habilidade do operador, resultando em baixa celularidade, obscurecimento do material por sangue ou gel do ultrassom e artefato de esmagamento. Após a coleta, incluem dificuldade de interpretação e sobreposição de achados de lesões epiteliais proliferativas como hiperplasia ductal usual, fibroadenomas, papilomas e carcinoma “*in situ*” de baixo grau, principalmente se associado a baixa experiência do citopatologista que pode supervalorizar alguns achados ⁽²⁶⁾. Lesões associadas a este diagnóstico são hiperplasia epitelial, alterações fibrocísticas, fibroadenomas, papilomas intraductais e cicatriz radiada ^(15,18).

Grupo 4 - Suspeito para malignidade:

Os casos suspeitos para malignidade são aqueles que apresentam achados citomorfológicos usualmente encontrados em lesões malignas, mas que não são suficientes para concluir o diagnóstico ⁽³²⁾. O risco de malignidade desta categoria, segundo estudo realizado em instituição especializada e com utilização da atual classificação, foi de 97,1% ⁽²²⁾.

A inclusão desta categoria auxilia manter o alto valor preditivo positivo dos diagnósticos de malignidade, mantendo a sensibilidade da punção aspirativa por agulha fina. As causas são similares as causas de lesões atípicas, incluem problemas técnicos, habilidade do operador, realização do esfregaço e interpretação do material ⁽²⁶⁾.

Células atípicas grandes altamente dispersas também devem ser incluídas como “suspeita para malignidade”. Se houver suspeita de diagnóstico de linfoma, a descrição da possibilidade diagnóstica deve ser feita como nota no laudo, com objeto de evitar uma cirurgia desnecessária ⁽²⁶⁾.

Grupo 5 - Maligno:

Material em que os achados citomorfológicos são inequivocamente malignos, se possível o tipo da malignidade deve ser relatado no laudo ⁽²⁵⁻²⁶⁾. Estudos utilizando a classificação de Yokohama relatam risco de malignidade de 100% ^(22,28).

Os achados para tal diagnóstico incluem alta celularidade, células soltas atípicas dispersas, fragmentos teciduais com sobreposição celular, aumento nuclear, pleomorfismo e nucléolo proeminente ⁽²⁶⁾. Se houver qualquer evidência de malignidade, atipia ou necrose o material não deve ser classificado como benigno e sim como maligno ou atípico, mesmo que a celularidade seja baixa ⁽²⁶⁾.

3.3. Exames complementares:

O material obtido com o procedimento da punção aspirativa por agulha fina pode ser utilizado na preparação de material para exames complementares. Tais estudos incluem imunocitoquímica e técnicas moleculares, que podem ser utilizados em casos de dificuldade diagnóstica, complementação diagnóstica ou como estudo de fatores prognósticos (receptor de estrógeno, receptor de progesterona e Her2) ^(19,20).

Para realização de estudos complementares, pode ser utilizado o material de citoinclusão ou citologia em meio líquido. Segundo Beca e Schimtt, sua experiência demonstra que o material fixado em fomalina e incluído em parafina (material de citoinclusão) é a melhor solução para realização de estudos complementares ^(19,21).

3.3.1. Imunocitoquímica:

A utilização da imunocitoquímica pode ser útil na classificação diagnóstica, pesquisa de fatores prognósticos bem como em casos de diagnóstico diferenciais.

A pesquisa de receptor de estrógeno e progesterona podem ser realizados em material de citologia. A pesquisa de receptor do proto-oncogene Her-2 pode ser realizado em material de citologia desde que seja feito em cortes histológicos de material de citoinclusão, pois permite o uso de protocolo padronizado para tecidos. A interpretação de imunocitoquímica para Her-2 em esfregaços ou preparações de meio líquido ainda não estão padronizadas. Além disto, os testes negativos devem ser repetidos em espécimes histológicos devido a heterogenicidade tumoral ⁽¹⁸⁾.

A estimativa de índice de proliferação celular com uso do Ki-67 é controversa, apesar de amplamente utilizado. Recomenda-se que a pesquisa de índice de proliferação celular seja realizada em espécimes cirúrgicos ⁽²⁹⁾.

3.3.2. Biologia Molecular

Testes moleculares também podem ser utilizados em amostras citológicas, fixadas a seco ou em álcool ⁽¹⁹⁾.

Classicamente, reação em cadeia de polimerase (PCR), para estudo de receptores hormonais, pesquisa de ampliações do proto-oncogene Her-2 e hibridização *in situ* (ISH) são os testes mais utilizados em PAAF de mama ⁽¹⁹⁾.

FISH (Hidridização fluorescente *in situ*) é o método padrão-ouro para pesquisa de ampliações do proto-oncogene Her-2, que deve ser avaliado no tumor primário bem como em metástases

subsequentes. Atualmente seu uso é possível em amostras citológicas com excelente correlação com achados histológicos ⁽¹⁹⁾.

Tais testes podem ser utilizados, nas amostras de PAAF, como auxílio no diagnóstico de carcinomas que tem mutações específicas associadas, como é o caso do carcinoma adenoide cístico em que o achado da translocação t(6;9) (q22e23;p23e24), envolvendo a fusão dos genes transcriptores MYV e NFIB, é patognomônica ⁽³⁰⁾.

Técnicas mais recentes têm utilizado o sequenciamento paralelo massivo ou “Next-generation sequencing” (NGS), os quais podem identificar numerosos genes ou sequencias de interesse ao mesmo tempo ⁽¹⁹⁾.

4. Objetivo

Avaliar a acurácia da punção aspirativa por agulha fina (PAAF) no diagnóstico de lesões mamárias pequenas ($\leq 1,0$ cm), realizadas em serviço anatomopatológico especializado em PAAF, entre 2000 a 2019.

5. Justificativa

O diagnóstico precoce do câncer de mama tem importância direta no tratamento do câncer. Lesões identificadas e tratadas quando pequenas ou estágio inicial, tem maior probabilidade de cura, menor risco de metástases locorregional ou à distância e menor índice de recorrência. Pacientes que apresentem lesão mamária com indicação de avaliação anatomopatológica para definição da natureza da lesão serão submetidas à PAAF ou métodos de biópsia para o diagnóstico. Tendo em vista que a PAAF é um método bem estabelecido, minimamente invasivo, de baixo custo e com alta sensibilidade e especificidade para o diagnóstico das lesões de mama, porém com possibilidade de falso negativos, principalmente em lesões menores que 1,0 cm, este trabalho busca avaliar o valor da acurácia do método em lesões pequenas ($\leq 1,0$ cm).

Referências Bibliográficas:

1. World Health Organization. The International Agency for Research on Cancer. Global Cancer Observatory. Cancer Today [Internet]. Lyon: IARC; 2019 [cited 2020 Jul 20]. Available from: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/900-world-fact-sheets.pdf>
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018;68(6):394–424.
3. World Health Organization. The International Agency for Research on Cancer. Global Cancer Observatory. Cancer Today. Population Fact Sheets: Latin America and the Caribbean [Internet]. Lyon: IARC; 2018 [cited 2019 Sep 10]. p. 2. Available from: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheet>
4. Instituto Nacional do Câncer. Estimativa Incidência de Câncer no Brasil - Biênio 2018-2019. Rio de Janeiro: INCA; 2018. v. 1, 124 p.
5. Thornton H, Pillarisetti RR. “Breast awareness” and “breast self-examination” are not the same. What do these terms mean? Why are they confused? What can we do? *Eur J Cancer*. 2008;44(15):2118–21.
6. Instituto Nacional de Câncer José Gomes da Silva. Diretrizes para a detecção precoce do câncer de mama no Brasil [Internet]. Rio de Janeiro: INCA; 2015 [cited 2020 Jul 20]. Available from: https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//diretrizes_deteccao_precoce_cancer_mama_brasil.pdf
7. Urban LABD, Chala LF, Bauab SP, Schaefer MB, Santos RP, Maranhão NMA, et al. Recomendações do colégio Brasileiro de radiologia e diagnóstico por imagem, da sociedade Brasileira de mastologia e da federação Brasileira das associações de ginecologia e obstetrícia para o rastreamento do câncer de mama. *Radiol Bras*. 2017;50(4):244–9.
8. Kocjan G, Bourgain C, Fassina A, Hagmar B, Herbert A, Kapila K, et al. The role of breast FNAC in diagnosis and clinical management: a survey of current practice. *Cytopathology*. 2008;19(5):271–8.
9. Irwig L, Macaskill P, Houssami N. Evidence relevant to the investigation of breast symptoms: the triple test. *Breast*. 2002;11(3):215–20.
10. Perry N, Broeders M, de Wolf C, Törnberg S, Holland R, von Karsa L. European guidelines for quality assurance in breast cancer screening and diagnosis. Fourth edition - Summary document. *Ann Oncol*. 2008;19:614–22.
11. Parker H, Jobe E, Yakes F, Clark C, Dennis A, Truell E, et al. US-guided automated large-core. *Radiology*. 1993;187:507–11
12. Rocha RD, Pinto RR, Aquino D, Aires CS. Passo-a-passo da core biópsia de mama guiada por ultrassonografia: revisão e técnica. *Radiol Bras*. 2013;46(4):234–41.

13. Ali ZS, Parwani A V. Breast cytopathology. Baltimore: Springer; 2007. 189 p.
14. DeMay RM. Art and science of cythopathology. 2nd ed. Chicago: ASCP Press; 2012. 2076 p.
15. Berner A, Sauer T. Fine-needle aspiration cytology of the breast. *Ultrastruct Pathol.* 2011;35(4):162–7.
16. Mitra S, Dey P. Grey zone lesions of breast: potential areas of error in cytology. *J Cytol.* 2015;32(3):145–52.
17. Park IA, Ham EK. Fine needle aspiration cytology of palpable breast lesions. *Acta Cytol.* 1997;41(4):1131–8.
18. Dong J, Ly A, Arpin R, Ahmed Q, Brachtel E. Breast fine needle aspiration continues to be relevant in a large academic medical center: experience from Massachusetts General Hospital. *Breast Cancer Res Treat.* 2016;158(2):297–305.
19. Beca F, Schmitt FC. Ancillary tests in breast cytology: a practical guide. *Acta Cytol.* 2019;63(4):302–13.
20. Krogerus L, Kholová I. Cell block in cytological diagnostics: review of preparatory techniques. *Acta Cytol.* 2018;62(4):237–43.
21. Bueno Angela SP, Viero RM, Soares CT. Fine needle aspirate cell blocks are reliable for detection of hormone receptors and HER-2 by immunohistochemistry in breast carcinoma. *Cytopathology.* 2013;24(1):26–32.
22. Montezuma D, Malheiros D, Schmitt FC. Breast fine needle aspiration biopsy cytology using the newly proposed iac yokohama system for reporting breast cytopathology: the experience of a single institution. *Acta Cytol.* 2019;63(4):274–9.
23. Tse GM, Tan P-H. Diagnosing breast lesions by fine needle aspiration cytology or core biopsy: which is better? *Breast Cancer Res Treat* [Internet]. 2010;123(1):1–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20526738>
24. Party EW, Wells CA, Ellis I, Zakhour HD, Wilson AR. Guidelines for cytology procedures and reporting on fine needle aspirates of the breast. Cytology subgroup of the National Coordinating Committee for Breast Cancer Screening Pathology. *Cytopathology.* 1994;5(5):316–34.
25. Field AS, Raymond WA, Rickard M, Arnold L, Brachtel EF, Chaiwun B, et al. The international academy of cytology yokohama system for reporting breast fine-needle aspiration biopsy cytopathology. *Acta Cytol.* 2019;63(4):257–73.
26. Field AS, Schmitt F, Vielh P. IAC standardized reporting of breast fine-needle aspiration biopsy cytology. *Acta Cytol.* 2017;61(1):3–6. doi: 10.1159/000450880
27. Anderson BO. Fine-needle aspiration for breast cancer diagnosis: one size does not fit all. *J Natl Compr Cancer Netw.* 2016;14(5):599–600.
28. Wong S, Rickard M, Earls P, Arnold L, Bako B, Field AS. The international academy of cytology yokohama system for reporting breast fine needle aspiration biopsy cytopathology: a single institutional retrospective study of the application of the system categories and the impact of rapid onsite evaluation. *Acta Cytol.* 2019;63(4):280–91.

29. Kos Z, Dabbs DJ. Biomarker assessment and molecular testing for prognostication in breast cancer. *Histopathology*. 2016;68(1):70-85. doi: 10.1111/his.12795
30. Persson M, Andrén Y, Mark J, Horlings HM, Persson F, Stenman G. Recurrent fusion of MYB and NFIB transcription factor genes in carcinomas of the breast and head and neck. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009;106(44):18740–4.

Capítulo II: Artigo Científico

*Artigo científico apresentado conforme as normas especificadas na revista "Surgical and Experimental Pathology".
Disponível em: <https://surgexppathol.biomedcentral.com/submission-guidelines>

***Fine-Needle Aspiration Cytology (FNAC) is a Reliable Diagnostic Tool for Small
Breast Lesions (≤ 1.0 cm): A 20-Year Retrospective Study***

Jessica Aline Tomelin de Cursi^{1,4}, Mariângela Esther Alencar Marques¹, Cristina Andrea Campos de Assis Cunha Castro², Fernando Carlos Schmitt³, Cleverson Teixeira Soares^{4,5}

¹ Department of Pathology, São Paulo State University, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Medical School, Botucatu-SP, Brazil

² Cristina Castro Clinic Diagnostic Imaging, Bauru-SP, Brazil

³ Department of the Faculty of Porto and IPATIMUP, Department of Pathology, University of Porto, Porto, Portugal

⁴ Bauru Institute of Pathology (ANATOMED), Bauru-SP, Brazil

⁵ Pathology Laboratory, Lauro de Souza Lima Institute (ILSL), Bauru-SP, Brazil

* Corresponding Author: Jessica Aline Tomelin de Cursi

Department of Pathology

State University of São Paulo, Faculty of Medicine of Botucatu, Botucatu-SP

Av. Mário Rubens Guimarães Montenegro, s / n - UNESP - Campus de Botucatu

Botucatu, São Paulo, 18618687, Brazil

Tel: +55 14 99602 9585

E-mail: Jessica_cursi@terra.com.br

Abstract

Background: Breast cancer is a major public health problem worldwide. Small breast lesions or those suspicious for malignancy have been recommended to be evaluated via histopathological examination (“core biopsy” or surgical specimens), with fine-needle aspiration cytology (FNAC) indicated to be better for lesions that are probably benign and palpable. This study aimed to assess the accuracy of FNAC for the diagnosis of small breast lesions.

Methods: All anatomopathological reports of FNACs collected between January 1, 2000 and December 31, 2019 (n=24,721) in a private community pathology service. We reviewed lesions smaller than 1.0 cm (≤ 1.0 cm) (n=8,334) were included for evaluation and classified according to the recommendation of the International Academy of Cytology in the following categories: (1) insufficient; (2) benign; (3) atypical, probably benign; (4) atypical, suspicious for malignancy; and (5) malignant. Subsequently, the results of the FNACs were compared to those respective histopathological exams (n=785).

Results: FNAC had a specificity of 99.6%; sensitivity, 97.4%; positive predictive value, 99.6%; negative predictive value, 97.6%; and accuracy, 98.5%.

Conclusions: FNAC is a reliable method for diagnosing small breast lesions (≤ 1.0 cm).

Keywords: Breast neoplasm, biopsy, cytology, data accuracy.

Running title: *FNAC in small breast lesions*

Background

Breast cancer is the most common malignant neoplasm among women worldwide after non-melanoma skin malignancies. Further, it is the most frequent cause of cancer-related death among women worldwide, with an estimated 2.1 million new cases annually. The survival rate varies by continent, with better rates in first-world countries (1,2). The implementation of breast cancer screening programs is helpful for early detection of breast lesions, which in turn translate in to a significant decrease in mortality (3–6). Lesions suspected for malignancy should be subjected to additional tests as soon as possible for diagnostic confirmation (3,7). The most common modalities for initial evaluation of breast lesions are fine-needle aspiration cytology (FNAC) and core biopsy (7,8). Compared to core biopsy, FNAC is associated with high insufficiency or inadequate specimen and low accuracy, and thus most clinicians prefer biopsy (6). In addition, some studies recommend that small breast lesions or those suspicious for malignancy should be evaluated through histopathological examination (“core biopsy” or excision), and FNAC should be indicated for lesions that are probably benign or palpable (6,9).

However, FNAC is a more simple, low-cost technique with a low risk of complications than biopsy or excision procedures (10,11). Core biopsy involves the use of a thick needle to obtain fragments of the lesion, it is performed in a specialized service, uses local anesthesia, and requires multiple for an accurate analysis (12). FNAC when performed in adequate conditions has good accuracy (10,11). The aspirated specimen can also be processed for cellblock (13–15) that can be used for immunohistochemical analysis of related biomarkers (e.g., estrogen receptor, progesterone receptor, and Her-2). Also, the cellblock specimen can be used for molecular analysis, providing additional information that can be helpful in the diagnosis and treatment by identifying predictive and prognostic markers (13,16,17).

Early diagnosis and small lesion size significantly improves the treatment outcomes and prognosis factors of breast lesions, especially those that are malignant.

This study aims to evaluate the accuracy of fine needle aspiration cytology (FNAC) on small breast lesions diagnosis ($\leq 1.0\text{cm}$), performed in a specialized service on FNAC between 2000 to 2019.

Methods

This retrospective study aimed to evaluate the accuracy of FNAC as a diagnostic modality for small breast lesions ($\leq 1.0\text{ cm}$). It was conducted at the Bauru Institute of Pathology (ANATOMED), Bauru-São Paulo, Brazil between January 1, 2000 and December 31, 2019. Several radiologists and five pathologists performed all the examinations. Lesions were identified and measured in three dimensions on ultrasound examination. Then, the pathologist performed the FNAC under ultrasound guidance. All lesions $\leq 1.0\text{ cm}$ were punctured under ultrasound guidance. FNAC was performed as commonly described in the literature. Briefly, a $25 \times 0.6\text{ mm}$ 25-Gauge needle, a common cyto aspirator, and a 10 ml syringe were used (13). The specimen obtained was placed on slides for smears (between 2 and 4 smears stained with hematoxylin-eosin (HE) and May-Gründwald-Giemsa [MGG]) (13). The HE staining slides were fixed in 95% alcohol, whereas those to MGG staining were kept air. The specimen remaining in the bottom of the needle or in the syringe was processed for cell block. The cell block technique involved aspiration of a small amount of 95% alcohol (0.5–1.0 ml) to aid the aggregation of the specimen by coagulation, followed by immediate aspiration of a 10% formaldehyde buffered solution (5–10 ml) for fixation, and usual histological processing in paraffin sections (13). The same pathologist who performed the FNAC examined the slides and

made the diagnosis. In doubtful cases, the diagnosis was made in consensus with the opinion of one or more pathologists from the same department.

Data were collected from anatomopathological reports. Lesions measuring ≤ 1.0 cm on ultrasound at the time of FNAC were included (Figure 1). Meanwhile, lesions measuring >1.0 cm or those whose size was not specified were excluded. All reports included in the study were reviewed by two pathologists (JATC and CTS). The results were classified by consensus according to the proposal of the International Academy of Cytology (IAC) into five categories: (1) insufficient; (2) benign; (3) atypical, probably benign; (4) atypical, suspected of malignancy; and (5) malignant (18). Subsequently, the histopathological diagnosis related to the punctured lesion and the consequent cytohistological correlation were performed (Figure 1). The histopathological diagnosis was considered as the “gold standard” in the comparison between FNAC and biopsy or surgical specimen.

Data were processed using Microsoft Office Excel® software to calculate the accuracy, positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV), sensitivity, and specificity (19), mean age, patient age groups, and mean size of lesions.

Results

Of 24,471 breast lesions that were submitted to FNAC, 8,334 lesions measuring ≤ 1.0 cm were included in the analysis (Figure 1). The FNAC of these small lesions were performed on 7,920 women (1.1 lesion / patient). The average sizes of the benign and malignant lesions were 7.2 mm (range, 2–10 mm) and 7.3 mm (range, 2–10 mm), respectively. The average age of patient was 49.3 years. The age distribution is as follows: ≤ 30 years, $n=649$ (8%); 31–40 years, $n=1,402$ (18%); (3) 41–50 years, $n=2,352$ (30%); 51–80 years, $n=3,414$ (43%); ≥ 81 years, $n=103$ (1%). Of the 8,334 lesions, 12 were classified as insufficient (group 1); 7,384, benign (group 2); 402, atypical, probably

benign (group 3); 140, atypical, suspected of malignancy (group 4); and 396, malignant (group 5) (Figure 1). Of the 8,334 punctured lesions, 785 (9.4%) had a corresponding histopathological examination (core biopsy or surgical procedures such as lesion excision or quadrantectomy/mastectomy (Figure 1).

None of the lesions in group 1 had a corresponding histopathological diagnosis. Three lesions were submitted to second FNAC and classified as benign (two fatty necrosis and one benign lesion without cytological atypia). In group 2, 250 lesions had a corresponding histopathological examination, with 244 confirmed as benign and 6 as malignant, resulting in a negative predictive value (NPV) of 97.6%. In group 3, 214 lesions had a histopathological exam that confirmed 170 as benign (79.4%) and 44 as malignant (20.6%). In group 4, 27 (28.4%) were confirmed as benign and 68 (71.6%) as malignant. In group 5, 225 lesions were confirmed as malignant and only one was confirmed as benign (as fatty necrosis), resulting in a positive predictive value (PPV) of 99.6%. The sensitivity was 97.4%; specificity, 99.6%; and accuracy, 98.5% (Figure 1 and Table 1).

Discussion

FNAC and core biopsy are the two most common modalities for the initial evaluation of breast lesions, but the accuracy of FNAC has been controversial. This study found that FNAC is a reliable diagnostic method for small breast lesions (≤ 1.0 cm), with a specificity of 99.6%; sensitivity, 97.4%; positive predictive value, 99.6%; negative predictive value, 97.6%; and accuracy, 98.5%.

Breast cancer is one of the most commonly diagnosed cancers in women worldwide. Although it can occur in any age, the incidence rate peaks in those aged 40 and 60 years (2,14,20–22). Similarly, most patients in this study were aged between 41

and 50 years (mean age: 49.3 years), both for those with benign and malignant lesions. Most breast lesions detected by palpation or imaging exams are benign or have a low potential for malignancy and have a higher incidence between the fourth and fifth decades of life (23). Benign lesions are usually followed up by clinical or radiological examination and, in most cases, there is no indication for a surgical approach, except in certain conditions (e.g., frequent recurrence of cystic lesions or a major change in its shape and size) (18,23). In the present study, the majority of the lesions were diagnosed as benign on FNAC, and most of the patients with such lesions were only followed up clinically. Only 250 of the 7,384 patients with benign lesions underwent surgery or biopsy (Figure 1 and Table 1).

The accuracy of FNAC is optimized under adequate clinical indications and if the results are correlated with imaging exams and cytopathological characteristics. This combination of clinical assessment-imaging-cytology improves the PPV of FNAC to almost 100% compared to the results obtained by biopsy or surgical specimens (16,18,24–27). Some authors suggest FNAC as the first-line modality for assessing breast lesions, except in cases with only microcalcifications. Ultrasound-guided FNAC is recommended in cases of non-palpable lesions (28). When the combination of three assessments is used, treatment can be based only on the result of FNAC, without the need for a complementary histopathological study (8). The high PPV, NPV, sensitivity, specificity, and accuracy of FNAC in the current study indicates that it can also be used as a reliable first-line diagnostic modality for small breast lesions (≤ 1.0 cm) (Figure 1 and Table 1).

The diagnostic accuracy of FNAC for breast lesions has varied among previous studies. A literature review by Mitra et al. showed that the sensitivity of FNAC for diagnosing breast cancer ranged from 77% to 97% and considered the experience of the

cytopathologist, the presence of the cytopathologist at the moment of the FNAC, and a larger lesion size as influencing factors of accuracy (29). Some studies also reported that FNAC has lower sensitivity and accuracy in small lesions (<1.0 cm) (6,30). In general, the accuracy varies between 86.1% and 95.7% (16, 31). Nakano et al. reported that in very small lesions, the results of FNAC are reliable only when the characteristics of the imaging exams are compatible and considered benign, arguing that histological exams should preferably be used as an initial assessment in cases of minor injuries (9). In contrast, other authors reported favorable accuracy of FNAC, suggesting that FNAC should be preferred over core biopsy in small lesions considering that biopsy procedures can completely remove the lesion, leading to difficulties in assessing surgical margins (26). Yamaguchi et al. also reported that if FNAC findings are used in conjunction with clinical and radiological data, the diagnostic accuracy can reach almost 100% (31). Another strategy for improving the accuracy of FNAC is appropriate technique as this allows obtaining specimen representative of the lesion.

Proper slide preparation, adequate technical quality control, analysis by an experienced cytopathologist, discussion of doubtful cases with other cytopathologists, and correlating with radiologic findings will help improve the reliability of FNAC (7, 30-32). The values obtained in the present study (accuracy, 98.5%; NPV, 97.6%; PPV, 99.6%; sensitivity, 97.4%; specificity, 99.6%) show that FNAC is reliable for evaluating small breast lesions regardless of its status (benign or malignant), and the results were highly consistent to those obtained via histopathological examination (Figure 1). It is important to note that FNAC in the present study was performed under the following conditions: (1) all lesions ≤ 1.0 cm were punctured under ultrasound guidance; (2) the lesions were identified by radiologists, and the puncture performed by a pathologist; (3) at least two different smears were performed (MGG and HE); (4) the specimen obtained

was sufficient for smearing and cell block analysis, adding important information for the analysis; (5) the pathologist who performed the FNAC was the main personnel responsible for evaluating the smears and the cell block specimen ; and (6) the doubtful cases were evaluated by one or more cytopathologists, allowing a consensus diagnosis. These conditions allowed for obtaining adequate specimen for examination and making an accurate analysis (Figure 2).

Another important factor in the use of FNAC for evaluating breast lesions is the accuracy of the method to define the nature of the lesions (benign versus malignant) and to avoid doubtful reports that may require new procedures to confirm the diagnosis. The uncertainty of the diagnosis after FNAC may be attributable to the cytological characteristics of the lesion (high cellularity, nuclear pleomorphism, presence of non-cohesive epithelial cells, presence of mitosis and changes in the nucleus/cytoplasm ratio) or problems related to the technique and processing of the specimen obtained (9,29). Mainly benign lesions or those with low malignant potential that are difficult to diagnose via FNAC are fibroadenoma, fibrocystic breast disease, radial scar, papilloma with epithelial hyperplasia, proliferative epithelial lesions with or without atypia, gynecomastia, lactation changes, fatty necrosis, and phyllodes tumor. Meanwhile, for malignant lesions, classic lobular carcinoma, tubular carcinoma, mucinous carcinoma, lobular carcinoma *in situ*, ductal carcinoma *in situ* (DCIS), nuclear grade 1, and well-differentiated breast carcinoma (not otherwise specified) are the most challenging to diagnose via FNAC (7,9,29,33). Similar data were obtained in the present study. In previous studies, most specimens classified as groups 1, 3, and 4 could be classified as groups 2 or 5 if FNACs were carried out under appropriate conditions. This would avoid increased costs related to the need for further procedures to confirm the diagnosis and also shorten the interval between diagnosis and treatment initiation, which is particularly

crucial in malignant lesions. Some guidelines suggest that cases classified in categories 3 and 4 should not exceed more than 20% of the total cases (7,29). In the present study, 0.1% (12/8,334) of cases in group 1, 4.8% (402/8334) in group 3, and 1.7% (140/8,334) in group 4, corresponding to 6.6% (554/8,334). The low levels of insufficient specimen (group 1) and undefined diagnoses (groups 3 and 4) are probably due to the appropriate conditions in which FNAC was performed, allowing an accurate diagnosis in most cases.

It is important to note that among the lesions in group 3 (atypia, probably benign), 79.4% were confirmed to be benign on histopathological analysis, with only 20.6% considered malignant. Further, almost half of these cases were diagnosed as DCIS (Table 1). For group 4 (atypia, probably malignant), 71.6% were histopathologically confirmed to be malignant (Table 1). Collectively, these results show that even in doubtful cases (groups 3 and 4), FNAC has good agreement with histopathological examination, offering important information for establishing an accurate diagnosis.

Conclusion

The results of this study show that FNAC is a reliable method for the diagnosis of small breast lesions (≤ 1.0 cm) as evidenced by the high accuracy, sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value. FNAC findings correspond to those obtained via histopathological evaluation.

Abbreviations

FNAC: Fine-needle aspiration cytology

DCIS: Ductal carcinoma *in situ*

Declarations

- **Ethics approval and consent to participate:** The present study was approved by the Research Ethics Committee of the State University of São Paulo “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), and the letter of discharge was authorized (“Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho” - CAE: 28211619.1.0000.5411 and according to the substantiated opinion number 3,822,926 in Platform Brazil).
- **Consent for publication:** Not applicable
- **Availability of data and materials:** The dataset supporting the conclusions of this article is included within the article.
- **Competing interests:** The authors declare that they have no competing interests.
- **Funding:** None
- **Authors’ contributions:** JC reviewed the data, conducted the statistical analysis, and drafted and critically reviewed the manuscript. MM evaluated and critically reviewed the project. CC conducted the radiological evaluation and critical review. FS evaluated and critically reviewed the project. CS conceived and design the study, reviewed the data, and drafted and critically reviewed the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.
- **Acknowledgements:** We are grateful to Ulisses Frederigue Junior, Maurício Chierici Lopes, Andrea Aparecida Fassoni, and Thiago Barreto Frederigue for carrying out the FNAC and diagnoses. We also thank Ana Lucia de Oliveira Garcia, Daniel de Amorim, Everson Moretti and Fábio da Silva Rodrigues for technical support.

References

1. Globocan Observatory W. Cancer Today - World. Int Agency Res Cancer [Internet]. 2019;876:2018–9. <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/900-world-factsheets.pdf>. Accessed
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018;68:394-424.
3. Instituto Nacional do Câncer. Detecção precoce do câncer de mama [Internet]. 2018. <https://www.inca.gov.br/controle-do-cancer-de-mama/acoes-de-controle/deteccao-precoce>. Accessed 15 Sep 2019.
4. Urban LABD, Chala LF, Bauab S di P, Schaefer MB, Santos RP dos, Maranhão NM de A, et al. Recomendações do colégio Brasileiro de radiologia e diagnóstico por imagem, da sociedade Brasileira de mastologia e da federação Brasileira das associações de ginecologia e obstetrícia para o rastreamento do câncer de mama. *Radiol Bras*. 2017;50:244-9.
5. Myers ER, Moorman P, Gierisch JM, Havrilesky LJ, Grimm LJ, Ghatta S, et al. Benefits and harms of breast cancer screening: A systematic review. *JAMA*. 2015;314:1615-34.
6. Manfrin E, Falsirollo F, Remo A, Reghellin D, Mariotto R, Dalfior D, et al. Cancer size, histotype, and cellular grade may limit the success of fine-needle aspiration cytology for screen-detected breast carcinoma. *Cancer Cytopathol*. 2009;117:491-9.
7. Perry N, Broeders M, de Wolf C, Törnberg S, Holland R, von Karsa L. European guidelines for quality assurance in breast cancer screening and

- diagnosis. Fourth edition - Summary document. *Ann Oncol*. 2008;2008;19:614-22.
8. Kocjan G, Bourgain C, Fassina A, Hagmar B, Herbert A, Kapila K, et al. The role of breast FNAC in diagnosis and clinical management: A survey of current practice. *Cytopathology*. 2008;19:271-8.
 9. Nakano S, Otsuka M, Mibu A, Oinuma T. Significance of fine needle aspiration cytology and vacuum-assisted core needle biopsy for small breast lesions. *Clin Breast Cancer*. 2015;15:e23-6.
 10. Ali ZS, Parwani AV. *Breast cytopathology*. Baltimore: Springer; 2007. p. 189.
 11. DeMay RM. *The art and science of cythopathology*. 2nd ed. American Society for Clinical Pathology; 2012. p. 2076.
 12. Rocha RD, Pinto RR, Aquino Tavares DPB, Aires Gonçalves CS. Passo-a-passo da core biópsia de mama guiada por ultrassonografia: Revisão e técnica. *Radiol Bras*. 2013;46:234-41.
 13. Bueno Angela SP, Viero RM, Soares CT. Fine needle aspirate cell blocks are reliable for detection of hormone receptors and HER-2 by immunohistochemistry in breast carcinoma. *Cytopathology*. 2013;24:26-32.
 14. Masood S. Expanded role of cytopathology in breast cancer diagnosis, therapy and research: The impact of fine needle aspiration biopsy and imprint cytology. Vol. 18, *Breast Journal*. 2012. p. 1–2.
 15. Krogerus L, Kholová I. Cell block in cytological diagnostics: Review of preparatory techniques. *Acta Cytol*. 2018;62:237-43.
 16. Dong J, Ly A, Arpin R, Ahmed Q, Brachtel E. Breast fine needle aspiration continues to be relevant in a large academic medical center: experience from

- Massachusetts General Hospital. *Breast Cancer Res Treat*. 2016;158:297-305.
17. Beca F, Schmitt FC. Ancillary tests in breast cytology: A practical guide. *Acta Cytol*. 2019;63:302-13.
 18. Field AS, Raymond WA, Rickard M, Arnold L, Brachtel EF, Chaiwun B, et al. The international academy of cytology yokohama system for reporting breast fine-needle aspiration biopsy cytopathology. *Acta Cytol*. 2019;63:257-73.
 19. Wong HB, Lim GH. Measures of diagnostic accuracy: Sensitivity, specificity, PPV and NPV. *Proc Singapore Healthc*. 2011;20:316-8.
 20. Instituto Nacional do Câncer. Estimativa Incidência de Câncer no Brasil - Biênio 2018-2019. Vol. 1, Inca. 2018. p. 124.
 21. Globocan. Top cancer per country, estimated age-standardized mortality rates (World) in 2018, females, all ages. *Cancer Today*. 2018. p. 1.
https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-map?v=2018&mode=cancer&mode_population=continents&population=900&populations=900&key=asr&sex=2&cancer=39&type=1&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&nb_items=5&group_c. Accessed
 22. Globocan Observatory W. Brazil. 2019.
<https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/76-brazil-factsheets.pdf>. Accessed 9 Sept 2019.
 23. Orr B, Kelley JL. Benign breast diseases: Evaluation and management. *Clin Obstet Gynecol*. 2016;59:710-26.
 24. Irwig L, Macaskill P, Houssami N. Evidence relevant to the investigation of

- breast symptoms: The triple test. *Breast*. 2002;11:215-20.
25. Field AS, Schmitt F, Vielh P. IAC Standardized reporting of breast fine-needle aspiration biopsy cytology. *Acta Cytologica*. 2017;61:3-6.
 26. Tse GM, Tan P-H. Diagnosing breast lesions by fine needle aspiration cytology or core biopsy: which is better? *Breast Cancer Res Treat*. 2010;123:1-8.
 27. Anderson BO. Fine-needle aspiration for breast cancer diagnosis: One size does not fit all. *JNCCN J Natl Compr Cancer Netw*. 2016;14:599-600.
 28. Kocjan G. Fine Needle aspiration cytology: diagnostic principles and dilemmas. Berlin Heidelberg: Springer; 2006. p. 239.
 29. Mitra S, Dey P. Grey zone lesions of breast: Potential areas of error in cytology. *J Cytol*. 2015;32:145-52.
 30. Mitra S, Dey P. Fine-needle aspiration and core biopsy in the diagnosis of breast lesions: A comparison and review of the literature. *CytoJournal*. 2016;13; doi: 10.4103/1742-6413.189637.
 31. Yamaguchi R, Tsuchiya SI, Koshikawa T, Ishihara A, Masuda S, Maeda I, et al. Diagnostic accuracy of fine-needle aspiration cytology of the breast in Japan: Report from the Working Group on the Accuracy of Breast Fine-Needle Aspiration Cytology of the Japanese Society of Clinical Cytology. *Oncol Rep*. 2012;28:1606-12.
 32. Smith MJ, Heffron CC, Rothwell JR, Loftus BM, Jeffers M, Geraghty JG. Fine needle aspiration cytology in symptomatic breast lesions: Still an important diagnostic modality? *Breast J*. 2012;18:103-10.
 33. Berner A, Sauer T. Fine-needle aspiration cytology of the breast. *Ultrastruct Pathol*. 2011;35:162-7.

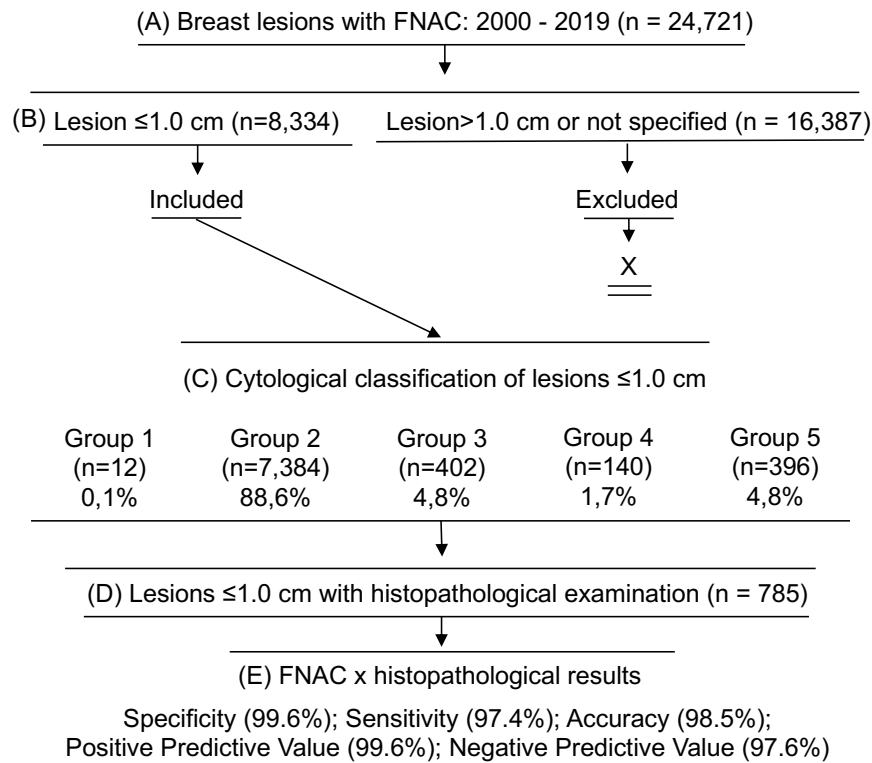


Figure 1. Flowchart of the study design. (A) Retrospective assessment of breast lesions subjected to FNAC between January 1, 2000 and December 31, 2019. (B) Lesions ≤ 1.0 cm were included in the study, and those measuring >1.0 cm were excluded. (C) Review of FNAC reports and classification of the lesions into one of five categories: group 1, insufficient or inadequate; group 2, benign; group 3, atypical, probably benign; group 4, atypical, probably malignant; and group 5, malignant. (D) Review of histopathological reports to identify a surgical specimen corresponding to the punctured lesion and cytohistological correlation. (E) Results obtained from the cytohistological correlation between benign and malignant lesions.

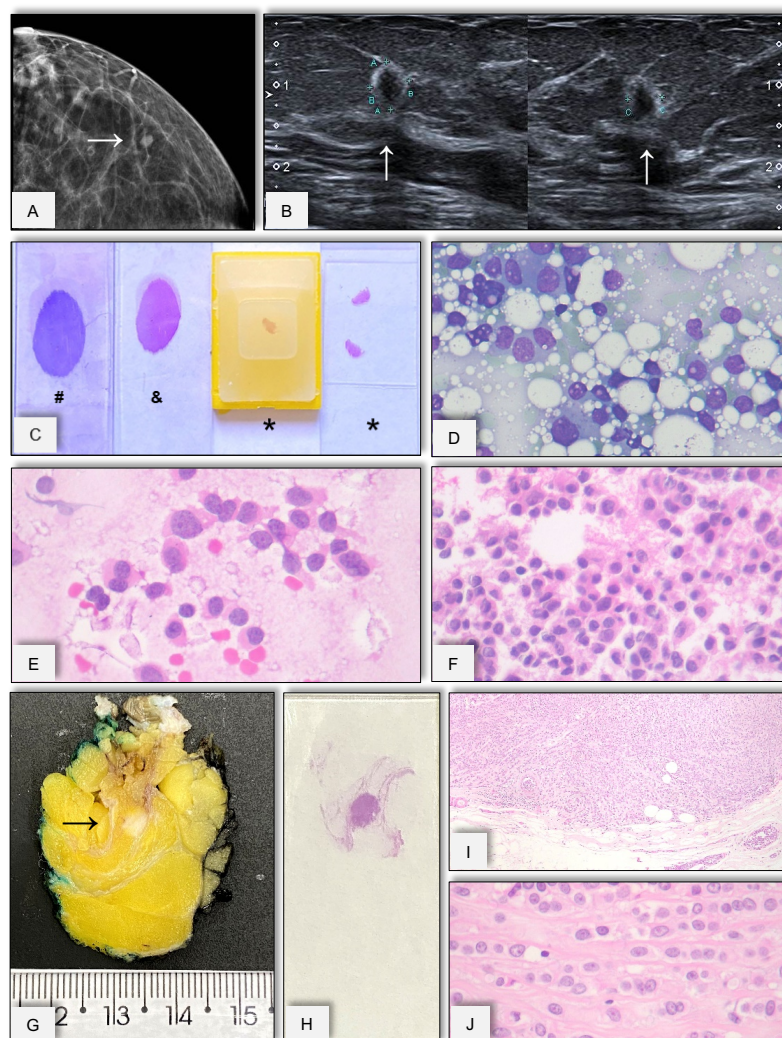


Figure 2. Example of a ≤ 1.0 cm lesion diagnosed via FNAC and confirmed via histopathological examination. Mammographic examination (A) and ultrasound examination (B) demonstrate a suspected irregular lesion for malignancy. The FNAC specimen was stained with MGG (#) and HE (&) and also prepared for cell block (*) (C). On MGG (D) and HE (E) staining, the specimen show characteristics of a well-differentiated carcinoma, consisting of loose cells or forming small clusters with low cohesiveness. Histological sections of the cell block show atypical epithelial cells similar to smears (F). Macroscopic examination of a quadrantectomy shows a 0.5 cm lesion surrounded by adipose tissue ($\rightarrow$) (G). Histological sections stained by HE confirm the diagnosis of classic lobular carcinoma (H, I and J).

Table 1. Number of cases in each group and the main FNAC and histopathological diagnoses

Abbreviations: FBD: fibrocystic breast disease; IBC: invasive breast carcinoma; NOS, not otherwise specified; DCIS: ductal carcinoma in situ; ILC: invasive lobular carcinoma; LCI: lobular carcinoma in situ; P: papilloma; PBDWA: proliferative breast disease without atypia

FNAC (n=8,334)	Histopathological (n=785)
Group 1: Insufficient (n=12/8334; 0.1%)	Group 1 (n=0; 0.0%)
Group 2: Benign (n=7384/8334; 88.6%) Cyst (n = 3477; 47.0%) PBDWA (n = 1400; 19.0%) Fibroadenoma (n = 1227; 16.6%) Others (n = 1286; 17.4%)	Group 2: 250 Benign (n=244/250; 97.6%) Fibroadenoma (n = 72) FBD (n = 69) Cyst (n = 52) Others (n = 51) Malignant (n=6/250; 2.4%) IBC (n = 2) Tumor phyllodes, ILC, DCIS (n = 4)
Group 3: Atypical, probably benign (n=402/8334; 4.8%)	Group 3: 214 Benign (n=170/214; 79.4%) FBD (n = 83) P (n = 47) Fibroadenoma (n = 29) Others (n = 11) Malignant (n = 44/214; 20.6%) DCIS (n = 19) IBC (n = 17) Others (n = 8)
Group 4:: Atypical, probably malignant (n=140/8334; 1.7%)	Group 4: 95 Benign (n=27/95; 28.4%) FBD (n = 16) Fibroadenoma (n = 7) P (n = 4) Malignant (n=68/95; 71.6%) IBC (n = 41) DCIS (n = 11) ILC (n = 8) Others (n = 8)
Group 5: Malignant (n=396/8,334; 4.8%)	Group 5: 226 Benign (n=1/226; 0.4%) Fatty necrosis (n = 1) Malignant (n=225/226; 99.6%) IBC (n = 186) ILC (n = 23) Others (n = 34)

Conclusão

Conclusão

Concluimos, com base nos dados obtidos no presente estudo, que a PAAF é um método confiável para a avaliação de lesões mamárias pequenas ($\leq 1,0$ cm), permitindo, na maioria dos casos, o diagnóstico preciso da natureza da lesão, apresentando altos valores de acurácia, sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo, correspondendo a valores próximos aos obtidos por avaliação histopatológica.